

129
2ej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**"DESARROLLO DE PRODUCTOS LACTEOS
A PARTIR DE LECHE DESLACTOSADA"**

**TESIS CON
FALSA DE ORIGEN**

TESIS MANCOMUNADA

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :**

**SILVIA RUIZ JIMENEZ
ALMA ADRIANA BEATRIZ TREJO ORTIZ**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

I N D I C E

	PAG.
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	
LECHE	9
LACTASA	19
YOGURT	27
HELADO	43
LECHE ACHOCOLATADA	52
TRABAJO EXPERIMENTAL	55
RESULTADOS	71
DISCUSION DE RESULTADOS	109
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	119
BIBLIOGRAFIA	122
APENDICE	139

INTRODUCCION

La leche es el principal alimento consumido por las especies de mamíferos. Tiene un alto valor nutricional ya que contiene proteínas de alta calidad, calcio, fosfatos, vitaminas y aproximadamente un 5% de lactosa. La lactosa no sólo se considera un glucido energético, sino como la única fuente de galactosa para humanos y numerosos animales necesaria para la síntesis de cerebrosidos (157).

Para el lactante amamantado por su madre y para los lactantes que reciben varias fórmulas lácteas preparadas, la lactosa puede ser el único carbohidrato consumido (40).

Los carbohidratos durante la digestión se hidrolizan enzimáticamente en sus moléculas de monosacaridos para así ser absorbidos, por la pared intestinal para ser trasladados a la corriente sanguínea.

Los monosacaridos atraviesan la pared intestinal y son transportados a través de los vasos sanguíneos que desembocan en la vena porta, que conduce estos azúcares hasta el hígado en donde son finalmente almacenados en forma de glucógeno o distribuidos a los tejidos que los requieren (8).

Existen varias enfermedades congénitas en el hombre que se deben a la ausencia de las enzimas apropiadas para metabolizar ciertos carbohidratos. Cualquier sacárido que no pueda ser hidrolizado permanecerá en el fluido intraluminal. El fluido luminal se mantiene isotónico con el plasma y pequeñas partículas como los oligosacaridos tienen un efecto osmótico que incrementará el líquido intraluminal para mantener su isotonicidad. Además, en la

parte más baja del íleon y en el colon, los carbohidratos no digeridos son metabolizados por bacterias intestinales en fragmentos de dos y tres carbonos que incrementan el efecto osmótico. De ahí que, 50 g de carbohidrato que no se ha hidrolizado en la mucosa intestinal puede retener 1 l de agua, dando lugar a una diarrea (26).

En caso de deficiencia de lactasa, la presencia de lactosa en la región ileocecal provoca la fermentación del carbohidrato por bacterias intestinales, con la consiguiente producción de bixido de carbono, ácido láctico, butírico y otros ácidos volátiles irritantes causando calambres y diarrea. Estos productos de la actividad bacteriana ejercen efectos osmóticos e irritativos en el colon, produciendo el pH ácido de las heces (41).

Cualquiera que sea la naturaleza del trastorno, las consecuencias de la malabsorción de azúcares son semejantes: meteorismo, flatulencia, dolor abdominal, excesivo movimiento peristáltico, diarrea, deshidratación, náuseas, acidosis e hipoglucemia (41, 157).

Debido al excesivo movimiento peristáltico los alimentos son rápidamente transportados por el intestino, esto supone una malabsorción de otros nutrientes, como proteínas y minerales de gran valor (5, 62, 159).

La intolerancia de carbohidratos se clasifica como: primaria o genética cuando los defectos enzimáticos son heredados, la intolerancia ocurre gradualmente conforme progresa la edad del individuo y es una característica permanente; y secundaria o adquirida si los defectos enzimáticos son adquiridos por daño de

la mucosa intestinal debido a enfermedades del intestino delgado y severa desnutrición proteínico-calórica y es generalmente transitoria (137).

De todos los síndromes de malabsorción el más frecuente es el de la lactosa, tanto por causa congénita como secundaria. La deficiencia de lactasa es la más común de todas las deficiencias de disacaridasas en la población mundial. Es uno de los tres síndromes congénitos que tienen una herencia autosómica recesiva (16, 80, 97, 134, 141, 148).

El hombre se caracteriza porque al nacer tiene una concentración suficiente de lactasa en el intestino. Después del destete comienza a disminuir la concentración de esta enzima, alcanzando el 10 % o menor actividad. En el hombre los niveles más bajos suelen alcanzarse entre los 6 y los 16 años permaneciendo estables el resto de la vida (149). A esta situación se la conoce como deficiencia primaria de lactasa de tipo adulto.

Las conclusiones obtenidas de los diversos experimentos e investigaciones realizadas en cuanto a la intolerancia a la lactosa son:

- 1) En México alrededor del 70 % de la población tiene deficiencia de lactasa.
- 2) La deficiencia de lactasa de tipo adulto se hereda en forma autosómica recesiva.
- 3) Alrededor del 15 % de los niños mexicanos tienen síntomas de intolerancia gastrointestinal al ingerir 250 ml de leche.
- 4) La leche sin lactosa es mejor tolerada que la leche ordinaria.

5) Se puede utilizar leche con bajo contenido de lactosa en programas de ayuda nutricional para niños desnutridos.

Debido a que un gran porcentaje de la población mundial es intolerante a la lactosa, se han hecho grandes esfuerzos para la fabricación de productos lácteos con bajo contenido de lactosa. Por este motivo se han utilizado ampliamente enzimas beta - galactosidasas de origen microbiano (10, 22).

Al utilizar leche con bajo contenido de lactosa en la elaboración de productos lácteos se tendrán además de las ventajas nutricionales las siguientes ventajas tecnológicas:

1) Debido a que los productos de hidrólisis, glucosa y galactosa, son más solubles que la lactosa se evitan los problemas asociados con la cristalización de esta en productos tales como helados, leches condensadas, cajetas y otros productos elaborados con leche (24, 111).

2) Dado el mayor poder edulcorante que presentan la glucosa y la galactosa con respecto a la lactosa (aproximadamente tres veces), se puede disminuir la cantidad de sacarosa a utilizar en productos lácteos endulzados cuando la leche ha sido deslactosada. Este aumento del poder edulcorante no va asociado con un aumento del poder calórico del producto, lo que es importante para productos como el yogurt natural, debido a que son consumidos frecuentemente por personas con problemas de sobrepeso (24, 111).

3) Al tener monosacáridos libres después de la reacción se aceleran los procesos fermentativos. El yogurt preparado a partir de leches deslactosadas resulta más dulce, menos ácido y se

produce con menores tiempos de fermentación (168).

4) Se amplía la posibilidad de utilizar el suero de la leche. Cuando se hidroliza la lactosa del suero y el hidrolizado se concentra a un 60 - 70 % de sólidos se obtiene lo que se conoce como jarabe de suero. Este jarabe es menos viscoso que el suero concentrado y por lo tanto de más fácil manejo, pero sobre todo, tiene un poder endulzante considerable y una cantidad importante de proteína. El jarabe de suero se puede utilizar como sustituto parcial de azúcar en helados, confitería, productos lácteos endulzados, aderezos, productos de panadería y bebidas refrescantes de alto valor nutritivo (24, 104, 111).

El presente trabajo tiene como finalidad contribuir en la solución del problema de intolerancia a la lactosa en México mediante la elaboración de leche deslactosada y su utilización en la producción de derivados lácteos tales como helado, yogurt y leche achocolatada teniendo en cuenta las ventajas tecnológicas y nutricionales antes mencionadas.

OBJETIVOS GENERALES

1. Hidrolizar la lactosa presente en la leche mediante la utilización de una beta - galactosidasa y posteriormente utilizar esta leche con bajo contenido en lactosa como materia prima en la elaboración de otros derivados lácteos.
2. Producir leche, yogurt, helado de crema y leche achocolatada deslactosados que posean características sensoriales agradables.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Caracterizar la beta - galactosidasa empleada para determinar

las condiciones óptimas de trabajo de la enzima y de esta forma poder obtener las condiciones adecuadas para lograr el grado de hidrólisis necesario en la formulación de cada producto.

2. Efectuar el máximo porcentaje de conversión de lactosa en glucosa y galactosa presente en la leche de vaca y comparar sus características fisicoquímicas y de estabilidad con las características de una leche normal (sin hidrolizar).

3. Determinar el porcentaje de reducción del tiempo de la fermentación al elaborar un yogurt con bajo contenido en lactosa así como también realizar análisis fisicoquímicos y de estabilidad de este producto.

4. Comparar las características fisicoquímicas y de estabilidad de la leche achocolatada y del helado deslactosados con las características de los mismos productos pero sin hidrolizar.

5. Determinar la aceptación del consumidor por los productos elaborados mediante una prueba sensorial de escala hedónica.

GENERALIDADES

1. LECHE

1.1 DEFINICIÓN

La leche es un líquido segregado a través de las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos después del nacimiento de la cría. Este líquido de composición compleja es blanco y opaco de sabor dulce y pH casi neutro (2).

La función primordial de la leche es la de alimentar a las crías durante el período crítico de su existencia, tras el nacimiento, cuando el desarrollo es rápido y no puede ser sustituido por otros alimentos (2, 142).

En la actualidad es común que la leche se pasteuriza y se homogeniza, su composición varía muy poco con respecto a la leche que no se ha sometido a esos procesos (leche bronca o leche cruda).

En México la leche fluida pasteurizada está normalizada y existen dos tipos:

Lече pasteurizada preferente. Es el producto obtenido directamente de la ordeña de animales sanos, sometido al proceso de pasteurización y envasado herméticamente en condiciones asépticas que contenga un mínimo de 30 g/l de grasa butírica de agua adicionada, de reacción negativa a la prueba de la fosfatasa y que cumpla con ciertos límites microbiológicos (115).

Lече pasteurizada preferente extra. Tiene las mismas características de la leche mencionada anteriormente exceptuando el contenido de grasa butírica, que en éste caso es un mínimo de 35 g/l (116).

1.2 COMPOSICIÓN

La leche es un fluido cuya composición es muy compleja y variable además se puede albarar fácilmente debido a la acción del calor, a la presencia de microorganismos y enzimas.

La leche de una misma especie sufre también variaciones en su composición por ciertos factores como: raza, edad, salud, estado nutricional del animal, lugares en que habita, composición del alimento que ingiera, período de lactancia, estación del año, etc.

En México y en gran parte del mundo la leche de vaca es la principal fuente para el consumo humano, aunque existen otras especies cuya leche también se consume como la de cabra, búfala y oveja, entre otras.

La leche es una mezcla de lactosa, glicéridos de ácidos grasos, caseína, albúminas y sales. Además coexisten los estados de emulsión de la materia grasa en forma globular, suspensión de caseína ligada a sales minerales y solución o fase acuosa.

Las cifras de los resultados obtenidos de los análisis practicados a miles de muestras del producto, en países eminentemente productores de leche, arrojan un promedio en su composición gruesa, que se resume en la tabla 1.

1.2.1 AGUA

El agua sirve como medio disolvente o de suspensión para los constituyentes de la leche. Este componente puede variar de 84 % a 89 % (SS).

1.2.2 GRASA

El componente de la leche que varía en mayor proporción es la

T A B L A 1

Composición aproximada de la leche de vaca (48).

COMPOSICION	%
AGUA	84.0 - 89.0
GRASA	3.5 - 4.5
PROTEINAS	3.0 - 3.5
LACTOSA	4.0 - 5.0
MINERALES	0.7 - 0.9

materia grasa, este constituyente es importante por las características que imparte tanto a la leche como a sus derivados, ya que produce un sabor agradable e interviene en la textura de productos tales como helados, mantequilla y crema.

La grasa de la leche tiene aproximadamente 98 % de triglicéridos, 0.5 - 1.0 % de fosfolípidos y alrededor del 1 % de sustancias insaponificables. Los lípidos se hallan dispersos en la leche en forma de glóbulos que están rodeados por una membrana proteica, el tamaño de los glóbulos varía de un animal a otro y en ocasiones se unen formando pequeños núcleos. La dispersión no es muy estable, por este motivo la grasa es el componente que más fácilmente se separa de la leche sin modificar los otros componentes.

Los triglicéridos pueden sufrir modificaciones como son: rancidez hidrolítica y rancidez por oxidación, estas alteraciones no afectan la estructura fisicoquímica de la leche, pero se les asocia a sabores desagradables que imparten a este alimento (2, 58, 142).

1.1.3 SUSTANCIAS NITROGENADAS

La importancia de la parte protéica de la leche es muy grande por varias razones:

- 1) Las propiedades fisicoquímicas más importantes de la leche, especialmente las relacionadas con su estabilidad, derivan de la presencia de proteínas.
- 2) Desde el punto de vista nutritivo, los proteínas constituyen la parte más importante de la leche.
- 3) Algunas proteínas del lacto suero tienen actividades biológicas como enzimas, inhibidores y anticuerpos. Las proteínas de la leche como las de la sangre, son características de cada especie por sus propiedades inmunológicas (2).

La leche tiene una gran variedad de sustancias nitrogenadas, estas pueden ser proteicas o no proteicas.

Existen diversas sustancias nitrogenadas no proteicas en una escasa proporción de la leche, el contenido de estas corresponde del 5 al 7 % de nitrógeno total. Entre estas sustancias se pueden encontrar aminoácidos libres, urea, creatina, nucleótidos. Su peso molecular es menor a 500 y son dializables.

Las sustancias nitrogenadas proteicas están formadas por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, su peso molecular es elevado y no atraviesan las membranas dializables, además se precipitan con diversos reactivos.

La caseína es la proteína más común de la leche y únicamente se encuentra en este alimento y en algunos de sus derivados, representa el 80 % del total de las proteínas de la leche.

Aunque la caseína es un complejo de proteínas fosforadas,

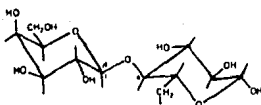
Presenta una composición y propiedades constantes. Los componentes de este complejo son difíciles de purificar. En la leche, la caseína generalmente está en forma de caseinato de calcio y se encuentra en dispersión coloidal. Esta proteína es estable a la acción del calor, pero precipita cuando la leche se acidifica hasta llegar a pH de 4,6 o por la acción de la renina. Otras proteínas que están presentes en la leche son las solubles en el suero, se trata principalmente de albúminas y globulinas. Estas proteínas representan el 15% de las materias nitrogenadas de la leche (2, 58, 142).

1.2.4 LACTOSA

El principal carbohidrato de la leche es la lactosa, ya que es el glúcido más abundante y su proporción es constante, generalmente varía entre 48 g/l y 50 g/l.

Desde el punto de vista biológico, la lactosa se distingue de los azúcares comunes por su estabilidad en el tracto digestivo y por el hecho de no ser simplemente un glúcido energético. Para los seres humanos y para numerosos animales, la lactosa es en la práctica la única fuente de galactosa (2).

La lactosa es una hexobiosa (galactosido beta 1 - 4 glucosa), constituida por una molécula de glucosa y otra de galactosa, su fórmula empírica es $C_{12}H_{22}O_{11}$ y tiene un peso molecular de 342.



lactosa

Existen dos isómeros de la lactosa, el alfa y el beta, los cuales se distinguen por sus propiedades físicas los cuales se muestran en la tabla 2.

T A B L A 2
Propiedades físicas de la lactosa (2).

PROPIEDADES	ISOMEROS DE LA LACTOSA	
	Alfa	Beta
Poder rotatorio	+89	+35
Temperatura de fusión (°C)	202	252
Concentración de equilibrio a 15°C	38%	62%
Cristalización de las soluciones saturadas		
- Por encima de 94°C	-	A
- Por debajo de 94°C	H	-
+ Solubilidad inicial a 15°C	7	50
+ Solubilidad inicial a 100°C	70	95

A Anhidra
H Hidratada
+ g/100 de agua

La lactosa tiene un débil sabor dulce, su poder edulcorante es seis veces menor que el del azúcar ordinario. En la leche, el sabor dulce de la lactosa esta enmascarado por la caseína.

El débil sabor dulce de la lactosa se considera como una cualidad desde el punto de vista dietético, ya que hace soportables las dietas lácteas (2).

El azúcar de la leche es reductor por tener un grupo aldehído. libre, este azúcar pierde su agua de cristalización entre los 110

y 100°C y se carameliza a los 175°C aproximadamente (2, 48, 142). La lactosa es un azúcar estable a la acción de agentes químicos; para hidrolizarla se requiere de la acción de ácidos en caliente. Algunas diastases efectúan la misma reacción. La lactasa existe en la secreción de las glándulas intestinales, pero su presencia en la leche es dudosa, sólo unas pocas levaduras la producen. La hidrólisis de la lactosa es la primera fase de la fermentación láctica, pero no todas las bacterias son aptas para realizarla (2).

La lactosa es el componente de la leche más lábil frente a la acción microbiana. En efecto, la leche es fácilmente presa de bacterias de diversos tipos, que transforman la lactosa en ácido láctico y en otros ácidos alifáticos por lo que es importante tomarlo en cuenta para la fermentación y maduración de la leche y de productos lácteos (2, 142).

Además de la lactosa, la leche tiene otros glúcidos pero se encuentran en menor proporción como algunos poliósidos que están combinados con las proteínas (2, 142).

1.2.5 MINERALES

Los minerales aunque se hallan en menor proporción (de 3 a 10 g/l) que otras sustancias de la leche tienen gran importancia. Se encuentran en forma de sales solubles y en la fase coloidal insoluble combinados con proteínas.

La cantidad de minerales presentes en la leche varía de acuerdo al período de lactación animal. Los minerales que están en mayor proporción son: sodio, calcio, fósforo, magnesio, cloro y azufre y los que están en menor cantidad son el fierro, cobre,

Zinc y yodo.

1.2.6 COMPONENTES MENORES

VITAMINAS. La leche es un alimento rico en vitaminas, tanto liposolubles (A, D y K) que van asociadas con la materia grasa, así como vitaminas hidrosolubles que están disueltas en la fase acuosa.

PIGMENTOS. La leche contiene pigmentos solubles en la parte grasa como son algunos carotenos y xantófilas, así como también pigmentos que son solubles en agua como la lactoflavina.

ENZIMAS. Estas enzimas pueden provenir de la leche o de bacterias que están presentes en este alimento. Aunque se encuentran en concentraciones bajas pueden catalizar reacciones bioquímicas que provocan modificaciones importantes en la leche. Las enzimas que tiene la leche pueden ser hidrolíticas (lipasas, fosfatasas, proteasas, diastasas y lisozima), oxidasas (lactoperoxidasa), reductasas (reductasa aldehídica) y catalasas.

La leche además contiene fosfolípidos, colesterol y algunos gases disueltos (2, 58, 142).

1.3 VALOR NUTRITIVO

De la tabla 3, se desprende que la leche contiene la mayoría de los elementos nutritivos, aunque debe suplementarse con ciertos minerales como el hierro y el yodo, vitaminas y ácidos grasos esenciales (48).

No obstante estas deficiencias, puede decirse que no existe ningún otro alimento, con excepción del huevo, que sea tan valioso como la leche. Debido a que contiene proteínas de buena

calidad, calcio y vitaminas (A, E, K y riboflavina) (48).

La calidad de las proteínas de la leche está dada por la presencia de ciertos aminoácidos esenciales y pocas cantidades elevadas de otros aminoácidos que se encuentran en pequeñas cantidades en proteínas vegetales. La digestibilidad es elevada, por estos motivos se consideran proteínas de buena calidad.

La grasa butírica contiene vitaminas y algunos ácidos grasos esenciales como el linoléico, además es fuente de energía al igual que los carbohidratos.

La lactosa es la única fuente de galactosa para el hombre. En animales se ha demostrado que la galactosa tiene una influencia favorable para la asimilación y retención del calcio, además forma parte de los cerebrosidos que constituyen los tejidos nerviosos. Sin embargo, la glucosa puede convertirse en galactosa en el interior del organismo, pero se ignora la rapidez y alcance de esta conversión (2, 58).

El ácido láctico producido por la degradación de la lactosa en el intestino favorece la utilización de la vitamina D y tiende a reducir o a excluir la fermentación de las proteínas, la cual produce gases y sustancias ligeramente tóxicas, o sea, que la leche ejerce una influencia restrictiva sobre los procesos putrefactivos en el intestino (48).

Los minerales son importantes para el buen funcionamiento del organismo, el calcio es uno de los principales elementos estructurales del sistema óseo, también participa en la coagulación de la sangre, interviene en el buen funcionamiento del tejido nervioso y la contractilidad de músculos. El fósforo

también forma parte de la estructura ósea, además se necesita en varias combinaciones orgánicas. Los fosfatos inorgánicos aparecen en varios fluidos corporales interviniendo en multitud de procesos metabólicos, además actúan como reguladores del pH en la sangre. Una insuficiencia de este alimento en la dieta, conduce a enfermedades deficitarias definidas (2, 48, 58).

T A B L A 3
Recomendaciones nutricionales (48).

Nutrimento	Recomendaciones CANTIDADES Recomendaciones		
	diarias	*	%*
Calorías (Kcal)	2600.00+	703.00	27.00
Proteínas totales (g)	75.00+	33.00	35.00
Proteínas animales (g)	25.00+	33.00	132.00
Calcio (mg)	600.00	1469.00	245.00
Hierro (mg)	18.00+	0.35	2.00
Vitamina A (mg)	1.80++	0.56	31.00
Vitamina D (mg)	0.01++	0.0006	6.00
Tiamina (mg)	1.30++	0.45	42.00
Riboflavina (mg)	1.90++	2.00	105.00
Niacina (mg)	26.00++	0.70	3.00
Vitamina C (mg)	20.00++	20.00	25.0

- * Aporte de 1 l de leche diario.
 + FAO Food and Agriculture Organization.
 ++INN Instituto Nacional de la Nutrición.

2. LACTASA

2.1 DEFINICION

La enzima lactasa (ECN 3.2.1.23), llamada así porque cataliza la hidrólisis del azúcar de la leche (lactosa), es formalmente designada beta - D - galactosidasa o beta - D - galactosido - galacto - hidrolasa (24).

La lactasa desdobra a la lactosa en dos azúcares, la glucosa y la galactosa, reacción que se representa de la siguiente forma:



Durante la reacción se consume una molécula de agua que se liga a una molécula de azúcar. Las condiciones de reacción, es decir, la temperatura, la acidez, la concentración de lactosa, el tiempo y la concentración de la enzima determinan la velocidad de reacción (91).

Las industrias más importantes en la producción de enzimas en el mundo son: Novo de Dinamarca y Gist Brocades de Holanda, estas industrias cubren el 60 % del mercado mundial (45).

Algunas consideraciones importantes en el desarrollo en gran escala de procesos de manufactura para la hidrólisis enzimática de la lactosa en la leche son: pureza, actividad y costo de la enzima (52).

2.2 FUENTES DE LACTASA

La lactasa activa se encuentra en plantas (especialmente en granos y semillas de leguminosas) y animales (principalmente en el intestino de mamíferos jóvenes). Las diferentes fuentes de las

Cuando la lactasa ha sido aislada se muestran en la tabla 4. Las enzimas importantes industrialmente son las obtenidas de levaduras, hongos y bacterias. Las preparaciones puras de lactasa han sido aisladas de *Escherichia coli*, especies de *Saccharomyces* y *Aspergillus*, aunque las aplicaciones de la lactasa proveniente de *E. coli* son únicamente en química analítica.

Las enzimas de valor comercial tanto para la industria láctea como para la alimentaria son aisladas de las levaduras *S. lactis* y *S. fragilis*, así como de los hongos *A. niger* y *A. oryzae* (112).

2.3 PROPIEDADES DE LACTASAS

El papel principal de la lactasa en la naturaleza es probablemente la hidrólisis de lactosa de la leche de las hembras de los mamíferos como primer paso en la conversión de lactosa en energía. Aunque también tiene la capacidad de hidrolizar carbohidratos que contengan D - galactosa unida por enlaces 1 - 4 ó 1 - 6 beta - galactosídicos (24, 112).

Las propiedades de las diferentes lactasas utilizadas en la industria alimentaria se muestran en la tabla 5.

El proceso de aislamiento y purificación de la lactasa de *E. coli* es muy conocido. La formación de lactasa en este microorganismo ha sido usado como modelo de la síntesis de esta enzima en otros microorganismos.

T A B L A 4

Fuentes de beta galactosidasa (112)

- BACTERIAS

<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>Thermus aquaticus</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Streptococcus lactis</i>	

- HONGOS

<i>Neurospora crassa</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Aspergillus foetidus</i>	<i>Mucor pusillus</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Mucor miehei</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	

- LEVADURAS

<i>Saccharomyces lactis</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Saccharomyces fragilis</i>	

- PLANTAS

Almendra	Durazno
Café	

- ORGANISMO ANIMAL

Intestino

T A B L A 5

Propiedades de lactazas (90).

Propiedades	<i>S. Niger</i>	<i>S. oryzae</i>	<i>S. fragilis</i>	<i>S. lactis</i>
pH óptimo	3.5 - 5.5	4.5 - 5.5	6.5 - 7.0	6.5 - 7.0
Temperatura óptima	55°C	50°C	43°C	37°C

Este mecanismo puede explicarse esquemáticamente como sigue:



+

Glucosa



+

ROH

PO - galactosa

+

B - galactosidasa

Se han aislado tres lactasas en el intestino humano, sus propiedades se muestran en la tabla 6.

T A B L A 6

Propiedades de las lactasas presentes en el intestino humano (23)

Enzima	pH	Peso molecular	Km	Actividad específica U.I.
I	6.0	280.000	18	1.0
II	4.5	156000 - 660000	19	1.0
III	6.0	80.000	-	0.0

La enzima I es específica para la lactosa, se localiza en los bordes en forma de cepillo de las protuberancias del intestino delgado.

La lactasa II tiene menor actividad frente a la lactosa en comparación con la enzima I, se encuentra en los lisosomas del intestino delgado, también se localiza en el hígado.

La lactasa III solo muestra actividad sobre lactosa sintética; se localiza en el citoplasma del intestino delgado (23).

2.4 APLICACIONES TECNOLOGICAS

Aunque el uso potencial de lactasas en la manufactura de productos lácteos ha sido reconocido por varios años, fue hasta el desarrollo de una preparación comercial de enzimas de fuentes microbianas en 1960, que las aplicaron a gran escala. Por lo cual el reconocimiento del problema de intolerancia a la lactosa a partir de 1950 jugó un papel muy importante en este proceso. En la actualidad existen tres diferentes procesos industriales

que han sido desarrollados para la utilización de lactasas. La relación del proceso se determina principalmente por las características del sustrato y la economía de ésta.

En la tabla 7 se observan las áreas de aplicación de algunas lactasas por diferentes procesos.

T A B L A 7

Áreas de aplicación de los procesos de hidrólisis de lactosa utilizados industrialmente (112).

Proceso	Lactasa	Área de aplicación	
		Leche	Suero
Batch	Soluble: <i>S. lactis</i>	+	+
	<i>S. fragilis</i>	+	+
Batch*	Soluble: <i>S. lactis</i>	+	+
	<i>S. fragilis</i>		
Continuo	Inmovilizada: <i>S. lactis</i>	+	+
	<i>A. niger</i>	+	+

* Proceso con recuperación de enzima por ultrafiltración.
 † Antes se deben separar las proteínas y los minerales.

2.5 APLICACIONES DE LECHE CON LACTOSA HIDROLIZADA

La hidrólisis de lactosa en la leche causa algunos cambios en la manufactura y mercadotecnia de productos lácteos. Estos cambios, como ya se dijo anteriormente incluyen el incremento de la dulzura sin aumento del contenido calórico del producto (45),

aumento de la solubilidad de los azúcares, así como una fermentación más rápida de esos azúcares y una reducción en la concentración de lactosa que va asociada a una posible disminución de la cristalización.

Tales efectos pueden incrementar la calidad de los productos, pero también permiten el desarrollo de nuevos mercados (los consumidores que normalmente no consumen productos lácteos por ser deficientes en lactasa).

En una evaluación sensorial de leche hidrolizada realizada por Holzinger y Roberts (54) se encontró que la leche con 30, 60 y 90 % de lactosa hidrolizada es equivalente en sabor a la leche que contiene respectivamente 0.3, 0.6 y 0.9 % de sacarosa adicionada. Similarmente Paige et al. (122) reportaron que adolescentes negros encontraron a la leche con 90 % de lactosa hidrolizada como una bebida aceptable, sin embargo, el 56 % de estos sujetos la notaron más dulce que el control (leche con lactosa sin hidrolizar).

En la elaboración de ciertos productos lácteos fermentados, la leche es tratada con lactasa para obtener la conversión de lactosa en glucosa y galactosa. La glucosa es más rápidamente utilizada como fuente de carbono, por lo tanto, frecuentemente se estimula el uso de cultivos lácteos los cuales se consideraban inusables por su inhabilidad para utilizar la lactosa como única fuente de carbohidratos (112).

Se ha demostrado que la leche con lactosa hidrolizada tiene ventajas económicas cuando se usa en la manufactura del yogurt, queso cottage y queso chedar, ya que no solamente el yogurt de

leche hidrolizada es preferido al yogurt convencional en pruebas de sabor, sino que además el tiempo requerido para alcanzar el pH deseado se reduce de un 15 - 25 % (50).

Otras ventajas que trae consigo elaborar yogurt con leche pretratada con lactasa son: el producto final tiene mayor viscosidad, la vida de anaquel es prolongada y con el incremento de dulzura permite un menor uso de la cantidad de azúcar adicionada en yogurt de frutas obteniendo un producto final con menor contenido calórico, además de que los sabores se acentúan más. Otro factor importante es que este alimento tendrá un alto número de bacterias lácticas viables (24, 52, 91, 107).

3. YOGURT

3.1 DEFINICION

La Norma Oficial Mexicana establece tres tipos de yogurts:

El yogurt natural es definido como un producto lácteo preparado a partir de leche entera, parcial o totalmente descremada, enriquecida en extractos secos por medio de la concentración de esta o agregando leche en polvo, tratada térmicamente y coagulada biológicamente por la fermentación obtenida de la siembra en simbiosis de los fermentos lácticos *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* (114).

El yogurt con fruta y aromatizado es el producto definido anteriormente que ha sido adicionado de frutas o preparados a base de frutas y saborizantes permitidos, debe llevar un mínimo de 75 % de yogurt.

El yogurt aromatizado es el yogurt natural adicionado con saborizantes permitidos (114).

De acuerdo a la concepción del mercado actual, el yogurt debe ser un líquido suave y viscoso, o un suave y delicado gel; pero en ambos casos debe ser un producto uniforme, de textura firme, con la mínima sinéresis y con un sabor característico (44, 63, 68, 143).

En México el consumo nacional de yogurt en 1980 fué de 15 000 toneladas, lo cual representa el 8 % del total de derivados lácteos producidos en nuestro país. En 1985 el consumo de este producto fué de 32 000 toneladas, representando al 13 % de los derivados lácteos producidos; la producción para 1990 será de 49 000 toneladas (21).

3.2 FERMENTOS LACTICOS

Un cultivo iniciador se define como una población de microorganismos controlados que se adicionan a la leche o a sus derivados para producir acidez y/o sustancias que producen sabor las cuales caracterizan a estos productos.

Para la elaboración de yogurt se utilizan principalmente dos microorganismos: el Lactobacillus bulgaricus y el Streptococcus thermophilus. El primero es un bacilo homofermentativo gram positivo, largo, no móvil el cual produce ácido D - (-) láctico.

Es capaz de fermentar galactosa, lactosa y fructosa pero no así maltosa y sacarosa. Puede crecer a temperaturas superiores a 45°C, pero tiene su óptima entre 40 - 43°C; no es capaz de crecer a temperaturas menores de 15°C. Tiene la habilidad de crecer a pH's inferiores a 5, y presenta metabolismo fermentativo aún en presencia de aire. El segundo es una bacteria gram positiva esférica, la cual se observa en pares o en cadenas; es homofermentativo y produce ácido L - (+) - láctico a partir de glucosa, fructosa, lactosa o sacarosa. Tiene una temperatura óptima de crecimiento de 40 - 45°C, aunque puede crecer hasta 50°C, pero no a menos de 20°C (20, 44).

El crecimiento asociado entre los dos organismos (S. thermophilus y L. bulgaricus) en el cultivo iniciador de yogurt es llamado simbiosis, en esta relación ambos organismos se estimulan mutuamente para producir un incremento en la cantidad de biomasa, de ácido láctico y de acetaldehído (146, 155).

El L. bulgaricus hidroliza activamente las proteínas produciendo aminoácidos como: glicina, valina, histidina, leucina e

lactancia que estimulan el crecimiento del *S. thermophilus*. En esta bacteria corresponde producir ácido fólico y vitamina de carbono los cuales son estimulantes para el bacilo (44, 10, 157). Durante las primeras etapas de la fermentación el *S. thermophilus* crece rápidamente causando una coagulación del suero (leche) lo cual también favorece el crecimiento del *L. bulgaricus* (44, 63). Las condiciones de crecimiento son factores determinantes durante la fermentación (44). No obstante que ambas especies son termófilas, las temperaturas superiores a 40 - 45 °C favorecen al bacilo (31), mientras que temperaturas aproximadas a 31 °C permiten que el coco domine (63).

Las dos especies son acidúricas, pero el *S. thermophilus* crece mejor a pH más alto. Cuando el pH cae abajo de 5.5, el *L. bulgaricus* es más activo que el coco, y a pH inferior a 4.2 la fermentación es enteramente dominada por el bacilo (31, 44, 161). Los organismos productores de yogurt pueden presentar problemas de crecimiento lento o incluso nulo debido a la presencia de una gran variedad de sustancias y de agentes inhibidores.

Los fermentos lácticos sustentan sus ciclos de vida por un gran número de rutas metabólicas que cubren sus necesidades biosintéticas y de energía. Cada ruta metabólica consiste en muchas reacciones que son reguladas por diferentes sistemas enzimáticos. Estas reacciones bioquímicas son fundamentales para obtener un yogurt de alta calidad (155).

El *L. bulgaricus* y el *S. thermophilus* transforman la lactosa a ácido láctico con la formación de cantidades muy pequeñas de otros productos (31).

Además el ácido láctico es responsable del sabor ácido característico y distintivo del yogurt (146, 158). Esta acidez también inhibe el crecimiento de otras bacterias tales como las patógenas *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* y algunos microorganismos que deterioran el producto (95, 146).

Los fermentos lácticos son los responsables de la producción de compuestos que contribuyen al sabor y al aroma de el yogurt. Estos compuestos pueden ser divididos en cuatro categorías:

- 1) Ácidos no volátiles (láctico, pirúvico, oxálico).
- 2) Ácidos volátiles (fórmico, acético, propiónico).
- 3) Compuestos carbonílicos (acetaldehído, acetón, acetoina).
- 4) Otros (aminoácidos y constituyentes formados por la degradación de proteínas, grasa y lactosa).

2.3 ELABORACION

A continuación se esquematizan los procesos de manufactura del yogurt tradicional y del proceso moderno.

2.3.1 PRODUCCION DE LA MEZCLA BASE

2.3.1.1 CLARIFICACION

La leche líquida puede contener materiales que son indeseables como: células epiteliales, leucocitos, hojas, cabellos, paja, etc. El objetivo principal de la clarificación es remover tales contaminantes para asegurar una mejor calidad del producto final.

La clarificación se puede realizar por filtración por un paño o por medio de la fuerza centrífuga. Aunque el proceso de filtración tiene grandes limitaciones (únicamente remueve desechos grandes) es el más adecuado para la elaboración de

Esquema generalizado para la Producción de Yogur (153).

PROCESO TRADICIONAL

Hervir la leche hasta tener 2/3 partes del volumen original.

Enfriar a temperatura de incubación.

Inocular con un cultivo iniciador.

Incubar hasta la producción del coágulo.

Enfriar.

Consumir.

PROCESO MODERNO

Efectuar un tratamiento térmico a la leche.

Estandarizar sólidos totales, grasas y adicionar otros componentes.

Homogenización.

Tratamiento térmico.

Enfriar a temperatura de incubación.

Inocular con un cultivo iniciador.

Incubar hasta la producción de acidez deseada.

Enfriar.

Adición de ingredientes y aditivos.

Empacar.

Almacenamiento.

yogurt debido a que el tratamiento térmico que se realiza en la mezcla base reduce drásticamente el nivel de los otros contaminantes.

3.3.1.2 ESTANDARIZACION DEL CONTENIDO DE GRASA EN LA MEZCLA BASE

Es necesario que los productores establezcan la composición de su producto para que siempre tenga las mismas características. Por este motivo se estandariza la leche empleada para la manufactura de este alimento.

Los métodos que se pueden emplear para la estandarización de grasa en la leche son: separar parte de la grasa contenida en la leche, mezclar leche entera con leche descremada y adicionar crema a la leche entera o descremada.

3.3.1.3 ESTANDARIZACION DEL CONTENIDO DE SOLIDOS NO GRASOS EN LA MEZCLA BASE

Las propiedades físicas del coágulo son gradualmente mejoradas con el incremento de sólidos de 12 - 20 %, sin embargo, el cambio de la consistencia entre 16 y 20 % tiende a ser menos pronunciada (94).

La fortificación de sólidos en la mezcla base puede realizarse por los métodos siguientes:

- 1) Proceso tradicional.
- 2) Adición de leche en polvo.
- 3) Adición de suero en polvo.
- 4) Adición de caseína en polvo.
- 5) Concentración por evaporación.
- 6) Concentración por membranas de filtración.

3.3.1.4 ADICION DE ESTABILIZANTES/EMULSIFICANTES

El objetivo principal de la adición de estabilizantes en la mezcla base es aumentar y mantener las características deseables en el yogurt, como cuerpo, textura, viscosidad, consistencia, apariencia y sensación en la boca.

El modo de acción de los estabilizantes en el yogurt incluye dos funciones básicas, la unión de agua y el incremento de la viscosidad.

Las moléculas de estabilizante son capaces de formar una red por uniones entre los constituyentes de la leche y ellos mismos debido a la presencia de grupos con cargas negativas o de sales que tienen la capacidad de secuestrar iones calcio (56).

3.3.1.5 ADICION DE EDULCORANTES

El objetivo principal de la adición de edulcorantes en el yogurt, es el de disminuir el tono ácido del producto. La cantidad de edulcorantes adicionados es dependiente de:

- 1) Aspectos legales.
- 2) Tipos de compuestos.
- 3) Preferencia del consumidor.
- 4) Consideraciones económicas.
- 5) Posible efecto inhibitor en el cultivo iniciador.

El agente edulcorante más utilizado en la elaboración de yogurt es la sacarosa, se recomienda que sea adicionada en la mezcla base aproximadamente a 40°C con agitación para obtener una disolución completa.

3.3.1.6 ADICION DE CONSERVADORES

En la industria alimentaria son usados diferentes tipos de conservadores, algunos productores adicionan estos compuestos a la mezcla base para mantener y prolongar la calidad del yogurt. Pero la presencia de tales compuestos en la mezcla base pueden afectar el crecimiento de cultivos iniciadores. El ácido sórbico es ampliamente usado en la fabricación de yogurt ya que no actúa sobre cultivos, este compuesto es micostático. También pueden ser empleadas sus sales de sodio y de potasio, su actividad esta relacionada con el pH bajo del producto.

3.3.2 HOMOGENIZACION

El yogurt es una emulsión de aceite en agua. La grasa en este producto tiende a separarse de la fase acuosa, para prevenir esta separación, la mezcla base se homogeniza, además de que también mejora la viscosidad y la textura del producto final.

El proceso de homogenización aumenta la viscosidad del yogurt así como también disminuye la sinéresis del coágulo.

3.3.3 TRATAMIENTO TERMICO

El tratamiento térmico que se efectúa en la mezcla base tiene como objetivo principal el destruir y/o eliminar a microorganismos patógenos e indeseables.

En la manufactura del yogurt se emplean diversas combinaciones de tiempos y temperaturas, algunas condiciones utilizadas en la industria son 30 minutos a 85°C, 5 minutos a 90°C y 3 segundos a 115°C.

La elección adecuada de la combinación tiempo - temperatura del

tratamiento térmico para la fabricación de yogurt depende de: las condiciones de la planta, de la destrucción de patógenos, de la producción de compuestos inhibidores y estimulantes de fermentos lácticos, y por último, en los cambios en las propiedades fisicoquímicas de los constituyentes de la leche.

3.3.4 FERMENTACION

Después del tratamiento térmico la mezcla base se enfría hasta la temperatura de incubación. En general la leche se fermenta a 40 - 45°C, que es la temperatura óptima de crecimiento de la mezcla de cultivos. En algunos casos el período de incubación puede ser tan corto como 2 horas, cuando el cultivo iniciador es muy activo y cuando la proporción entre los dos microorganismos está bien balanceada. En ocasiones se emplea el método largo de incubación que se lleva a cabo a 30°C por aproximadamente 18 horas.

La formación del gel en el yogurt se debe a ciertos cambios biológicos y físicos de la leche, algunos de estos cambios se presentan a continuación:

- a) Los cultivos del yogurt utilizan a la lactosa de la leche para cubrir sus necesidades energéticas, como resultado se producen ácido láctico y otros compuestos importantes.
- b) La formación gradual de ácido láctico desestabiliza las micelas de caseína por la solubilización de calcio, fosfatos y citratos.
- c) Las micelas de caseína se unen y coalescen parcialmente a pH's aproximados a su punto isoeléctrico, 4.6 - 4.7 (155).

3.3.5 ENFRIAMIENTO

La producción de yogurt es un proceso biológico, el enfriamiento es un método popular para el control de la actividad metabólica de cultivos y de sus enzimas. El coágulo se debe enfriar después de obtener la acidez deseada.

El objetivo principal de esta etapa es disminuir la temperatura del coágulo de 30 - 45°C a menos de 10°C para controlar rápidamente la acidez final del producto debido a que los fermentos lácticos muestran una actividad limitada a estas temperaturas.

3.3.6 ADICION DE SABORIZANTES Y COLORANTES

Las frutas frescas pueden ser usadas como ingredientes saborizantes en la elaboración de yogurt, pero debido a su disponibilidad por temporadas y a su calidad variable, su uso en la industria es muy limitado. Por lo tanto, las frutas procesadas son más ampliamente empleadas. Estas frutas se clasifican de la siguiente manera:

- 1) Frutas en conserva.
- 2) Frutas en conserva adicionadas con aditivos.
- 3) Frutas congeladas.
- 4) Puré de frutas.
- 5) Jarabe de frutas.
- 6) Mermelada de frutas.

El tratamiento térmico aplicado a las frutas puede reducir la intensidad del sabor, por este motivo, en la práctica se adicionan agentes saborizantes para compensar tales pérdidas.

Estos compuestos también se usan en la manufactura de yogurts

saborizados, congelados y para beber. Además de los compuestos anteriores se le pueden adicionar al yogurt otros productos como por ejemplo: miel, jarabes, caraméls, vegetales, etc.

La adición de colorantes en yogurtes de frutas y saborizados está dirigida a la elaboración de productos más atractivos.

3.3.7 ENVASADO

El envasado es un paso importante en la manufactura del yogurt. Su principal objetivo es mantener la calidad del producto durante su distribución hasta llegar al último consumidor. Esta operación debe también facilitar el manejo del producto dentro de la fábrica, durante su almacenamiento y transporte, y en el período de su venta.

El envase deberá proteger al yogurt contra el medio ambiente como: basura y otros cuerpos extraños; microorganismos que afectan su calidad; gases como el oxígeno que favorece el crecimiento de algunos hongos y levaduras; luz que puede causar la oxidación de grasas y la decoloración del producto. Así como también deberá evitar la pérdida por evaporación de humedad, de sabores volátiles y la absorción de olores indeseables.

Desde el punto de vista de la mercadotecnia, el envase es importante ya que proyecta la imagen del producto, además de contener toda la información necesaria.

3.3.8 REFRIGERACION

La refrigeración del yogurt comercial es esencial para disminuir las reacciones biológicas y bioquímicas que ocurren en el alimento y así mantener la calidad del producto hasta por tres

semanas después de la fecha de elaboración.

3.4 ELABORACION DE YOGURT CON BAJO CONTENIDO DE LACTOSA

A pesar de que para la producción de yogurt la mayoría de las cepas de *St. thermophilus* y *L. bulgaricus* han sido seleccionadas por su facultad de fermentar la lactosa, la hidrólisis efectiva de este azúcar parece ser el factor limitante del desarrollo (94, 95). Durante la manufactura del yogurt, únicamente el 15 - 20 % de la lactosa es utilizada como fuente de energía (155). Por este motivo, la prehidrólisis de la lactosa suele estimular el crecimiento adicional de los cultivos.

El tratamiento de la lactosa en la leche con beta - galactosidasa antes de la elaboración del yogurt, convierte al disacárido en glucosa y galactosa. La glucosa es fácilmente fermentada por el cultivo del yogurt, lo que acelera el desarrollo de acidez y el crecimiento de biomasa (94, 95, 118, 119, 154), es decir, presenta mayor rendimiento que cuando se utiliza leche normal. Esto sugiere una más alta elaboración de subproductos del metabolismo en leche no hidrolizada que en leche tratada, lo cual puede repercutir en el sabor del producto (154).

Con el incremento de la hidrólisis, el yogurt adquiere un sabor más dulce sin el aumento del contenido calórico, esto permite el uso de cantidades más pequeñas de azúcar (94, 95).

Holsinger refiere que el pretratamiento de la leche con lactasa produce un yogurt más aceptado por el consumidor y que usando una escala hedónica de 9 puntos los consumidores dieron un valor de 6.1 a este yogurt, mientras que al yogurt control lo calificaron con 4.6 (52).

Existen tres procesos para hidrolizar la lactosa durante la manufactura del yogurt:

- a) Hidrólisis a baja temperatura / incubación a alta temperatura.
- b) Hidrólisis a alta temperatura / incubación a alta temperatura.
- c) Hidrólisis a baja temperatura / incubación a baja temperatura.

Una vez que la leche ha llegado a la planta, se le puede practicar un tratamiento térmico corto si se considera necesario.

En el primer proceso de hidrólisis, la preparación enzimática se agrega a la leche fría (menos de 10°C) durante su almacenamiento, en este proceso es esencial agitar la leche y ajustar el pH. Una vez obtenido el grado de hidrólisis adecuado se prosigue con la fabricación del yogurt en forma usual.

En el proceso del inciso b, primero se ajusta el pH de la leche, se calienta a $30 - 45^{\circ}\text{C}$, se adiciona la enzima y se agita la solución en intervalos regulares para asegurarse de que la solución sea homogénea, de forma que la enzima pueda realizar su acción. El tiempo de hidrólisis dependerá de la actividad de la enzima y de la cantidad agregada. Por último se procede a elaborar el yogurt en la forma convencional.

En el proceso c, se prepara la mezcla base, se precalienta a 50°C y se homogeniza, después se realiza el tratamiento térmico y la mezcla se enfría a 30°C , entonces se adiciona el cultivo y la preparación enzimática. La incubación se lleva a cabo en 16 - 18 horas aproximadamente, el yogurt se enfría y por último se realiza el frutado y se envaza.

En los procesos a y b, la enzima se inactiva con un tratamiento térmico, en el proceso c, la actividad de la enzima se reduce

gradualmente y su total inactivación ocurre a pH's menores de 5 (04, 95, 155).

Con el tratamiento con lactasa, el yogurt se mantendrá fresco durante un período más largo, la viscosidad será mejor y el número de bacterias viables será 50 - 100 % más alto.

Los grados de hidrólisis más elevados, 60 - 80 % proporcionan un producto más dulce. Con grados de hidrólisis mayores puede ocurrir un ligero cambio en la proporción de los estreptococos y lactobacilos, por lo tanto son sólo recomendados para los yogurts de frutas.

Cuando el procedimiento de producción normal de yogurt incluye también la concentración se recomienda realizarla inmediatamente después de la hidrólisis. Si la leche es fortificada con leche en polvo o con suero, se recomienda llevar a cabo este paso antes de la hidrólisis (54, 95).

3.5 VALOR NUTRICIONAL

La composición química de un alimento proporciona valores de su potencial nutricional, aunque existan algunos aspectos del comportamiento del yogurt en el cuerpo humano que no son revelados por análisis químicos. La tabla 3 muestra los principales componentes del yogurt.

En ocasiones al yogurt se le agregan estabilizantes para reducir la separación del suero, la mayoría de estos compuestos son polisacáridos regulares que no pueden ser atacados por las enzimas digestivas en el cuerpo humano, por lo que no actúan como fuente de energía, pero estimulan el movimiento peristáltico del intestino y absorben algunas sustancias potencialmente tóxicas

que se forman en el intestino delgado como resultado de la acción bacteriana (135).

T A B L A 8

Valores típicos de los principales constituyentes del yogurt (155).

Constituyentes (unidades /100g)	Yogurt		
	Normal	Bajo en grasas	Con frutas
Calorías	72.0	64.0	98.00
Proteínas (g)	3.2	4.5	5.00
Grasas (g)	3.4	1.6	1.25
Carbohidratos (g)	4.9	6.5	18.6
Calcio (mg)	145.0	150.0	176.0
Fosforo (mg)	114.0	118.0	153.0
Sodio (mg)	47.0	51.0	-
Potasio (mg)	186.0	192.0	254.0

3.6 CONTROL DE CALIDAD

La calidad de un producto puede ser establecida por varios criterios, incluyendo las características químicas, físicas, microbiológicas, nutricionales y sensoriales. Para determinar la calidad se realizan gran cantidad de pruebas con diferentes grados de objetividad, y estas pruebas pueden ser usadas para asegurar que un producto sea:

- 1) Apto para el consumo humano y conforme a regulaciones dictadas por autoridades.
- 2) Capaz de alcanzar una determinada vida media sin

contaminación.

3) Sensorialmente aceptado.

Es importante tener en mente que la calidad del producto final dependerá de la calidad de las materias primas con las cuales se elabora, del proceso de manufactura y de las condiciones higiénicas de la planta y del personal que ahí labora.

El análisis del producto final es muy importante en el control de calidad, ya que los problemas que se presentan durante la manufactura casi siempre se manifiestan en forma de defectos en el producto terminado. Por lo que es importante tomar en cuenta la Norma Oficial Mexicana para Yogurt.

4. HELADO

4.1 DEFINICION

Se entiende por helado de crema o de leche, al producto que resulta de la congelación de la mezcla batida de crema o leche con azúcar, adicionada o no de mantequilla, sólidos no grasos de la leche, huevo, frutas frescas secas y limpias o en conserva, frutas secas, sólidos de suero o de queso u otros ingredientes y aditivos permitidos. Esta mezcla debe estar debidamente pasteurizada y homogenizada (4, 162).

La combinación de estos componentes, antes de la incorporación de aire y la congelación se conoce como la base para el helado.

El helado y otros postres congelados se clasifican principalmente por su sabor y composición.

En México la S.S. considera tres tipos de helados:

I. Helados de crema, los obtenidos con crema de leche como base, con un contenido mínimo de 8 % de grasa de leche y no menos de 8 % de sólidos no grasos de leche.

II. Helados de leche, los obtenidos con la leche como base, con un contenido entre 4 - 7 % de grasa de leche y no menos de 11 % de sólidos totales de leche.

III. Sorbetes, los helados obtenidos de leche, con un contenido mínimo de 2 % de grasa de leche y no menos de 3 % de sólidos no grasos de la leche.

Se prohíbe el uso de grasas ajenas a la leche en la elaboración de helados así como el uso de esta denominación a los que se fabriquen utilizando grasas diferentes a la leche. Se permite usar como estabilizante solamente gelatina pura (0.6 %), gomas

vegetales (0.65 %), pectinos (0.2 %), o una mezcla de ellas; así como el empleo de colorantes y saborizantes aprobados por la propia Secretaría. Queda prohibido el uso de conservadores en la fabricación de helados.

4.2 MATERIAS PRIMAS

Las materias primas deben seleccionarse y proporcionarse de manera que le confieran al producto la composición deseada la cual puede variar considerablemente dependiendo del tipo de helado que se elabore, de la región y de las normas legales.

Las materias primas son: grasa butírica, sólidos no grasos de la leche, azúcar, color, sabor, frutas y estabilizantes.

4.3 ELABORACION

4.3.1 EQUIPO

El equipo principal consiste en el tanque de mezclado, pasteurizador, homogenizador, enfriador, tanque de almacenamiento, congelador, conservador de frutas y una refrigeración mecánica.

Además de las piezas principales del equipo, existen los moldes para la fabricación de cuadros de helado, las máquinas empacadoras, las lavadoras de botes, los camiones de reparto y el equipo de laboratorio.

Generalmente todo el equipo de elaboración es de acero inoxidable.

4.3.2 FORMULACION DE LA MEZCLA

La formulación de una mezcla para helados de crema involucra en

primer lugar una decisión con respecto a cual será la composición del producto final.

Este criterio resulta de considerar las normas legales, las preferencias del mercado, los costos, la disponibilidad de materias primas y otros factores: a fin de garantizar la composición final que se desea deben seleccionarse las materias primas, muestrearse y analizarse para asegurarse que las contribuciones cualitativas y cuantitativas al producto serán las que se pueden predecir con exactitud.

El primer paso en la elaboración de la base consiste en juntar los ingredientes líquidos en un tanque mezclador en donde se calientan hasta alcanzar una temperatura de 45°C. Luego el azúcar y los otros ingredientes secos se añaden a la mezcla caliente que ayuda a disolverlos.

Los ingredientes en forma de partículas grandes, como frutas no se añaden todavía, ya que se desintegrarían durante el procesamiento subsecuente. Estos se agregarán durante la operación de congelación.

4.3.3 PASTEURIZACION

La mezcla se pasteuriza mediante un proceso térmico por lotes o continuo. Las temperaturas de pasteurización empleadas son más elevadas que las que se usan en la leche, porque el contenido elevado de grasa y azúcar tiende a proteger las bacterias contra la destrucción térmica.

La temperatura usual para la pasteurización por lotes es de 71°C por 30 minutos, y para la pasteurización continua de alta temperatura corto tiempo es de 89°C por 25 segundos.

4.3.4 HOMOGENIZACION

La mezcla pasteurizada se homogeniza a la temperatura que tiene que salir del equipo pasteurizador. Se puede emplear un homogenizador de dos etapas en la que la mezcla se bombea a una presión de 2500 psi a través de la válvula de la primera etapa y de 600 psi a través de la de segunda etapa.

La homogenización mejora el cuerpo y la textura generales del helado.

4.3.5 AÑEJAMIENTO DE LA MEZCLA.

La mezcla se conserva por un período que fluctúa entre 3 - 24 horas a una temperatura de 4.5°C o más baja. El añejamiento logra lo siguiente:

- La grasa derratida se vuelve sólida
- El estabilizante se hincha y se combina con el agua
- Las proteínas de la leche también se hinchan y se combinan con el agua
- Se aumenta la viscosidad de la mezcla

Estos cambios aceleran el batido haciendo que se logre más fácilmente el aumento de volumen deseado en el congelador, producen cuerpo y textura más suaves y hacen que el helado se derrita más lentamente.

4.3.6 CONGELACION

Después del añejamiento la mezcla está lista para congelarse. Se introduce fría (entre -1.0°C y 4.5°C) por bombeo a un congelador por lotes ó de operación continua.

La operación de congelación tiene dos objetivos principales: congelar la mezcla hasta alcanzar -5.5°C e introducir celdas de

aire mediante el batido.

4.3.7 AUMENTO DE VOLUMEN

El aire, introducido al producto mediante el batido, en forma de pequeñas celdas es necesario a fin de prevenir que el helado sea demasiado denso, duro y frío en la boca.

La cantidad usual del aumento de volumen en el helado es del 70 al 100 %. Si el helado tiene un aumento del 100 % significa que contiene un volumen de aire equivalente al volumen de la mezcla que se congeló. El volumen aumentado en cualquier helado se puede calcular con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ del aumento de volumen} = \frac{\text{volumen del helado} - \text{volumen de la mezcla}}{\text{volumen de la mezcla}} \times 100$$

Las normas federales y estatales especifican el aumento de volumen máximo permisible por litro de producto.

4.3.8 ENDURECIMIENTO

Los cartones llenos de helado semisólido se llevan a una cámara de endurecimiento que se mantiene a una temperatura aproximada de -34°C .

El endurecimiento en esta cámara se debe a la congelación de la mayor parte del agua restante. El producto ya duro está listo para la venta.

4.3.9 MERCANTILIZACION

Los helados se venden en una gran variedad de formas. Después de haber sido congelados solidamente en la cámara de endurecimiento se transportan en camiones refrigerados a los mercados, fuentes de soda, hoteles y restaurantes donde son almacenados en

gabinetes refrigerados mecánicamente.

4.4 CONTROL DE CALIDAD:

Se entiende por control, todos los procedimientos, técnicas y metodologías sean físicas, químicas, organolépticas y microbiológicas destinadas a determinar, asegurar y garantizar la calidad de una especialidad de heladería.

El control de calidad comprende:

- a) Condiciones sanitarias de la heladería
- b) Ingredientes que se usen
- c) Proceso e instalación
- d) Proceso terminado
- e) Envasado y envases
- f) Almacenamiento
- g) Distribución

En el Diario Oficial de la Federación Tomo CD XII No. 11 del 18 de enero de 1988 se establecen las especificaciones para los diversos tipos de helados.

4.5 DEFECTOS DEL HELADO

Las características que el consumidor busca y desea en toda especialidad de heladería, es que teniendo una apariencia y consistencia perfectas; sean suaves a la lengua, de masticación agradable, de constitución uniforme, de fusión adecuada, de sabor y de color correctos.

Cualquier variación en una de estas cualidades, constituye un defecto, que pueda ser originado por uno o la combinación de los siguientes factores:

- Uso de ingredientes defectuosos o alterados
- Formulación desequilibrada
- Proceso de fabricación inapropiado
- Enduramiento y almacenaje inadecuados
- Aromatización defectuosa
- Distribución y venta deficientes
- Conservación insuficiente
- Alteraciones de naturaleza química y microbiológica
- Defectos de envase o embalaje

Una variación en la estructura física del helado es causa de varios defectos en este producto, los cuales se manifiestan por una anomalía en:

- El cuerpo y textura
- La calidad de derretimiento
- La estabilidad químico - biológica
- El color y estabilidad de la forma
- El sabor

El principal defecto observado en helados es la tan conocida textura arenosa, en donde el helado aparenta contener pequeñas partículas de arena. Estas partículas son cristales de lactosa, lo cual ocurre cuando el helado contiene una excesiva cantidad de sólidos lácteos no grasos.

Este defecto no debe confundirse con la textura cristalina motivada por la presencia de cristales de hielo, los cuales desaparecen por fusión cuando el helado se pone en la boca, mientras que los de lactosa persisten.

La lactosa no es tan soluble como la sacarosa; cuando la

temperatura del helado disminuye lo suficiente, cristaliza en forma de pequeños cristales. La lactosa existe bajo dos formas en equilibrio: la forma alfa monohidratada y la beta anhidra. La lactosa alfa es relativamente insoluble en agua, siendo la dominante a temperatura ordinaria.

Si la relación lactosa/agua en la mezcla es superior a 1/12,5 existe el peligro de la formación de cristales de alfa lactosa, los cuales permanecen en el paladar si su dimensión es superior a 3 micras.

Otra de las causas de arenosidad, son las fluctuaciones de temperatura en la cámara de endurecimiento o en las vitrinas de venta.

El ablandamiento y endurecimiento alternados del helado, produce rápidamente arenosidad, por formarse sobreconcentraciones locales, con núcleos de cristalización.

Para evitar la textura arenosa en el helado, así como en otros productos lácteos altamente concentrados, se ha propuesto el uso de leche deslactosada.

La leche con la lactosa hidrolizada tiene un sabor similar al de la leche normal con la única diferencia de que se acentúa su sabor dulce.

Debido a la alta solubilidad de los azúcares simples; se pueden obtener productos lácteos altamente concentrados congelados sin que haya lugar a cristalización. Esta característica puede ser empleada en beneficio de la manufactura de helados. También al utilizar leche deslactosada se obtienen productos con mejores características de derretido. La textura no se volverá arenosa ni

siquiera después de haber sido almacenado durante largo tiempo (86).

La hidrólisis de la lactosa transforma este disacárido, que tiene una solubilidad relativamente baja, en glucosa y galactosa. Estos últimos azúcares son 3 - 4 veces más solubles que la lactosa. Por esta razón, la leche con la lactosa hidrolizada es muy apropiada para la preparación de productos de leche concentrada, en los que la propia lactosa tiende a cristalizarse. La hidrólisis parcial de la lactosa, de 30 - 40 %, evitará que la textura se vuelva arenosa, así como también evitará la floculación de la proteína.

4.6 VALOR NUTRICIONAL

El valor alimenticio del helado de crema involucra su composición total y sus propiedades nutritivas.

Una mezcla de composición común, como sería el caso de 12 % de grasa, 10 % de sólidos no grasos y 14 % de azúcar añadida tendrá un valor energético de aproximadamente 200 Kcal/100 g.

La proteína de la leche contribuye con los aminoácidos esenciales. Las frutas si las hay contribuirán con la calidad nutritiva especial que poseen (4, 165).

5. LECHE ACHOCOLATADA

5.1 DEFINICION

Muchos productos lácteos son ampliamente usados como bebidas sin la adición de sabores. Sin embargo, los agentes saborizantes son utilizados como un medio para incrementar el mercado.

Algunas materias primas utilizadas en la elaboración de bebidas saborizadas son la leche entera, la leche descremada y el suero.

En algunos países se le da el nombre de leche achocolatada al producto elaborado a partir de leche entera, endulzada y con sabor a chocolate; cuando se elabora con leche descremada se designa como bebida láctea achocolatada.

5.2 MATERIAS PRIMAS

La materia prima base para la fabricación de este producto es la leche de vaca descremada, parcialmente descremada o entera. El porcentaje de grasa contenido en la leche es un factor muy importante ya que está directamente relacionado con el sabor de la bebida. La leche que se usa con mayor frecuencia es la que tiene de 2 a 3.5 % de grasa.

El sabor más popular de las bebidas lácteas es el chocolate. Para proporcionar este sabor generalmente se emplea la cocoa.

La cocoa es el cacao parcialmente desengrasado que se presenta en forma de polvo de color propio de la variedad del cacao y de la técnica de proceso empleados (113). La cocoa es usada en proporción de 1.5 %.

Otro agente saborizante que puede ser utilizado en la manufactura de leche achocolatada es el jarabe de chocolate estabilizado.

Este jarabe deberá contener 1 % de cocoa, 5 % de azúcar y 0.2 %

de alginato de sodio.

El agente edulcorante empleado con mayor frecuencia en este producto lácteo es la sacarosa, generalmente se agrega en una proporción de 5 a 6%. Sin embargo, a esta bebida se le puede adicionar otros agentes edulcorantes siempre y cuando sean permitidos por la legislación.

En ocasiones sustancias como la vainilla, la sal y algunas especies son agregadas a la leche achocolatada en muy pequeñas cantidades para potenciar su sabor.

Usualmente se adicionan estabilizantes con el fin de retardar o prevenir la sedimentación de las partículas de cocoa. Los estabilizantes más comúnmente usados son la gredina en proporción de 0.2 %, el alginato de sodio en una concentración de 0.2 % y la carragenina en una cantidad de 0.04 %.

Es importante tomar en cuenta la concentración de estabilizantes agregados, ya que la presencia de esas sustancias en la leche achocolatada aumentan su viscosidad, y si esta llega a ser excesiva se torna indeseable.

5.3 ELABORACION

La leche utilizada en la elaboración de bebidas lácteas con sabor a chocolate se debe homogenizar, este proceso ayuda a estabilizar los lípidos y evitar la separación de fases. Las presiones empleadas en este proceso pueden variar de 50 Kg/cm a 300 Kg/cm. La leche se calienta primero para disminuir la viscosidad del sistema y licuar la grasa, ya que en esas condiciones se facilita el rompimiento de los glóbulos.

Se recomienda que la adición de los ingredientes sólidos (cocoa,

antacidizantes y sacarina) y de jarabes se realiza después de la homogenización ya que si son agregados antes, el efecto de sedimentación aumenta.

Una vez que se realiza la homogenización y que todos los ingredientes han sido incorporados se efectúa la pasteurización de la mezcla. La leche achocolatada entonces se enfría y se envaza, generalmente en recipientes de cartón. Por último se almacena a temperatura de refrigeración.

5.4 ELABORACION DE LECHE ACHOCOLATADA BAJA EN LACTOSA

La manufactura de leche achocolatada usando como materias primas leche con bajo contenido en lactosa tiene las ventajas que ya se han mencionado en este trabajo.

En la elaboración de este producto, primero se realiza la hidrólisis enzimática de la siguiente forma: si es necesario, la leche se somete a un tratamiento térmico de incubación. Para evitar la contaminación se recomienda adicionar la enzima a una temperatura inferior a los 10°C, durante el almacenamiento usual, o bien a 37 - 40°C, pero durante un período de tiempo más corto. La leche se debe agitar para asegurar que se tiene una solución homogénea; una vez que el grado de hidrólisis ha sido alcanzado la leche está lista para continuar el proceso normal de elaboración de leche achocolatada.

Cuando la calidad microbiológica de la leche es buena, y si la enzima ha sido tratada asepticamente, es posible agregar la enzima a la leche después de la pasteurización.

TRABAJO EXPERIMENTAL

8. TRABAJO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describen los materiales empleados para la elaboración de leche, yogurt, helado y leche achocolatada con bajo contenido en lactosa.

Se mencionan los métodos de análisis utilizados en la determinación de la actividad de la lactasa, en la caracterización de la materia prima y de los productos deslactosados, en el control tanto del proceso de hidrólisis como del proceso de elaboración de cada producto y en el seguimiento de su vida de anaquel.

Se describe también el método seguido para la evaluación sensorial de cada uno de los productos obtenidos.

6.1 MATERIALES

6.1.1 MATERIALES UTILIZADOS PARA LA ELABORACION DE LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

6.1.1.1 LECHE FLUIDA

En la producción de leche con bajo contenido en lactosa se utilizó leche ALPURA pasteurizada y homogenizada. Este producto se adquirió en un centro comercial y se mantuvo en refrigeración hasta el momento de su utilización.

6.1.1.2 ENZIMA

La hidrólisis de la leche se llevó a cabo mediante la utilización de la enzima Lactasa Fungal 30,000 producida por los Laboratorios Miles, la cual tenía una actividad de 30.440 LU/g.

6.1.2 MATERIALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.1.2.1 LECHE FLUIDA HIDROLIZADA AL 70 %

En la fabricación de este producto se empleó leche fluida ALPURA pasteurizada y homogenizada, la cual fue hidrolizada enzimáticamente para obtener el 70 % de hidrólisis de la lactosa.

6.1.2.2 LECHE EN POLVO

Se utilizó leche en polvo NIDO a fin de llevar a cabo el proceso de fortificación de la leche.

6.1.2.3 FRUTA EN CONSERVA

La fruta en conserva fue elaborada en el laboratorio y estaba constituida por el 70 % de mango manila y el 30 % de azúcar refinada.

6.1.2.4 INOCULO

Como inóculo se empleó una cepa para yogurt. Esta cepa estaba constituida por dos microorganismos lácticos *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en una relación 1:1. La cepa fue proporcionada por el cepario de microbiología de la Facultad de Química.

6.1.3 MATERIALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.1.3.1 LECHE FLUIDA HIDROLIZADA AL 97.1 %

La leche fluida ALPURA pasteurizada y homogenizada fue hidrolizada enzimáticamente al 97.1 % para su utilización en la elaboración del helado deslactosado.

6.1.3.2 CREMA DE LECHE DE VACA

Se utilizó crema de leche de vaca ALPURA, la cual también fue

Hidrolizada enzimáticamente junto con la leche al 87.1 %.

6.1.3.3 FRUTA

La fruta utilizada para dar sabor al helado deslactosado fue mango Manila.

6.1.3.4 AZUCAR

Como edulcorante se usó azúcar refinada. Este producto se compró en un centro comercial en presentación de bolsa de 2 Kg.

6.1.3.5 ESTABILIZANTE

El estabilizante utilizado en la elaboración del helado fue gomatina.

6.1.4 MATERIALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.1.4.1 LECHE FLUIDA HIDROLIZADA AL 96.3 %

Para la elaboración de este producto se empleó leche fluida ALPURA pasteurizada y homogenizada, la cual fue hidrolizada enzimáticamente al 96.3 %.

6.1.4.2 AZUCAR

Se utilizó azúcar refinada para edulcorar el producto. Este material se adquirió en un centro comercial en presentación de bolsa de 2 kg.

6.1.4.3 COCOA

El sabor y color de la leche fue proporcionado mediante la adición de Cocos De Viller tipo holandés de COCOAS y CHOCOLATES LA CORONA. El producto se compró en un centro comercial en presentación de 250 g.

6.1.4.4 ESTABILIZANTE

Para prevenir o retardar la sedimentación de las partículas de cocoa se usó gomatina como estabilizante.

6.1.4.5 VAINILLA

Se usó extracto de vainilla de McCormick como potenciador del sabor a chocolate proporcionado por la cocoa.

6.2 METODOS DE ANALISIS

Para llevar a cabo la determinación de la actividad de la lactasa, la caracterización de la materia prima y de los productos deslactosados, el control de los procesos de hidrólisis y de elaboración, así como la determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada, se efectuaron los siguientes análisis.

6.2.1 ANALISIS FISICOQUIMICOS

Estos análisis comprendieron las determinaciones de humedad (3), grasa (110, 138), proteína (3), lactosa (140, 156), ácido láctico (3, 59, 110, 138), sólidos totales y sólidos no grasos (3, 110), peso específico (3, 110, 138), temperatura (138, 121), pH (59) y aumento de volumen (138).

6.2.2 ANALISIS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACION DE LA LACTOSA HIDROLIZADA

El porcentaje de lactosa inicial se determinó empleando el método de Teles (156). En la determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada se probaron varios métodos para ver cual daba mejores resultados y reproducibilidad. Los métodos utilizados fueron los siguientes: Método del Acido picrico (130), Método del DNS (38), Método de Somogyi (38) y el Método modificado para la determinación rápida de lactosa (104).

6.2.3 ANALISIS REALIZADOS DURANTE EL SEGUIMIENTO DE LA VIDA DE ANAQUEL DE LOS PRODUCTOS DESLACTOSADOS

6.2.3.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

La leche con bajo contenido en lactosa se almacenó a 6°C por un período de 8 días, y en estas condiciones se determinó secuencialmente su vida de anaquel mediante evaluación sensorial y con los siguientes análisis fisicoquímicos:

- % ácido láctico
- prueba del alcohol
- lactofarmentación
- reducción del azul de metileno.

Al mismo tiempo se determinó la vida de anaquel de una leche sin hidrolizar en las mismas condiciones de composición y almacenamiento.

6.2.3.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

Se determinó la vida de anaquel del yogurt elaborado con leche deslactosada y la del yogurt testigo mediante la medición de acidez y la evaluación de las características sensoriales siguientes:

- Olor
- Color
- Sabor
- Separación de suero

El seguimiento del producto se llevó a cabo en un período de 22 días y a una temperatura de 6°C.

6.2.3.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

La vida de anaquel de los productos elaborados se determinó por

medio de las siguientes características sensoriales:

- Olor
- Color
- Sabor
- Untuosidad
- Arenosidad

Los productos fueron mantenidos a temperatura de congelación y el seguimiento de ellos se llevó a cabo por un período de 37 días.

6.2.3.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

El seguimiento de la leche achocolatada con bajo contenido en lactosa se realizó en un período de 8 días, en condiciones de refrigeración (6°C). La vida de anaquel se determinó por medio de una evaluación sensorial y con algunos análisis fisicoquímicos como son:

- Acidez
- Prueba del alcohol
- Lactofermentación
- Reducción del azul de metileno
- pH

Paralelamente se determinó la vida de anaquel de una leche achocolatada testigo, esto es, sin hidrolizar la lactosa.

6.3 PROCESOS DE ELABORACION DE LOS PRODUCTOS CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.3.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.3.1.1 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA LACTASA

A fin de conocer el comportamiento en la leche de la enzima utilizada se le determinó su cinética de reacción, que comprende las siguientes condiciones:

- Temperatura - Tiempo - Actividad
- Concentración de enzima - Actividad
- Agitación - Actividad
- pH - Actividad

Para determinar estas relaciones se efectuaron varios experimentos en los cuales se variaron los siguientes parámetros: temperatura, concentración de enzima, velocidad de agitación y pH, manteniendo constante la concentración de sustrato.

Cada experimento tuvo una duración de cuatro horas. Se tomaron muestras cada hora para determinarles pH, % ácido láctico y % de lactosa hidrolizada.

6.3.1.2 PROCESO DE HIDROLISIS

6.3.1.2.1 ADICION DE LA ENZIMA

La leche se calentó a 40°C, fue entonces cuando se agregó la lactasa en una concentración de 22 mg/g de lactosa.

6.3.1.2.2 HIDROLISIS

La leche se dejó incubando a 40°C, con agitación constante de 150 rpm, durante cuatro horas para obtener el 96.3 % de hidrólisis de lactosa.

6.3.1.2.3 INACTIVACION DE LA ENZIMA

La lactasa se inactivó a 72°C durante 15 segundos.

6.3.1.2.4 REFRIGERACION.

La leche deslactosada se enfrió y se refrigeró a 6°C.

6.3.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.3.2.1 FORMULACION

La formulación utilizada en la elaboración de yogurt con bajo contenido en lactosa fue la siguiente:

Leche	66.00 %
Fruta en conserva	24.30 %
Leche en polvo	4.20 %
Inóculo	5.00 %

6.3.2.2 PROCESO DE ELABORACION DE LA FRUTA EN CONSERVA

El proceso de elaboración de la fruta en conserva se realizó de la siguiente manera:

- 1) Se mezcló la fruta con el azúcar.
- 2) Se calentó hasta 80°C agitando constantemente.
- 3) Se mantuvo constante la temperatura durante tres minutos.
- 4) Se enfrió rápidamente.

6.3.2.3 PROCESO DE ELABORACION

El proceso de elaboración de un yogurt generalmente consta de las siguientes etapas:

- Clarificación.
- Estandarización de sólidos y grasas.
- Adición de estabilizantes, edulcorantes y conservadores.

- Homogenización.
- Tratamiento térmico.
- Fermentación
- Enfriamiento.
- Adición de saborizantes y colorantes.
- Envasado.
- Refrigeración.

El yogurt que se elaboró a nivel laboratorio se realizó siguiendo las etapas mencionadas anteriormente con excepción de:

- Clarificación. Debido a que la leche utilizada ya estaba clarificada.

- Adición de estabilizantes, edulcorantes y conservadores. El yogurt que se elaboró no necesitó de la adición de estabilizantes ya que el producto final presentó una estabilidad natural.

Tampoco fue necesario agregar compuestos edulcorantes ya que la dulzura deseada se logró en la etapa de frutado, con la adición de fruta en conserva. Como la elaboración del yogurt se efectuó en condiciones asépticas, la acidez del producto inhibe el crecimiento bacteriano por lo que no se requirió de la adición de conservadores.

- Homogenización. No hubo necesidad de homogenizar la mezcla base debido a que se utilizó como materia prima leche homogenizada y no se agregó crema para ajustar el porcentaje de grasa del producto.

A continuación se describen las etapas del proceso de elaboración del yogurt con bajo contenido en lactosa:

- Estandarización de grasas y sólidos totales. Se requirió

estandarizar los sólidos totales a 18 % y el contenido de grasa a 4.95 % en la mezcla base para obtener un producto con características agradables. por este motivo fue necesario adicionar a la leche fluida, la leche entera en polvo en una proporción de 4.2 %. Debido a este proceso de fortificación de la leche la concentración de lactosa se incremento de 4.89 % a 7.84 % en la mezcla base.

mezcla base.

- Hidrólisis de la lactosa. El proceso de hidrólisis de la lactosa se efectuó adicionando la enzima en una proporción de 17 mg/g de lactosa a 40°C con agitación constante de 150 rpm, ya que estas condiciones son las adecuadas para lograr el 70 % de hidrólisis en 2.12 horas.

- Tratamiento térmico. La mezcla base se lleva a 90°C por 5 minutos con el fin de pasteurizarla e inactivar la enzima.

- Fermentación. La mezcla se enfrió a 42°C, fue entonces cuando se adicionó el cultivo, en condiciones asépticas. La fermentación se llevó a cabo a esta temperatura y sin agitación durante 3 horas. Este fue el tiempo necesario para alcanzar una acidez de 0.911 % de ácido láctico. Durante esta etapa, se tomaron muestras periódicamente para determinar el pH y el porcentaje de ácido láctico, y de este modo observar la evolución de la fermentación.

- Enfriamiento. Inmediatamente después de la fermentación el yogurt se enfrió a 8°C para disminuir la actividad metabólica del cultivo y obtener un coágulo estable.

- Adición de saborizantes. La adición de fruta en conserva se

realizó en condiciones asepticas, se agregó en una proporción de 24.8 %.

- Envasado. El envasado se hizo manualmente en recipientes de plástico.

- Refrigeración. Para mantener el producto en buenas condiciones durante un periodo de tiempo prolongado, el yogurt se refrigeró a una temperatura de 6°C.

Paralelamente se corrió un testigo, el cual se elaboró de manera similar, exceptuando la etapa de hidrólisis de lactosa en la mezcla base.

6.3.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.3.3.1 FORMULACION

El helado con bajo contenido en lactosa fue elaborado de acuerdo a la siguiente formulación:

Leche	55.70 %
Crema	17.20 %
Fruta	15.43 %
Azúcar	11.17 %
Grenetina	00.50 %

6.3.3.2 PROCESO DE ELABORACION

En la fabricación del helado con bajo contenido en lactosa se siguió el siguiente proceso:

- Hidrólisis de la lactosa. Primeramente se mezclaron la leche y la crema. Esta mezcla fue calentada a 60°C y posteriormente homogenizada en un homogenizador manual. La temperatura de la mezcla se ajustó a 40°C, se le agregó la enzima

Lactasa Fungal 30,000 en una concentración de 22 mg/g de lactosa. La mezcla se incubó a 40°C con agitación constante a una velocidad de 150 rpm por un tiempo de 4 horas para obtener una hidrólisis del 87.1 %.

- Adición de ingredientes. Se mezclaron la granatina y el azúcar, los cuales fueron adicionados poco a poco e incorporados mediante la batidora. Posteriormente se agregó la fruta y se mezcló con batidora hasta tener una perfecta incorporación de ingredientes.

- Tratamiento térmico. La temperatura de la mezcla base fue incrementada gradualmente a 60°C por un tiempo de 25 segundos, empleándose agitación constante durante la elevación de la temperatura.

- Enfriamiento. Inmediatamente se bajó la temperatura de la mezcla base a 4.5°C con ayuda de una mezcla de hielo sal.

- Añejamiento. La mezcla base se mantuvo a una temperatura de 4.5°C por un tiempo de 5 horas.

- Congelación. La congelación del helado se llevo a cabo en una heladera manual. Primeramente se llenó el congelador hasta la mitad con hielo frapá. Después se pusieron capas alternadas de hielo y sal hasta cubrir o llenar completamente el bote. Posteriormente se agregaron dos tazas de agua tibia para iniciar más rápidamente la formación de salmuera.

Se dejó enfriar la heladera por 20 minutos, después de lo cual se agregó la mezcla base añejada. La agitación de la mezcla base se realizó primero lentamente, hasta que se presentó resistencia al movimiento y luego más rápidamente para inyectar el aire necesario al helado.

- Envasado. El producto se envasó manualmente en recipientes de plástico con tapa hermética.

- Endurecimiento. Los envases fueron puestos en un congelador por aproximadamente 24 horas.

De la misma manera se elaboró un helado testigo, exceptuando la etapa de hidrólisis de lactosa.

6.3.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

6.3.4.1 FORMULACION

Para la elaboración de leche achocolatada con bajo contenido en lactosa se utilizó la siguiente formulación:

Leche	94.5 %
Azúcar	3.6 %
Cocoa	1.5 %
Grenetina	0.3 %
Vainilla	0.1 %

6.3.4.2 PROCESO DE ELABORACION

- Hidrólisis de lactosa. Una vez caracterizada la leche, se llevó a 40 °C, entonces se adicionó la lactasa en una concentración de 22 mg de enzima/g de lactosa en una pequeña proporción de la leche. Después se agregó el resto de la leche con agitación constante de 150 rpm con el fin de distribuirla perfectamente. La leche se mantuvo en estas condiciones durante 4 horas para alcanzar el 96.3 % de hidrólisis.

- Adición de ingredientes. Una vez transcurrido el tiempo de hidrólisis se adicionó lentamente y con agitación el azúcar, la cocoa, la grenetina y la vainilla en concentraciones adecuadas.

- Tratamiento térmico. Al término de la adición de ingredientes se elevó la temperatura de la leche achocolatada a 72°C durante 15 segundos con el objeto de inactivar la enzima y pasteurizar la mezcla.

- Refrigeración. La leche achocolatada se enfrió rápidamente y se refrigeró a 6°C.

6.4 EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS PRODUCTOS CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

A fin de conocer la preferencia del consumidor por los productos deslactosados se procedió a realizar una evaluación sensorial a cada uno de los productos obtenidos.

En cada evaluación sensorial se encuestaron 250 personas, de ambos sexos, de la Facultad de Química, cuyas edades fluctuaron entre los 18 y los 26 años.

Estos jueces calificaron las características sensoriales del producto deslactosado en cuestión utilizando una escala hedónica de 5 puntos.

1	gusta mucho
2	gusta
3	no gusta ni disgusta
4	disgusta
5	disgusta mucho

Las cuatro evaluaciones sensoriales se efectuaron separadamente en un lapso de dos semanas.

Las fórmulas empleadas para obtener los resultados de la evaluación sensorial de la leche con bajo contenido en lactosa son las siguientes:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$Sx = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (X - tSN = \mu = \bar{x} + tSN)$$

Donde:

x	respuestas individuales
n	número total de datos
\bar{x}	media de muestra
s	desviación estándar
Sx	desviación estándar de medias de muestra
μ	media de población
t	t student = z = k para muestras grandes.

A continuación se mencionan las características sensoriales específicas para cada producto.

6.4.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

Los jueces encuestados calificaron color, olor, sabor y apariencia de la leche deslactosada.

6.4.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

El producto se puso a consideración de 250 jueces que calificaron sabor, olor, color y consistencia del producto.

6.4.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

Los jueces entrevistados calificaron las siguientes características del helado con bajo contenido en lactosa: sabor, color, olor, cuerpo y textura.

6.4.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

En la evaluación sensorial de este producto se calificaron las características de color, olor, sabor y apariencia.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 CARACTERIZACION DE LOS MATERIALES

7.1.1 LECHE FLUIDA

T A B L A 9

Características fisicoquímicas de leche Alpura

- Grasa	3.30 %
- Lactosa inicial	4.83 %
- Sólidos no grasos	8.66 %
- Sólidos totales	11.96 %
- Peso específico	1.032
- Acido láctico	0.18 %
- Temperatura	15°C
- pH	6.70

7.1.2 LECHE EN POLVO

T A B L A 10

Características químicas de leche en polvo Nido.

- Grasa	26.0 %
- Lactosa inicial	38.6 %
- Humedad	3.0 %

7.1.2 FRUTA EN CONSERVA

T A B L A 11

Contenido de sólidos totales y humedad de la fruta en conserva.

- Sólidos totales	40.2 %
- Humedad	59.8 %

7.1.4 CREMA DE LECHE DE VACA

T A B L A 12

Características fisicoquímicas de crema Alpura

- Grasa	29.0 %
- Lactosa inicial	2.10 %
- Sólidos no grasos	6.50 %
- Sólidos totales	35.5 %
- Acido láctico	0.4805 %

7.1.5 FRUTA

T A B L A 13

Contenido de sólidos totales y humedad en mango manila.

- Sólidos totales	8.40 %
- Humedad	91.6 %

7.2 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA LACTASA.

7.2.1 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA UTILIZACION DEL METODO MODIFICADO PARA LA DETERMINACION RAPIDA DE LACTOSA.

7.2.1.1 CURVA PATRON DEL PORCENTAJE DE HIDROLISIS DE LACTOSA

T A B L A 14

CURVA PATRON

Porcentaje de hidrólisis de lactosa (140).

% HIDROLISIS	ABSORBANCIA
0	0.000
10	0.073
20	0.149
30	0.247
40	0.324
50	0.430
60	0.514
70	0.573
80	0.651
90	0.745
100	0.943

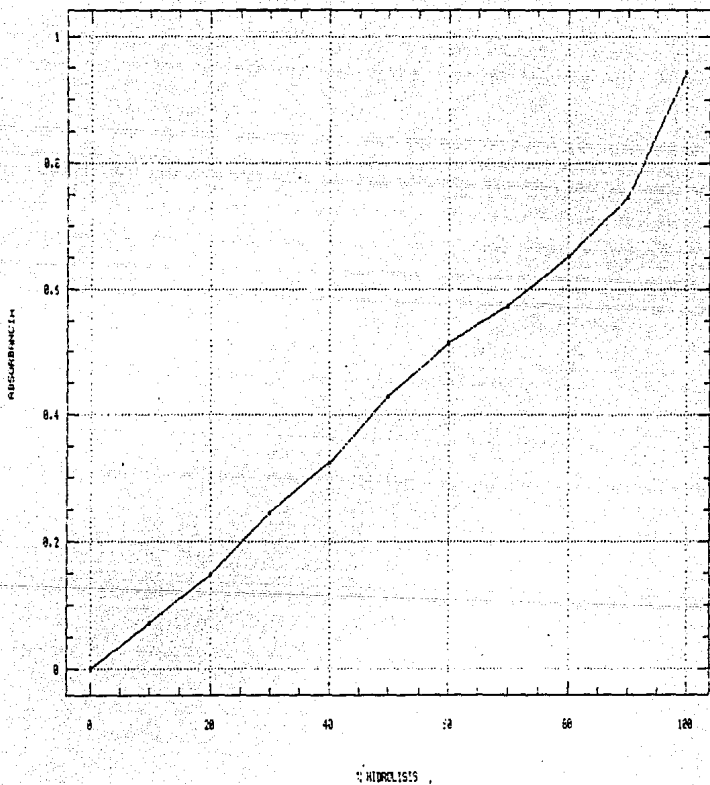
7.2.1.2 RELACION TEMPERATURA - TIEMPO - ACTIVIDAD

Condiciones de reacción:

- Concentración de enzima	11 mg/ g de lactosa
- pH	6.7
- Velocidad de agitación	150 rpm
- % Acido láctico	0.190
- % Lactosa inicial	4.83
- Tiempo	4 horas

FIGURA 1

PERCENTAJE DE HIDROLISIS DE LACTOSA



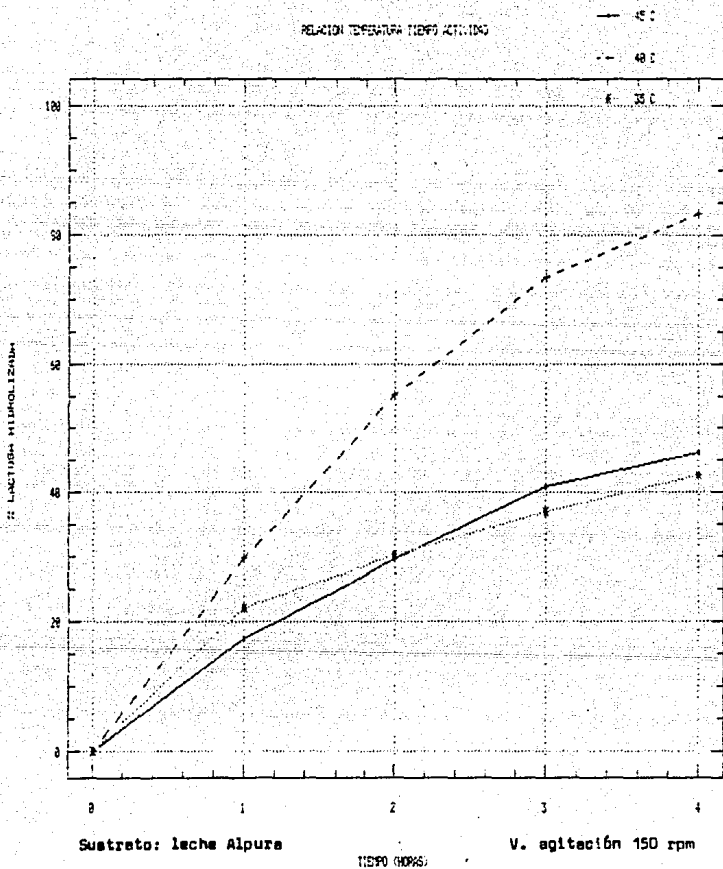
T A B L A 15

Determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada
variando la temperatura.

TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (HRS.)				
	0	1	2	3	4
45					
Absorbancia	0.000	0.133	0.242	0.342	0.388
% Lactosa hidrolizada	0.000	17.40	29.70	40.93	46.14
40					
Absorbancia	0.000	0.244	0.468	0.630	0.716
% Lactosa hidrolizada	0.000	29.60	55.200	73.500	83.100
35					
Absorbancia	0.000	0.176	0.248	0.307	0.358
% Lactosa hidrolizada	0.000	22.200	30.300	37.000	42.800
30					
Absorbancia	0.000	0.151	0.230	0.243	0.274
% Lactosa hidrolizada	0.000	19.370	28.290	29.800	33.300
20					
Absorbancia	0.000	0.158	0.210	0.228	0.242
% Lactosa hidrolizada	0.000	20.140	26.010	28.000	29.620
10					
Absorbancia	0.000	0.097	0.136	0.138	0.149
% Lactosa hidrolizada	0.000	13.280	17.700	17.990	19.200
0					
Absorbancia	0.000	0.059	0.079	0.106	0.115
% Lactosa hidrolizada	0.000	9.000	11.210	14.300	15.400

FIG. 2

RELACION TEMPERATURA TIEMPO ACTIVIDAD



Sustrato: leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

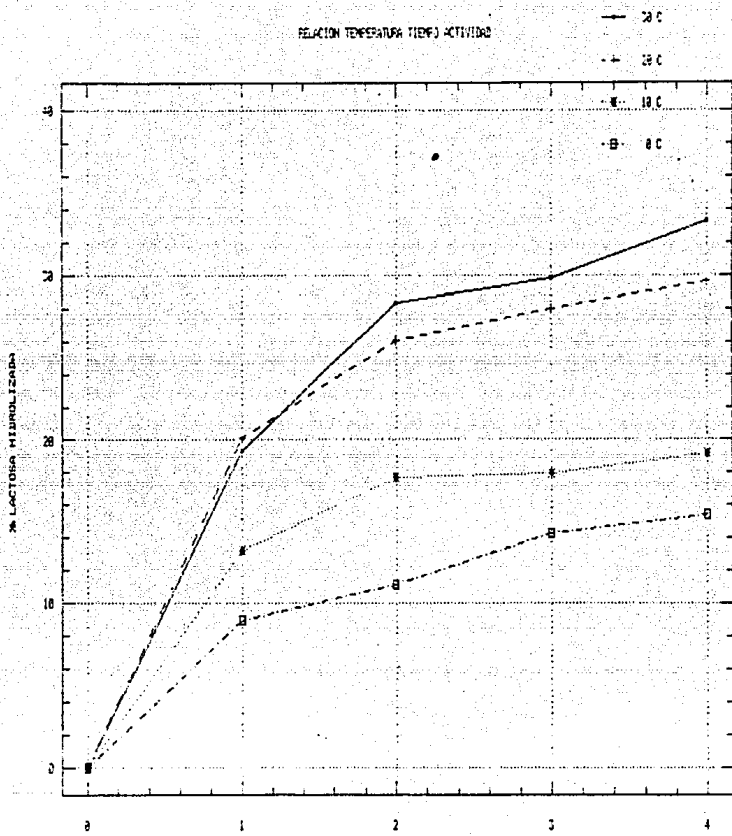
11 mg lactosa / g lactosa

V. agitación 150 rpm

pH 6.7

FIGURA 3

RELACION TEMPERATURA TIEMPO ACTIVIDAD



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

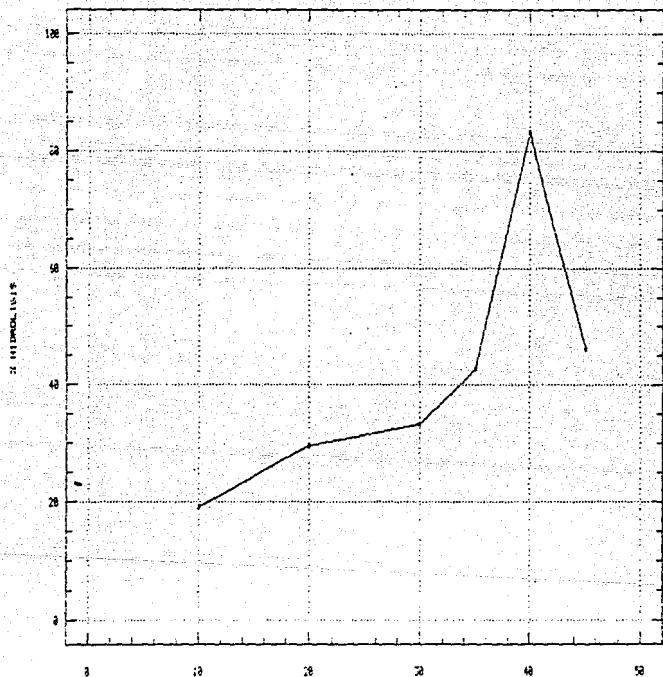
11 mg / g lactosa

TIEMPO (HORAS)

V. agitación 150 rpm.

pH 6.7

FIGURA 4
EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ACTIVIDAD
DE LA ENZIMA LACTASA FUNGAL 10,000



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

11 mg lactasa / g lactosa

TEMPERATURA

V. agitación 150 rpm

pH 6.7

Tiempo 4 horas

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

7.2.1.3 RELACION CONCENTRACION DE ENZIMA - ACTIVIDAD.

Condiciones de reacción:

- Temperatura 40°C
- pH 6.7
- Agitación 150 rpm
- % Lactosa inicial 4.83
- % Acido láctico 0.18

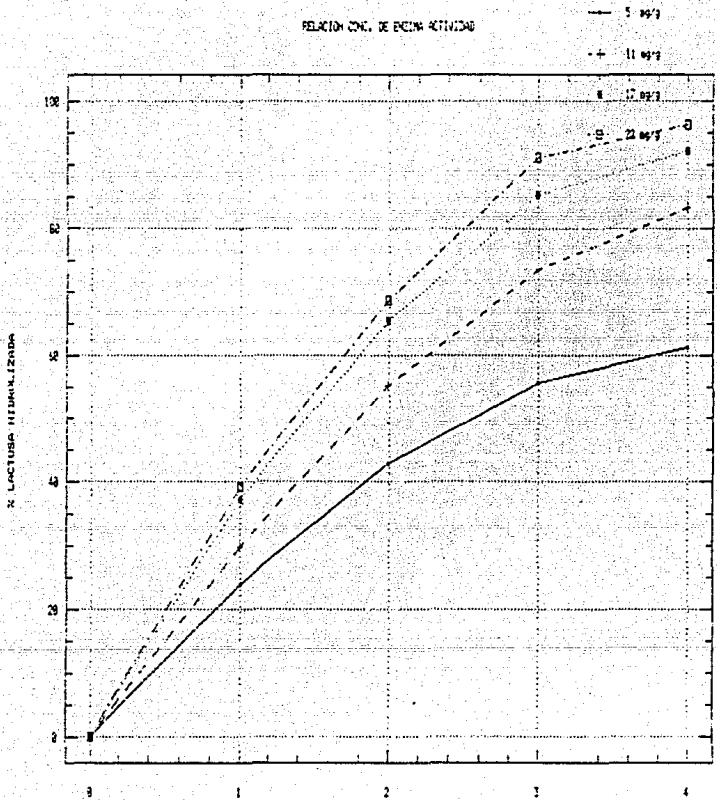
T A B L A 15

Determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada a diferentes concentraciones de enzima.

CONCENTRACION ENZIMA (mg/g lactosa)	TIEMPO (hrs.)				
	0	1	2	3	4
5					
Absorbancia	0.00	0.192	0.360	0.471	0.522
% Lactosa hidrolizada	0.00	24.000	43.000	55.500	61.300
11					
Absorbancia	0.00	0.244	0.461	0.630	0.716
% Lactosa hidrolizada	0.00	29.960	55.200	73.500	83.100
17					
Absorbancia	0.00	0.309	0.559	0.733	0.794
% Lactosa hidrolizada	0.00	37.200	65.400	85.100	92.000
22					
Absorbancia	0.00	0.326	0.585	0.786	0.833
% Lactosa hidrolizada	0.00	39.200	68.500	91.100	96.300

FIGURA 5

RELACION CON. DE ENZIMA ACTIVIDAD



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

Temperatura 40°C

(TIPO 4096)

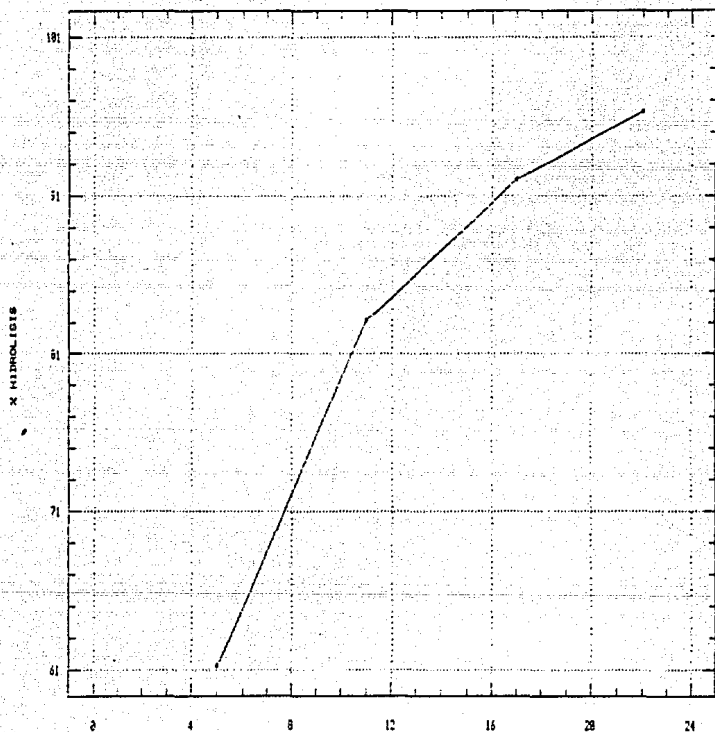
V. agitación 150 rpm

pH 6.7

FIGURA 6

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE ENZIMA

EN LA HIDROLISIS DE LECHE ALPURA



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

Temperatura 40°C

CONCENTRACION DE ENZIMA (mg/lactosa)

V. agitación 150 rpm

pH 6.7

Tiempo 4 horas

7.2.1.4 RELACION AGITACION - ACTIVIDAD

Condiciones de reacción:

- Temperatura	40 °C
- pH	6.7
- Tiempo	4 hrs.
- Concentración de enzima	11 mg/g de lactosa.
- % Acido láctico	0.18
- % lactosa inicial	4.83

T A B L A 17

Determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada con y sin la utilización de agitación.

VELOCIDAD DE AGITACION (rpm)	TIEMPO (HRS.)				
	0	1	2	3	4
0					
Absorbancia	0.00	0.049	0.090	0.121	0.149
% Lactosa hidrolizada	0.00	7.950	12.570	16.000	19.200
150					
Absorbancia	0.00	0.244	0.468	0.630	0.716
% Lactosa hidrolizada	0.00	29.960	55.200	73.500	83.100
250					
Absorbancia	0.00	0.170	0.351	0.473	0.545
% Lactosa hidrolizada	0.00	21.590	42.000	55.700	63.900

FIGURA 7

RELACION AGITACION ACTIVIDAD

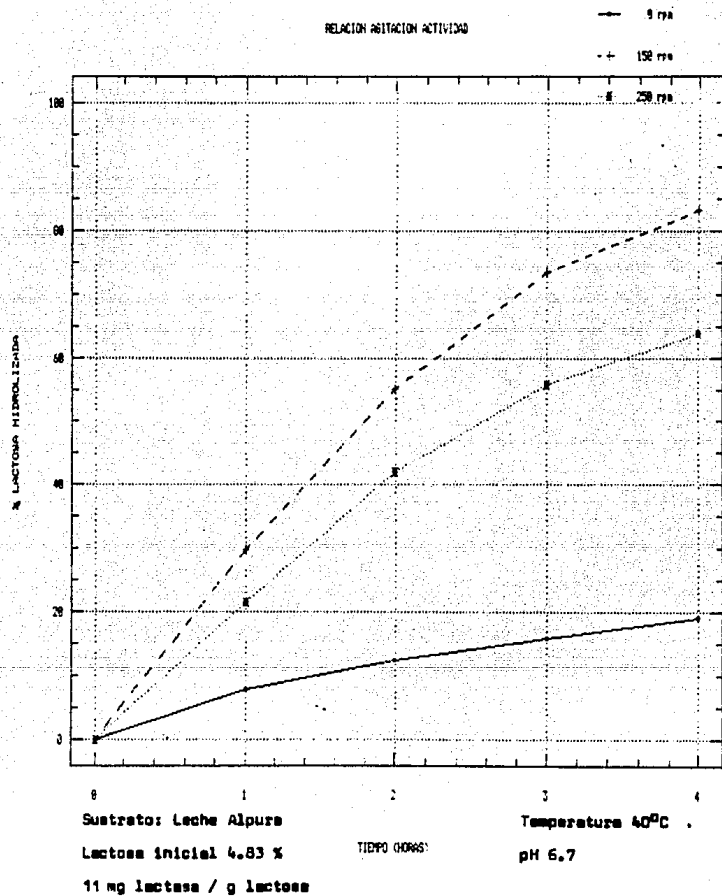
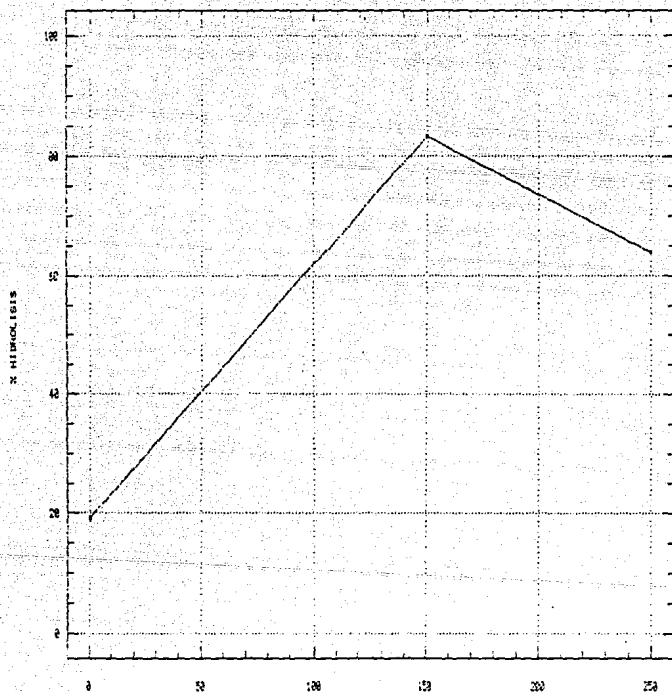


FIGURA 8

EFFECTO DE LA VELOCIDAD DE AGITACION EN

LA ACTIVIDAD DE LA DCL LACTASA FANGL



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

11 mg lactasa / g lactosa

VELOCIDAD DE AGITACION (rpm)

Temperatura 40°C

pH 6.7

Tiempo 4 horas

7.2.1.7 RELACION pH - ACTIVIDAD

Condiciones de reacción:

- Temperatura	40°C
- Tiempo	4 hrs.
- Concentración de enzima	1: mg/s de lactosa
- % Acido láctico	0.17
- Agitación	150 rpm
- % Lactosa inicial	4.8%

T A B L A 18

Determinación del porcentaje de lactosa hidrolizada variando el pH del sustrato.

pH	TIEMPO (hrs.)				
	0	1	2	3	4
6.7					
Absorbancia	0.00	0.244	0.461	0.630	0.716
% Hidrólisis	0.00	29.960	55.200	73.500	81.100
7.0					
Absorbancia	0.00	0.199	0.389	0.545	0.648
% Hidrólisis	0.00	24.800	46.300	69.870	78.460
7.8					
Absorbancia	0.00	0.108	0.177	0.214	0.225
% Hidrólisis	0.00	14.660	22.310	26.410	28.970

FIGURA 9
RELACION DE ACTIVIDAD

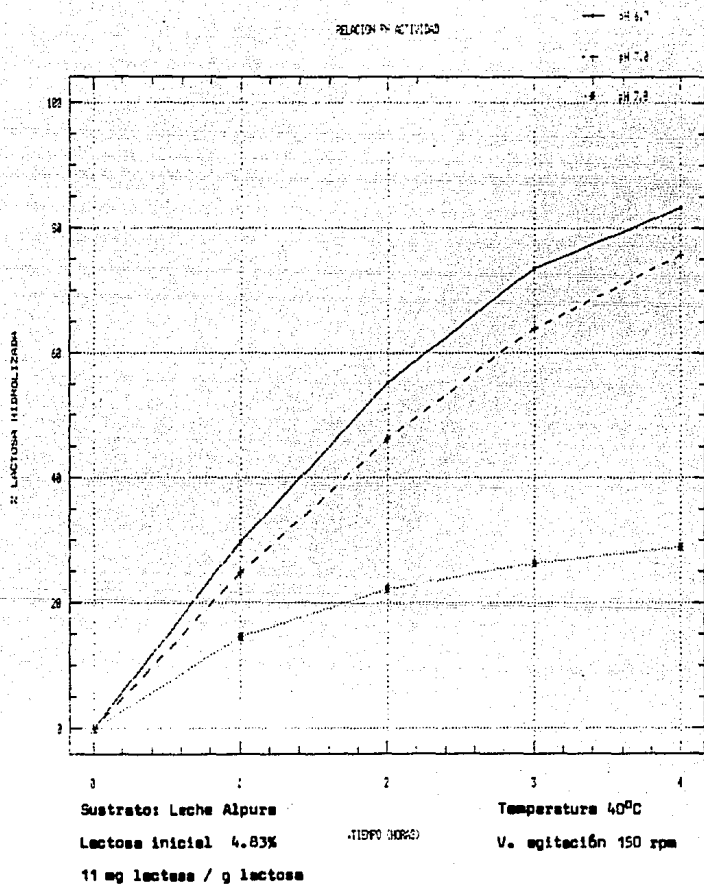
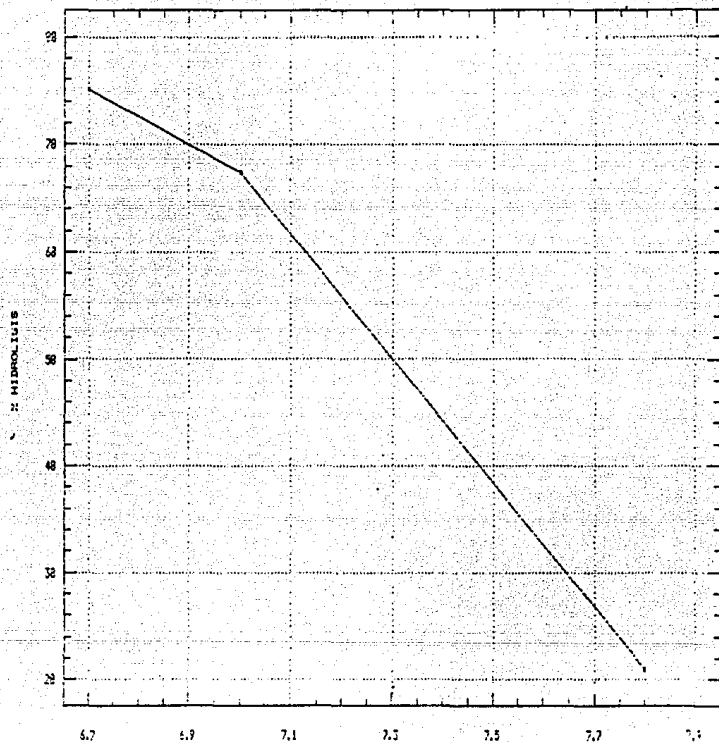


FIGURA 10

EFFECTO DEL pH DEL SUSTRATO EN LA

ACTIVIDAD DE LA ENZ. LACTASA FUNGAL



Sustrato: Leche Alpura

Lactosa inicial 4.83%

11 mg lactosa / g lactosa

Temperatura 40°C

V. agitación 150 rpm

Tiempo 4 horas

7.3 CARACTERIZACION DE LOS PRODUCTOS DESLACTOSADOS.

7.3.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 19

Características fisicoquímicas de la leche con bajo contenido en lactosa y de la leche testigo.

CARACTERISTICAS	LECHE	LECHE
FISICOQUIMICAS	TESTIGO	DESLACTOSADA
Grasa %	3.30	3.30
Lactosa %	4.91	0.182
Sólidos no grasos %	8.485	8.585
Sólidos totales %	11.785	11.885
Acido láctico %	0.155	0.155
PH	6.70	6.70

7.3.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 20

Características fisicoquímicas del yogurt deslactosado y del yogurt testigo.

CARACTERISTICAS	YOGURT	YOGURT
FISICOQUIMICAS	TESTIGO	DESLACTOSADO
Grasa %	3.200	3.200
Proteína %	3.100	3.240
Lactosa %	3.810	0.420
Sólidos totales %	22.14	22.21
Sólidos no grasos %	18.94	19.01
Humedad %	77.86	77.79
PH	4.40	4.25

7.3.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 21

Características fisicoquímicas del helado con bajo contenido en lactosa y del helado testigo.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS	HELADO TESTIGO	HELADO BAJO EN LACTOSA
Grasa %	6.800	6.800
Lactosa %	3.020	0.390
Proteína %	3.023	3.090
Sólidos totales %	25.92	25.99
Sólidos no grasos %	19.12	19.19
Humedad %	74.08	74.01

7.3.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 22

Características fisicoquímicas de la leche achocolatada con bajo contenido en lactosa y de la leche testigo.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS	LECHE ACHOCOLATADA TESTIGO	LECHE ACHOCOLATADA DESLACTOSADA
Grasa %	3.30	3.30
Lactosa %	4.87	0.100
Sólidos totales %	16.506	16.609
Sólidos no grasos %	13.208	13.308
Acido láctico %	0.164	0.164

7.4 PROCESO DE ELABORACION DE YOGURT.

7.4.1 TIEMPO DE FERMENTACION.

T A B L A 22

Datos sobre el desarrollo de acidez y PH en la etapa de fermentación.

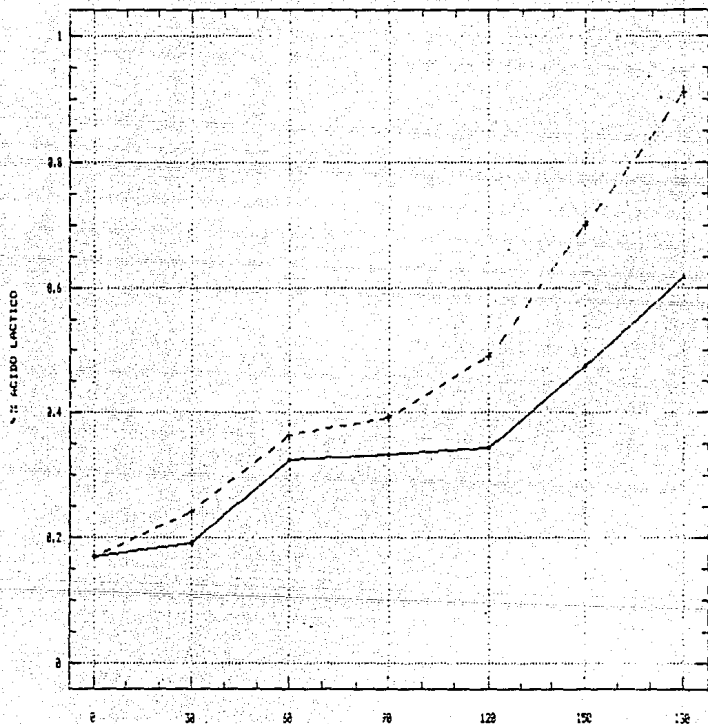
TIEMPO (min)	YOGURT TESTIGO		YOGURT BAJO EN LACTOSA	
	% Ac. láctico	PH	% Ac. Láctico	PH
0	0.170	6.70	0.170	6.70
30	0.192	6.62	0.242	6.50
60	0.325	6.46	0.365	6.20
90	0.334	6.24	0.392	5.80
120	0.334	5.95	0.490	5.32
150	0.475	5.65	0.700	4.80
180	0.617	5.30	0.911	4.25
210	0.758	4.85	-	-
240	0.895	4.40	-	-

FIGURA 11

TIEMPO DE FERMENTACION

— v. TESTIS

- - - v. DESLAC.



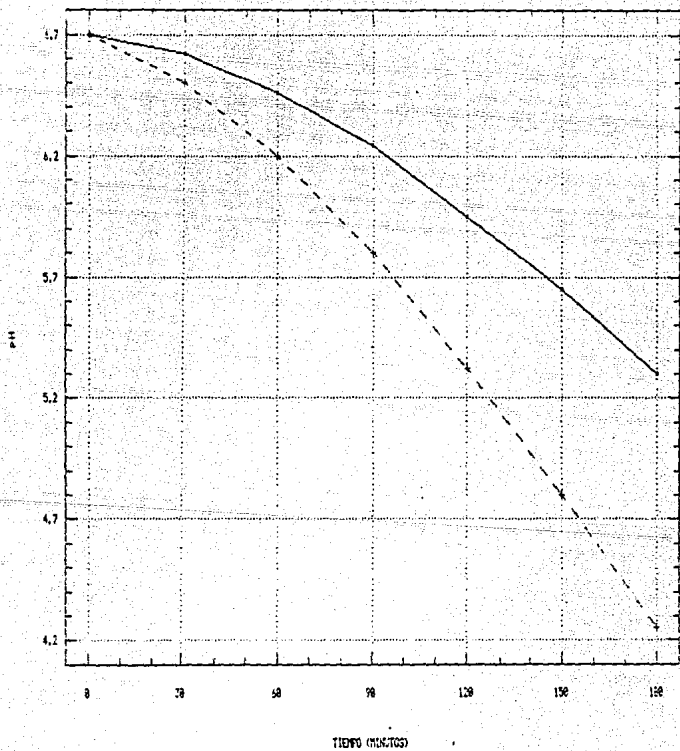
TIEMPO (MINUTOS)

FIGURA 12

TIEMPO DE FERMENTACION

— % TESTIGO

- - - % DESLAC.



7.5 SEGUIMIENTO DE LOS PRODUCTOS DESLACTOSADOS.

7.5.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 24

Determinaciones fisicoquímicas y sensoriales
de leche sin hidrolizar.

DETERMINACIONES	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	8
FISICOQUIMICAS:						
% Acido láctico	0.155	0.155	0.157	0.162	0.166	0.214
PH	6.700	6.700	6.650	6.600	6.540	6.000
Alcohol	-	-	-	-	-	+
Lactofermentación	L	L	L	G	G	G
Azul de metileno	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	6-8 hrs.	2-6 hrs.
SENSORIALES:						
Olor	C	C	C	C	C	NC
Color	C	C	C	C	C	NC
Sabor	C	C	C	C	C	NC
Apariencia	C	C	C	C	C	NC
L	Líquida					
G	Gelatinosa					
C	Característico					
NC	No característico					
-	Negativo					
+	Positivo					

T A B L A 25

Determinaciones fisicoquímicas y sensoriales de Lèche
con bajo contenido en lactosa.

DETERMINACIONES	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	8
FISICOQUIMICAS:						
% Acido láctico	0.155	0.155	0.157	0.160	0.165	0.211
pH	6.700	6.700	6.680	6.630	6.580	6.100
Alcohol	-	-	-	-	-	+
Lactofermentación	L	L	L	G	G	G
Azul de metileno	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	+ 8 hrs.	6-8 hrs.	2-6 hrs.
SENSORIALES:						
Olor	C	C	C	C	C	NC
Color	C	C	C	C	C	NC
Sabor	C	C	C	C	C	NC
Apariencia	C	C	C	C	C	NC
L	Líquida					
G	Gelatinosa					
C	Característico					
NC	No característico					
-	Negativo					
+	Positivo					

FIGURA 13

REACCION TIEMPO - % ACIDO LACTICO

— L. TESTIGO

- - L. RESAC.

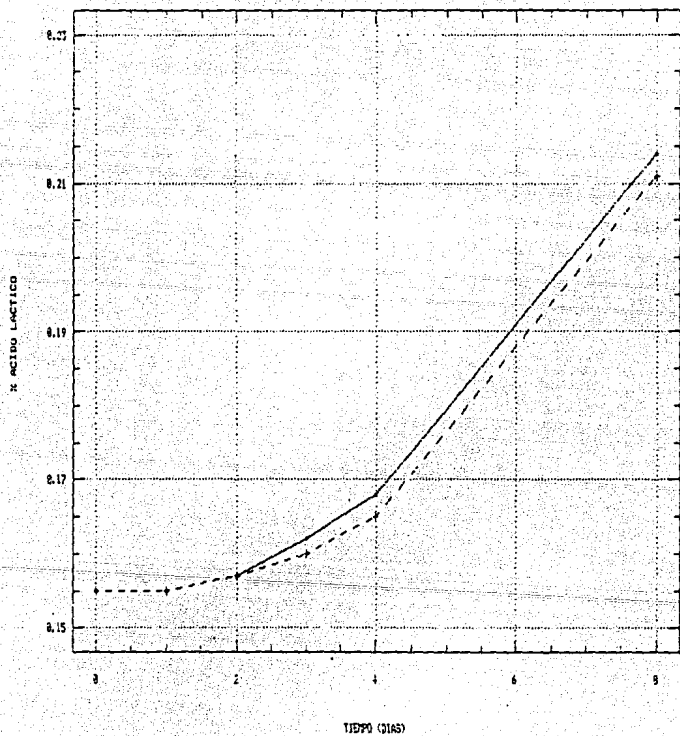
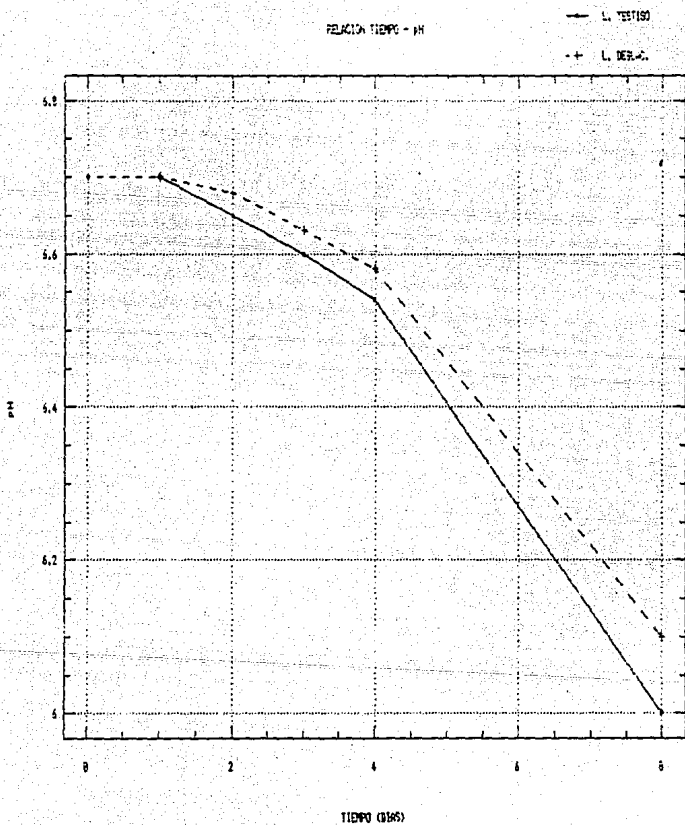


FIGURA 14

RELACION TIEMPO - PH



7.5.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 26

Determinación de acidez y evaluación sensorial del yogurt testigo por un período de 24 días.

Día	% Acidez	Sabor	Color	Olor	Separación del suero
0	0.845	C	C	C	-
2	0.880	C	C	C	-
4	0.933	C	C	C	-
8	1.052	C	C	C	-
10	1.136	C	C	C	-
14	1.463	C	C	C	-
16	1.747	C	C	NC	+
18	2.056	NC	NC	NC	+
22	2.643	NC	NC	NC	+
24	2.944	NC	NC	NC	+

C Característico
 NC No característico
 - Negativo
 + Positivo

T A B L A 27

Determinación de acidez y evaluación sensorial del yogurt con bajo contenido en lactosa por un periodo de 24 días.

Día	% Acidez	Sabor	Color	Olor	Separación del suero
0	0.881	C	C	C	-
2	0.983	C	C	C	-
4	0.899	C	C	C	-
8	0.962	C	C	C	-
10	1.015	C	C	C	-
14	1.163	C	C	C	-
16	1.286	C	C	C	-
18	1.491	C	C	C	-
22	2.051	NC	NC	NC	+
24	2.293	NC	NC	NC	+

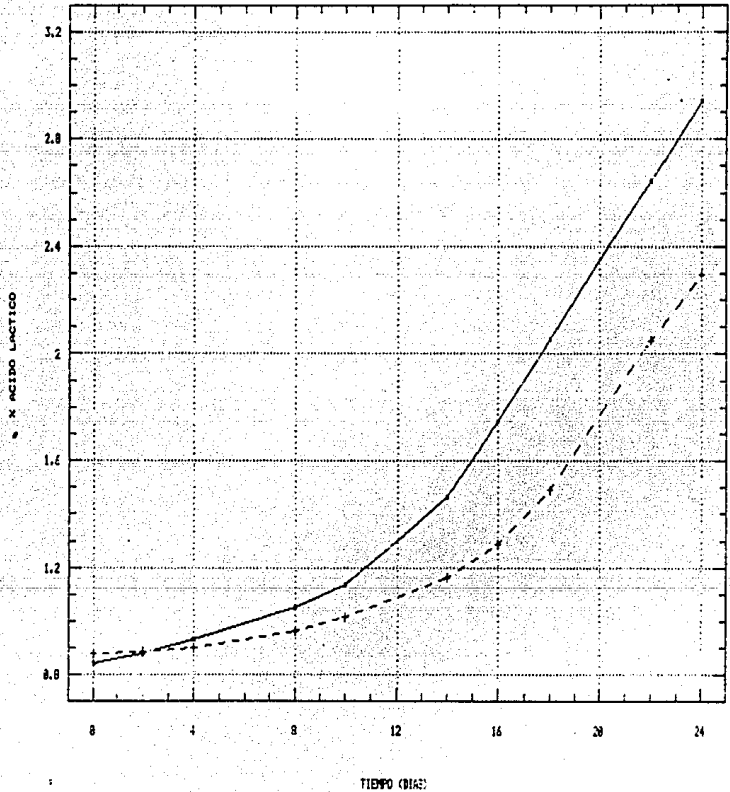
C Característico
 NC No característico
 - Negativo
 + Positivo
 % Acidez Acido láctico

FIGURA 15

RELACION TIEMPO - % ACIDO LACTICO

— Y. TESTIGO

-+ Y. DESLAC.



7.5.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 28

Características sensoriales del helado testigo
por un período de 37 días.

CARACTERÍSTICAS	TIEMPO (DÍAS)			
	0	7	20	37
SENSORIALES				
Sabor	C	C	C	C
Color	C	C	C	C
Olor	C	C	C	C
Consistencia	B	B	B	B
Arenosidad	SCR	CR	CR	CR
Untuosidad	B	B	B	B

T A B L A 29

Características sensoriales del helado con bajo
contenido en lactosa por un período de 37 días.

CARACTERÍSTICAS	TIEMPO (DÍAS)			
	0	7	20	37
SENSORIALES				
Sabor	C	C	C	C
Color	C	C	C	C
Olor	C	C	C	C
Consistencia	B	B	B	B
Arenosidad	SCR	SCR	SCR	SCR
Untuosidad	B	B	B	B
C Característico	CR	Cristales		
B Bueno	SCR	Sin cristales		

7.5.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 30

Determinaciones fisicoquímicas de la leche achocolatada testigo.

CARACTERISTICAS	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	6
FISICOQUIMICAS						
% Ac. láctico	0.164	0.164	0.169	0.175	0.181	0.230
pH	6.700	6.700	6.560	6.600	6.540	6.100
Alcohol:	-	-	-	-	-	+
Lactofermentación	L	L	L	G	G	G
Azul de metileno	+ 8	+ 8	+ 8	6-8	6-8	2-6
L	Líquida	-	-	Negativo		
G	Relatinosa	-	-	Positivo		

T A B L A 31

Determinaciones sensoriales de la leche achocolatada testigo.

CARACTERISTICAS	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	6
SENSORIALES						
Olor	C	C	C	C	C	NC
Color	C	C	C	C	C	NC
Sabor	C	C	C	C	C	NC
Apariencia	C	C	C	C	C	NC
C	Característico					
NC	No característico					

T A B L A 32

Determinaciones fisicoquímicas de la leche achocolatada con bajo contenido en lactosa.

CARACTERISTICAS	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	8
FISICOQUIMICAS						
% Ac. láctico	0.164	0.164	0.167	0.172	0.179	0.226
pH	6.700	6.700	6.680	6.630	6.570	6.150
Alcohol	-	-	-	-	-	+
Lactofermentación	L	L	L	G	G	G
Azul de metileno	+ 8	+ 8	+ 8	6-8	5-8	2-6
L	Líquida	-	Negativo			
G	Gelatinosa	+	Positivo			

T A B L A 33

Características sensoriales de la leche achocolatada con bajo contenido en lactosa.

CARACTERISTICAS	TIEMPO (DIAS)					
	0	1	2	3	4	8
SENSORIALES						
Olor	C	C	C	C	C	NC
Color	C	C	C	C	C	NC
Sabor	C	C	C	C	C	NC
Apariencia	C	C	C	C	C	NC
C	Característico					
NC	No característico					

FIGURA 16

RELACION TIEMPO - % ACIDO LACTICO

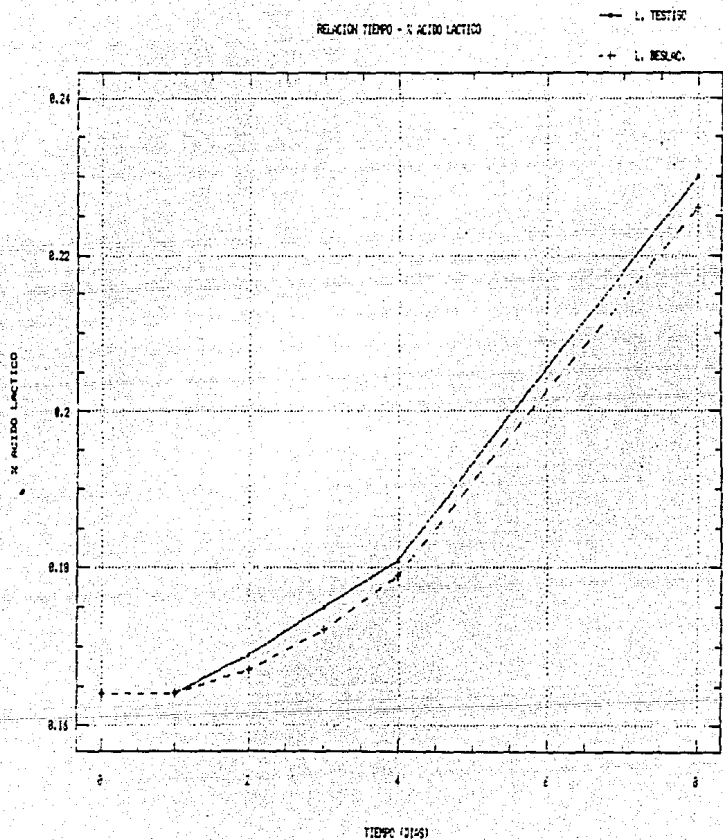
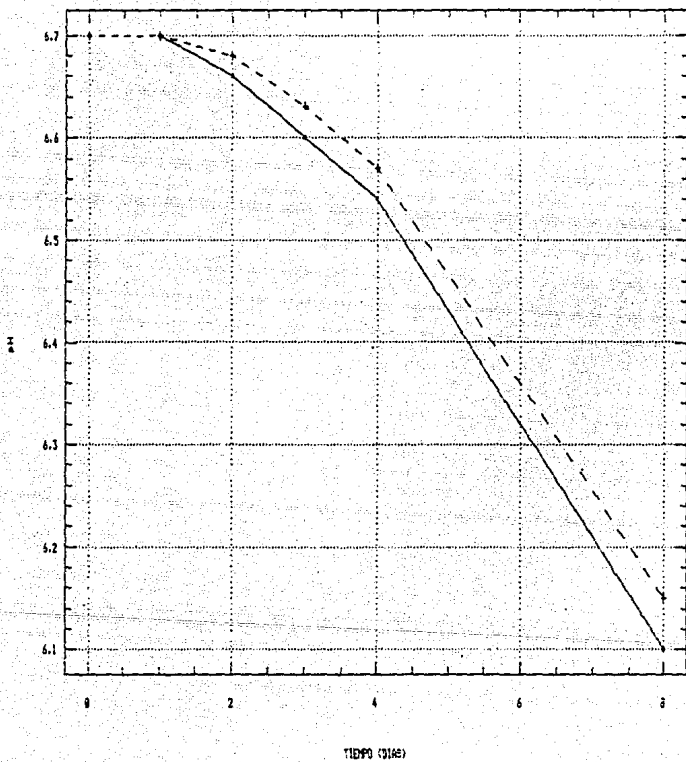


FIGURA 17

RELACION TIEMPO pH

—+ L. TESTIGO

-+ L. DESLAC.



7.6 EVALUACION SENSORIAL DE LOS PRODUCTOS DESLACTOSADOS.

7.6.1 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 34

Resultados obtenidos para cada característica de la leche deslactosada, con una confiabilidad del 99 %.

CARACTERISTICA	t	\bar{x}	s	S \bar{x}	μ

SENSORIAL					
Sabor	2.575	1.8219	0.625	0.0395	1.7202 - 1.9236
Color	2.575	1.4657	0.676	0.0427	1.3557 - 1.8756
Olor	2.575	1.5705	0.593	0.0375	1.4739 - 1.6671
Apariencia	2.575	1.8150	0.682	0.0431	1.7040 - 1.9260

7.6.2 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 35

Resultados obtenidos para cada característica del yogurt con bajo contenido en lactosa, con una confiabilidad del 99 %.

CARACTERISTICA	t	\bar{x}	s	S \bar{x}	μ

SENSORIAL					
Sabor	2.575	1.8295	0.674	0.0426	1.7198 - 1.9391
Color	2.575	1.8910	0.613	0.0388	1.7911 - 1.9905
Olor	2.575	1.7650	0.707	0.0447	1.6499 - 1.8901
Consistencia	2.575	1.8757	0.693	0.0438	1.7629 - 1.9905

7.6.3 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 36

Resultados obtenidos para cada característica del helado con bajo contenido en lactosa con una confiabilidad del 99 %.

CARACTERISTICAS	t	\bar{x}	s	S \bar{x}	μ
Sabor	2.575	1.48	0.5006	0.0316	1.398 - 1.561
Color	2.575	1.36	0.4957	0.0313	1.279 - 1.440
Olor	2.575	1.56	0.5038	0.0318	1.477 - 1.642
Cuerpo	2.575	1.32	0.4784	0.0302	1.242 - 1.397
Textura	2.575	1.36	0.4957	0.0313	1.279 - 1.440

7.6.4 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA.

T A B L A 37

Resultados obtenidos para cada característica de la leche achocolatada con bajo contenido de lactosa con una confiabilidad del 99 %.

CARACTERISTICA	t	\bar{x}	s	S \bar{x}	μ
SENSORIAL					
Sabor	2.575	1.9142	0.731	0.0462	1.7953 - 2.0331
Color	2.575	1.5321	0.649	0.0410	1.4265 - 1.6377
Olor	2.575	1.7927	0.685	0.0433	1.6812 - 1.9042
Apariencia	2.575	1.8145	0.694	0.0438	1.7017 - 1.9273

DISCUSION DE RESULTADOS

8. DISCUSION DE RESULTADOS

8.1 CARACTERIZACION DE LOS MATERIALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE LOS PRODUCTOS DESLACTOSADOS.

La caracterización de los materiales se llevó a cabo con el fin de asegurarse de que estos cumplieran con las especificaciones reportadas en la Norma Oficial.

La leche y crema ALPURA utilizadas estuvieron dentro del límite aceptable en cuanto a su contenido de grasa, lactosa, sólidos no grasos y sólidos totales, así como también en el porcentaje de ácido láctico, pH y peso específico.

Los resultados indicaron que se tenían materiales de buena calidad, los cuales al utilizarse producirían productos lácteos deslactosados de igual o mejor calidad, es decir, que cumplirían también con las especificaciones correspondientes.

8.2 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LA LACTASA

Para determinar el porcentaje de lactosa hidrolizada se emplearon métodos que se fundamentan en el poder reductor de la lactosa, tales como el Método del Ácido Pícnico (130), Método del DNS / el Método de Somogyi (38), los cuales no proporcionaron datos confiables en la determinación de la cantidad de lactosa hidrolizada presente en la leche durante las diferentes condiciones de hidrólisis.

En los tres métodos anteriores se obtuvo una absorbancia constante en todos los grados de hidrólisis, los cuales van del 0 al 100 %.

Por lo cual se procedió a probar cada azúcar (glucosa, galactosa

y lactosa) a diferentes concentraciones por separado con cada método.

Se obtuvieron resultados congruentes, es decir, la absorbancia de la muestra fue directamente proporcional a la concentración de la misma.

Posteriormente se probó de la misma manera una solución equimolecular de glucosa y galactosa, en donde la absorbancia de la solución también fue directamente proporcional a la concentración de ésta.

Comparando los resultados se observó que las absorbancias de la solución de lactosa disminuyen al disminuir su concentración y las de la solución equimolecular de glucosa y galactosa, que son los productos de hidrólisis, aumentan al incrementar su concentración.

Al sumar las absorbancias de la solución de lactosa y la de la solución equimolecular de glucosa y galactosa, todos los porcentajes de hidrólisis, se obtuvieron valores semejantes, es por esto que los resultados de las absorbancias se mantienen constantes.

Se concluye que los métodos que se basan en el poder reductor de la lactosa no son adecuados para determinar la conversión de este disacárido en sus monosacáridos.

Al no poder cuantificar la lactosa residual cuando están presentes la glucosa y la galactosa se buscó un método específico para cuantificar cualquiera de los azúcares de la mezcla.

Para la determinación cuantitativa de un solo azúcar existen varios métodos disponibles. La mayoría de estos métodos no pueden

se aplicados satisfactoriamente cuando en la solución hay dos o más azúcares.

Existen diversas metodologías para cuantificar los productos de hidrólisis de la lactosa. Algunas de ellas presentan ciertos inconvenientes como complejidad del análisis y tiempo excesivo. Otras utilizan equipos y enzimas de alto costo, tal como la determinación de azúcares por cromatografía gaseosa de Sweeney y la determinación enzimática de glucosa - galactosa - lactosa de Boehringer.

Bennam y Despaui (140) desarrollaron un método colorimétrico cuantitativo para la determinación de glucosa utilizando molibdato de amonio y fosfato monobásico de potasio.

El principio de este método se basa en la medida de la intensidad del color azul resultante de la reducción del compuesto fosfomolibdato de amonio causada por el azúcar reductor durante un período de calentamiento. Potter (140) adaptó este método para cuantificar la hidrólisis de lactosa en leche y sus derivados, utilizando una técnica de precipitación de proteínas lácteas.

Sabioni (140) modificó la técnica de Potter utilizando un método más rápido de precipitación de proteínas. Este método se basa en la utilización del ácido acético como agente desnaturante.

La técnica desarrollada por Sabioni fue elegida para determinar el porcentaje de lactosa hidrolizada por ser específica para un solo azúcar, la glucosa.

Los estudios realizados en el laboratorio, a fin de caracterizar la enzima, mostraron que teniendo condiciones óptimas de reacción como son: temperatura, pH, velocidad de agitación y una

concentración de enzima adecuada, se pueden obtener porcentajes de hidrólisis elevados lo cual es muy conveniente para la elaboración de leches con bajo contenido en lactosa; ya que en los casos más drásticos de intolerancia a la lactosa se requiere de un porcentaje mínimo de hidrólisis del 95 %.

En el laboratorio se logró una hidrólisis del 96.3 % de lactosa en la leche ALPURA al emplear la lactasa de origen fungal con las siguientes condiciones de reacción: temperatura de 40°C, pH 6.7, concentración de enzima de 22 mg por g de lactosa, y con velocidad de agitación de 150 rpm. por un tiempo de 4 horas.

De esta manera se obtuvo una leche con un contenido de lactosa de 0.182 %.

3.3 LECHE CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

Para obtener una leche hidrolizada de buena calidad es importante tener una materia prima con características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales óptimas. La leche empleada como materia prima cumplió con las especificaciones que se indican en la Norma Oficial.

Al efectuar una hidrólisis del 96 % de la lactosa presente en la leche no se detectan cambios significativos en cuanto a su composición y a sus características fisicoquímicas a excepción de la disminución del contenido de lactosa. El porcentaje de grasa, el pH y la acidez permanecen constantes. Sin embargo, se observa un ligero incremento no significativo en el contenido de sólidos totales, de sólidos no grasos, este aumento es a causa de la adición de enzima.

De acuerdo con estos resultados se puede afirmar que el proceso

empleado en la leche a nivel laboratorio no afecta sus características. Por consiguiente, la leche deslactosada cumple con las especificaciones del producto sin hidrolizar siendo así apta para su consumo.

Los resultados obtenidos del seguimiento del producto con bajo contenido en lactosa y en el producto testigo indican que tienen un comportamiento semejante. Esto se pueda explicar por la similitud existente en estos productos en cuanto a sus componentes y a sus características fisicoquímicas.

En ambos casos, el deterioro ocurre a los 8 días de haber sido almacenados a 6°C, sin embargo, este dato no muestra la vida de anaquel real de los productos ya que se desconoce el tiempo que transcurrió desde la ordeña de la leche hasta el momento en que se realizó la hidrólisis.

Los resultados de la evaluación sensorial indican que la leche hidrolizada tiene buena aceptación por los estudiantes de la Facultad de Química, ya que la media de población se encuentra en un rango de gusta a gusta mucho en todas sus características calificadas. Es importante hacer notar que el 66 % de las personas entrevistadas detectaron un sabor dulce en la leche hidrolizada. Este sabor les resultó agradable, ya que esta característica fue evaluada con una puntuación cuya media de población se encuentra en un rango de 1.7202 a 1.9236.

3.4 YOGURT CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

Para la elaboración de yogurt se empleó leche con un 70 % de lactosa hidrolizada, los sólidos totales se ajustaron a 18 % para obtener un producto con una consistencia cremosa.

Una vez elaborada la mezcla se sometió a un tratamiento térmico de 5 minutos a 90°C con el fin de eliminar toda la contaminación por microorganismos y porque el calentamiento modifica las propiedades de la leche ya que retrasa la exudación del suero.

En el transcurso de la fermentación se observó un incremento en la acidez y un decremento en el pH. Los resultados de esta etapa indican que el tiempo de fermentación se redujo al utilizar como materia prima leche con bajo contenido en lactosa. Esto es, al usar leche sin hidrolizar la fermentación duró 240 minutos, mientras que, para obtener la acidez y pH adecuados en el yogurt con bajo contenido en lactosa sólo se requirieron 180 minutos. Esto indica una reducción del tiempo del 25 %.

El yogurt con bajo contenido en lactosa es similar en cuanto a composición al yogurt elaborado con leche sin hidrolizar. El contenido de grasa es el mismo, el porcentaje de proteína, los sólidos totales y los sólidos no grasos son ligeramente mayores en el yogurt deslactosado, la diferencia en el contenido de humedad es mínima. El pH del yogurt deslactosado es un poco menor al del yogurt testigo.

Evidentemente donde sí se encuentra diferencia en cuanto a composición, es en el contenido de lactosa. Esta diferencia hace accesible el yogurt deslactosado a personas intolerantes a este disacárido. No obstante, que en la fermentación láctica cierta proporción de lactosa, es degradada por los fermentos lácticos, el producto final tiene un porcentaje considerable de este azúcar, el yogurt testigo contenía 3.81 % de lactosa, lo que lo hace inconveniente para personas con intolerancia a la lactosa.

Por este motivo es adecuado utilizar leche con bajo contenido en lactosa en la manufactura de yogurt, ya que si disminuye notablemente el contenido del disacárido en el producto final.

Otra ventaja tecnológica es el aumento de la vida de anaquel del producto. El yogurt testigo presentó separación de suero y alteración en sus características sensoriales a los 16 días de haber sido almacenadas a 6°C. En cambio el yogurt deslactosado presentó alteraciones en sus características organolépticas así como separación de suero a los 22 días.

El sabor de la fruta del yogurt deslactosado durante su vida de anaquel fué siempre más intenso que el sabor del yogurt testigo, lo cual muestra que se acentúa el sabor de las frutas en el yogurt elaborado con leche con bajo contenido en lactosa.

También se detectó que el yogurt deslactosado era significativamente más dulce que el yogurt testigo. Esto hace inferir que la fórmula requiere una disminución en el contenido de azúcar, esto haría más barata la fórmula y se reduciría el contenido calórico del producto. De esta forma estaría destinado a otro tipo de mercado, aparte del de la población intolerante.

Por medio de la evaluación sensorial se observó que este producto es agradable lo que indica que el yogurt deslactosado puede ser del agrado del consumidor.

3.5 HELADO CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

Los resultados de las características fisicoquímicas del helado deslactosado y del helado testigo muestran que no hay variaciones en su composición. El único componente que varía en su contenido es la lactosa, esto es, el helado deslactosado tiene un 0.39 % de

lactosa residual, que representa el 87.1 % de hidrólisis, en tanto que el helado testigo contiene 3.02 % de este disacárido. De acuerdo a las condiciones de reacción trabajadas se esperaba alcanzar el 90.3 % de hidrólisis; esto no sucedió probablemente a que la crema fue adicionada a la leche y su presencia modificó la actividad de la enzima.

De acuerdo a lo establecido en el Diario Oficial de la Federación y a los resultados obtenidos, se puede clasificar a los productos obtenidos como helados de leche, ya que los dos presentan un contenido de grasa de 6.8 %, y el rango establecido para esta clase de helados es de 4 a 7 %. El porcentaje de sólidos totales es superior al 11 % de lo que marca dicha especificación como mínimo.

El volumen de aire incorporado para el helado testigo fue de 1.52 y para el helado deslactosado de 1.6, estos volúmenes también están dentro del límite establecido por el Diario Oficial. El helado testigo tuvo un sobrerendimiento o cantidad de aire incorporado de 52 %, mientras que el helado deslactosado tuvo uno del 60 %. Debe decirse que el usar leche deslactosada no influye en el sobrerendimiento del producto. La diferencia existente en la cantidad de aire incorporado en los dos helados es básicamente por el manejo de la heladera. Esto es, no se pueden reproducir exactamente las condiciones de congelación en cuanto a temperatura y a velocidad de agitación.

La diferencia que hay en el contenido de lactosa en el helado deslactosado y en el testigo produce los siguientes cambios: el helado deslactosado puede ser consumido por personas

intolerantes a este disacárido, además no se detecta la presencia de arenosidad aún después de 37 días de haber sido almacenado.

Si se observan los resultados del helado testigo se apreciará que al inicio de su vida de anaquel no presentó cristales de lactosa, pero después de 7 días y hasta los 37 días que duró su seguimiento se percibieron tales cristales. Es importante hacer notar que no eran cristales de hielo, ya que estos desaparecen por fusión al estar en contacto con la boca, y los cristales detectados en el helado testigo persistían. Esto es debido a que la lactosa no es tan soluble como sus productos de hidrólisis, y cuando la temperatura del helado disminuye lo suficiente se forman pequeños cristales.

Durante el seguimiento de la vida de anaquel de los productos, se notó que el helado con bajo contenido en lactosa tenía un sabor dulce más acentuado y más notorio que el helado testigo. Esto es debido al mayor poder edulcorante de los productos de hidrólisis, glucosa y galactosa, que aunados al contenido de sacarosa adicionada se vio reflejado en un incremento en el dulzor del producto.

La evaluación sensorial realizada muestra que el producto fue muy bien aceptado por los jóvenes de la Facultad de Química. El rango de la media de población, que incluye todas las características calificadas, es de 1.242 a 1.642.

8.6 LECHE ACHOCOLATADA CON BAJO CONTENIDO EN LACTOSA

El porcentaje de hidrólisis obtenido en este producto fue del 96.3 %, se usó una leche con un contenido de lactosa de 4.97 % y

se obtuvo un producto con un 0.180 % de lactosa residual. El porcentaje de grasa, de acidez y el pH permanecen invariables tanto en la leche achocolatada deslactosada como en la leche empleada como materia prima.

Las características fisicoquímicas de la leche achocolatada deslactosada y de la testigo, determinadas durante el seguimiento de su vida de anaquel, son similares. Las dos sufrieron alteraciones a los 8 días de haber sido almacenadas a 6° C. En este producto también se detectó una mayor dulzura en el producto deslactosado comparado con la leche achocolatada testigo.

En cuanto a la aceptación del producto se puede decir que este fue del agrado de las personas encuestadas, ya que las calificaciones de sabor, color, olor y apariencia se encontraron en un rango de 1.4265 a 2.0331.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. La lactasa fungal 39.000 de los laboratorios Miles, utilizada para hidrolizar la leche ALPURA, presenta una actividad óptima a 40°C, pH 6.7 y a una velocidad de agitación de 150 rpm.

2. La leche con bajo contenido en lactosa puede ser consumida directamente tanto por individuos tolerantes como por intolerantes a la lactosa, o bien, puede ser empleada para elaborar diversos productos lácteos que también serán accesibles a la población intolerante.

3. Al elaborar yogurt con leche hidrolizada al 70 % se logró reducir el tiempo de fermentación un 25 %. Se observó un incremento en el sabor de la fruta así como también se vio incrementada un 37.5 % la vida de anaquel del producto.

4. Utilizando leche con lactosa hidrolizada al 87.1 % en la manufactura de helado se evitó el defecto de textura arenosa, ocasionado por la presencia de cristales de lactosa.

5. La leche achocolatada deslactosada es una alternativa para presentar un producto lácteo con todas las características nutricionales de la leche con bajo contenido en lactosa.

6. Los productos elaborados con leche con bajo contenido en lactosa -yogurt, helado, leche achocolatada- fueron aceptados por la población entrevistada de la Facultad de Química.

7. Otro campo de aplicación del uso de la beta - galactosidasa es la hidrólisis del suero láctico que no ha sido ampliamente desarrollada en México, pero que tiene gran importancia debido a la enorme cantidad de suero que se desperdicia y a los múltiples usos que se le puede dar al hidrolizario.

8. Este estudio se deja como base para las personas que deseen contribuir con más investigaciones sobre el uso de las enzimas beta - galactosidasas en el campo de los alimentos, los cuales servirán para el beneficio de la población mexicana.

BIBLIOGRAFIA

- 1 .- Abraham, Lavin, Oberholzer and Russell. Arch. Dis. Child., 42, 592, 1967.
- 2 .- Alais Charles, Ciencia de la Leche, Ed. DECSA, México, 1988.
- 3 .- AOAC, Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist, 11a. Ed., 1970.
- 4 .- Arbuckle W.S., Ice - Cream, The AVI Publishing Company Inc., 2a. Ed., Estados Unidos, 1972.
- 5 .- Arbracht H.H., Wasserman R.H.: J. of Nutrition, 106, 1976.
- 6 .- Arvanitakis, Chen, Folscroft and Klotz, Lactose deficiency: a comparative study of diagnostic methods, Am. J. Clin. Nutr., 30, 1977.
- 7 .- Análisis de la ganadería productora de leche en México, Asociación Nacional de Ganaderos Lecheros A.C., México, Noviembre, 1988.
- 8 .- Badui Dergal Salvador, Química de los Alimentos, Ed. Alhambra Mexicana, México, 1981.
- 9 .- Baer R.J. and Lowenstein M., J. Dairy Sci., 62, 1041, 1979.
- 10 .- Bannar R., New frontiers for lactose reduced milk, Food Eng., 52, 7, 1980.
- 11 .- Bayless and Christopher; Am. J. Clin. Nutr., 22: 181, 1969.
- 12 .- Bayless T. M. and Paige D. M., Consequences of lactose malabsorption: breath hydrogen excretion after milk ingestion (Abst). Gastroenterol, 76, 1097, 1979.
- 13 .- Bayless and Rosenswerg; J. A. M. A., 197: 968, 1966.
- 14 .- Beaufrand M. J., Poullelin B., Munsch B., et al., La lait, 566: 501 - 508, 1977.

- 15.- Belitz Hans - Dieter, Grosh Werner., Química de los alimentos. Ed. Acribia S. A., Zaragoza España, 1a. edición, 1988.
- 16.- Bolin T, McKern A, Davies A., The effect of diet on lactase activity in the rat, Gastroenterology, 60: 432, 1971.
- 17.- Bond J. H and Levitt M. D., Quantitative measurement of lactose absorption. Gastroenterol., 70, 1058, 1976.
- 18.- Bowie, Brinkman and Hansen; Lancet, 2, 550, 1963.
- 19.- Brule G., et. al., Journal of Dairy Science, 61: 1225 - 1232, 1978.
- 20.- Buchanan R. E., Gibbons N. E., Bergey's Manual of Determinative Bacterology, 8a. edición, Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1974.
- 21.- Cámara de productos alimenticios elaborados con leche. Estadísticas de leche y sus derivados en México, 1985.
- 22.- Carasik W., Carroll J. D., Development of immobilized enzymes for production of high - fructose corn syrup, Food Technol. 37, 10, 85 - 91, 1983.
- 23.- Ciavel Toscano F., Oropeza Mondragón R., Importancia de las enzimas inmovilizadas en la industria alimenticia. Inmovilización de lactasa y utilización en la degradación de lactosa en leche y suero lácteo, Tesis, Facultad de Química, UNAM, 1973.
- 24.- Coughlin R. W., Charles M., Aplicación de lactosa and immobilized lactase. Immobilized enzymes for food processing, Ed. Pitcher, W. H. CRC. Press, 1980.
- 25.- Cozzetto; Pediatrics, 32, 228, 1963.

- 26 .- Crane R. K., The physiology of the intestinal absorption of sugars, Ed. A. Jeanes and J. Hodge, ACS Symposium Series, No. 15, American Chemical Society, Washington D.C., 1975.
- 27 .- Cuatrecasas, Lockwood and Caldwell; Lancet, 1: 14, 1965.
- 28 .- Charles Helen, Tecnología de alimentos, Ed. Limusa, 1967.
- 29 .- Davidson S., Passmore R., Brock J. F. y Truzwell A. S., Human nutrition and dietetics, 7a. edición, Churchill Livingstone, Edimburgo, 1979.
- 30 .- Davies F. L., Gasser M. J., Bacteriophage of lactic acid bacteria. En Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Ed. por Davies F. L. y Law B. A. Elsevier Appl. Sci. Pub. Barking, 1984.
- 31 .- Davis, J. G., The microbiology of yogurt. En lactic Acid Bacteria in Beverage and Food, Ed. por Carr J. G., Cutting C. V., Whiting G. C., Academic Press, Londres, 1975.
- 32 .- De Angelis M. A., Leusier J. M., Rand A. G., Development of a lactose dose form by microencapsulation IFT, 79, Program Abstr., 39 - 101, 1979.
- 33 .- Definición comercial de los helados más corrientes en Norteamérica, Dulcelandie, Industrias alimenticias, Num. 359, año XXIX, junio 1970.
- 34 .- Diario Oficial de la Federación. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo CDMII, Núm. 11, Lunes 18 enero de 1986.
- 35 .- Dinelli D., Fibre - entrapped enzymes, Process Biochem, 7, 9, 1972.

- 36 .- Dinelli D. S., Marconi W. and Morizi F., Fiber entrapped enzymes in immobilized enzymes, antigens, antibodies and peptides, West all H. H., Ed. Marcel Dekker, New York, chap. 5, 1975.
- 37 .- Durand, Disorders due to intestinal defective carbohydrates digestion and absorption, Rome, II, Pensieroscientifico, 1964.
- 38 .- Egan H. A., Kirk R., Análisis químico de alimentos de Pearson, Ed. Continental S. A., 3a. impresión, México, 1988.
- 39 .- Engel W. G., Food Proc., July, 32, 1973.
- 40 .- Espinoza M. T., Rosado J. L., Galvez M. A., Factores que afectan la hidrólisis de lactosa. Estudios in vivo e in vitro, Tec. Aliment., México, Vol. 21, No. 4, 1986.
- 41 .- Fomon J. S., Nutrición Infantil, Ed. Interamericana, 2da. Edición, México, 1976.
- 42 .- Formisano M., Percvoco G., Percvoco S., Dairy Science Abstracts, 34, 324, 1972.
- 43 .- Formisano M., Percvoco G., Percvoco S., Dairy Science Abstracts, 35, 137, 1973.
- 44 .- García G. M., Yogurt, Aspectos microbiológicos y de elaboración, Tec. Aliment., México, Vol. 21, No. 6, 5 - 14.
- 45 .- García G. M., López Munguía C. A., Enzimas inmovilizadas y su aplicación en la industria alimentaria, Ciencia y Desarrollo, Sep. - Oct., 58 año X, 39 - 48, 1984.
- 46 .- Gearhart H. L., Bose D. P., Smith C. A., Morrison R. D., Welsh J. D. and Smalley T. K., Determination of lactose

- malabsorption by breath analysis with gas chromatography, Anal. Chem, 48, 393, 1976.
- 47 .- Gilet, Kuhn, Gelman and Mizrshy; Am. J. Dig. Dis., 13: 395, 1970.
- 48 .- Gómez Farias J., Importancia de los productos de leche y de los lactiños en la dieta, Tec. Aliment., México, Ed. extraordinaria, 1973.
- 49 .- Googhart M. D., Shils M. E., Modern nutrition in health and disease, Ed. Lea and Febiger, 5ta. edición, EUA, 1980.
- 50 .- Gyuricsek D. M., Thompson M. P., Cultured Dairy Products Journal, 12 - 13, 1976.
- 51 .- Haemmerli, et. al., Am. J. Med, 36, 7, 1965.
- 52 .- Holsinger V. M., Applications of lactose modified milk and whey, Food Technology, march, 1978, Vol. 32, No. 3, 35 - 40.
- 53 .- Holsinger V. H., Posati L. P. and De Vilbiss E. D., Whey beverages a review, J. Dairy Sci., 57, 8, 849, 1974.
- 54 .- Hosinger V. H. and Roberts N. E., Dairy and Ice Cream Field, 153, 3, 30, 1976.
- 55 .- Huang and Bayless; N. Engl. J. Med., 276, 1283, 1967.
- 56 .- Ingenpass F., Food, flavouring, packaging and processing Journal, 2, 1, 16, 1980.
- 57 .- Johnson, J., Kretchmer N, Simoons F., Lactose malabsorption: its biology and history, Adv. Ped., 21: 197, 1974.
- 58 .- Judkins H., Kaener H., La leche, su producción y procesos industriales, Ed. CECSA, México, 1975.

- 59 .- Mastino F. P., Rodriguez G. H., Introducción a la lactología. Ed. Limusa, México, 1986.
- 60 .- King N., The physical structure of dried milk, Dairy Sci. Abstr., 273, 1963.
- 61 .- Kluesch H. J., The content and importance in sour milk products of L (+) and D (-) lactates, North European Dairy Journal, 49, 6, 170 - 175, 1983.
- 62 .- Kocian J., Skala I.: CS Gastroenterology, 28, 37 - 42, 1974.
- 63 .- Kosikowski F. V., Cheese and Fermented Milk Foods, 2a. edición, F. V. Kosikowski and Associates, Brooktondal, 1977.
- 64 .- Kosikowski F. V., Wierzbicki L. E., Lactose hydrolysis of raw and pasteurized milks by *Saccharomyces lactis* lactase. Journal of Dairy Science, Vol. 36, No. 4.
- 65 .- Kramer A. T., Quality Control for the Food Industry, The AVI Publishing Company Inc., 1974.
- 66 .- Kresilnikoff P. A., Gudmand - Hoyer E., and Moltke H. H., Diagnostic value of disaccharide tolerance test in children. Acta Paediat. Scand, 64: 683, 1975.
- 67 .- Kretchmer N., Ransome - Kuti G., Horwitz R., Dungy C., Alakija W., Intestinal Absorption of lactose in nigerian ethnic groups, Lancet, 2: 392, 1971.
- 68 .- Kroger M., Quality of yogurt, J. Dairy Sci., 59, 2, 344 - 350, 1976.
- 69 .- Laplena, et. al., Arch. Fr. Padiatrs. 19, 895, 1962.
- 70 .- Lawrence R. L. y Thomas T. D., In microbial technology:

current state, future prospects, 29 th. Ed. by Bull. A. T.,
Eliwood D. C. Rattledge C., Cambridge University Press,
London U. K., 1979.

- 71 .- Lehninger Albert L., Principios de bioquímica, Ed. Omega,
Barcelona, 1984.
- 72 .- Lindquist and Meluwisse, Acta Paediatr, 51, 674, 1962.
- 73 .- Lisker R., Deficiencias de lactasa en poblaciones
mexicanas. Actas V Congr. Latinoam. Genética, 61 - 66,
1982.
- 74 .- Lisker R., Genética y hábitos alimentarios. Deficiencia de
lactasa intestinal, Actas IV Congr. Latinoam. Genética,
2: 341 - 347, 1980.
- 75 .- Lisker R., Aguilar L., Double blind study of milk lactose
intolerance, Gastroenterology, 74: 1283 - 1285, 1978.
- 76 .- Lisker R., Aguilar L., Lárez I., Cravioto J., Double blind
study of milk lactose intolerance in a group of rural and
urban children, Am. J. Clin. Nutr., 33: 1049 - 1053, 1980.
- 77 .- Lisker R., Aguilar L., Zavala C., Intestinal lactase
deficiency and milk drinking capacity in the adult, Am. J.
Clin. Nutr. 31: 1499 - 1503, 1978.
- 78 .- Lisker R., González B., Daltabuit M., Recessive inheritance
of the adult type of intestinal lactase deficiency, Am. J.
Hum. Genet., 27: 662 - 664, 1975.
- 79 .- Lisker R., López - Habib G., Daltabuit M., Rostanberg I.,
Arroyo P. Lactase deficiency in a rural area of Mexico.,
Am. J. Clin. Nutr., 27: 756 - 759, 1974.
- 80 .- Lisker R., López H. G. and Mora M. A., Correlation in the

- diagnosis of intestinal lactase deficiency between the radiological method and the lactose tolerance test, Rev. Invest. Clin., 17: 1 - 5, 1975.
- 81 .- Lisker R., Meza - Caliz A., Intestinal lactase deficiency and milk drinking habits., Rev. Invest. Clin. (Méx.): 8: 109 - 112, 1976.
- 82 .- Lisker R., Moreno O., Estudio doble ciego sobre la tolerancia de la leche en un grupo de niños rurales, Rev. Invest. Clin., México, 31: 363 - 368, 1980.
- 83 .- López Munguía C. A., Las enzimas inmovilizadas y los alimentos, Tec. Aliment., México, Vol. 21, No. 2, 1986.
- 84 .- Luyken R., Luyken - Koning F. W., Ransvan R., Royal Tropical Institute, Report 413, 5573 - 5582, 1972.
- 85 .- Marth E. H., Fermentations. En Fundamentals of Dairy Chemistry, 2a. edición, Ed. por Webb B. H., Johnson A. H., y Alford J. A., AVI Pub. Co. Inc. Westport.
- 86 .- Marshall V. M. E. y Law B. A., The physiology and growth of dairy lactic acid bacteria. En Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milks, Ed. por Davies F. L. y Law B. A. Elsevier Appl. Sci. Pub. Barking, 1984.
- 87 .- Maxilact, Gist Brocades nv, Technical data, Sheet - Mil 11 - 02/81 - 07. Sp. 03, Industrial Products Division.
- 88 .- Maxilact, Gist Brocades nv, Technical data, Mil 11 - 03/81 - 07. Sp. 03, Industrial Products Division.
- 89 .- Maxilact, Chemical and Kinetic Characteristics of Maxilact, Gist Brocades nv, Technical data, Mil - 02 - 02/81. 07. Sp. 03, Industrial Products Division.

- 90 .- Maxilact, Ejemplos característicos de la hidrólisis de la lactosa en la leche, Gist Brocades nv, Technical data, Mil 09/81. 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 91 .- Maxilact, Lactasa de una levadura láctica, Gist Brocades nv, Technical data, Mil/81 - 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 92 .- Maxilact, Manual para la producción de jarabe de suero hidrolizado en un 80 % con un 70 % total de sólidos, Gist Brocades nv, Technical data, Mil - 06/81. 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 93 .- Maxilact, Manual para la producción de leche hidrolizada, Gist Brocades nv, Technical data, Mil - 05/81. 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 94 .- Maxilact, Manual para la producción de yogurt con leche hidrolizada. Producción realizada a 30 - 31 C, Gist Brocades nv, Technical data, Mil 7.1/81 - 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 95 .- Maxilact, Manual para la producción de yogurt con leche hidrolizada. Producción realizada a 42 - 45 C, Gist Brocades nv, Technical data, Mil 7.2/81 - 07. Sp. 03. Industrial Products Division.
- 96 .- Mc Craken R., Lactase deficiency: an example of dietary evaluation, 1971.
- 97 .- Mc Laren D., Burman D., Textbook of pediatric nutrition, Ed. Churchill Livingstone, Great Britain, 1976.
- 98 .- Minguella M. J., Control de calidad en heladería, Dulcelandia, Núm. 440, año XXXVI, Marzo 1977.

- 99 .- Minguella M. J., Ingredientes empleados en la heladeria, Dulcelandia, Núm. 466, año XXXVIII, Mayo 1979.
- 100.- Minguella M. J., Tratado completo sobre heladeria, Dulcelandia.
- 101.- Mitchel J. D., Brand J., Halbisch J., The Lancet, 1971, 550 - 551.
- 102.- Mitchel K. J., Bayless T. M., Pediatrics, 56: 718 - 721, 1975.
- 103.- Morisi F., Pastore M. and Viglia A., Reduction of lactose content of milk by entrapped B - galactosidase, J. Dairy Sci., 57, 3, 269, 1974.
- 104.- Morris C. E., Sweet protein syrups, Food Eng., 52, 7, 34 - 36, 1980.
- 105.- Mulder H., Walestra P., In the Milk Fat Globule, Emulsion Science Applied to Milk Products and Comparable Foods, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, 1974.
- 106.- Murthy M., Haworth J., Intestinal lactase deficiency among East Indians, Am. J. Gastroenterol., 53: 246, 1970.
- 107.- New - frontiers for lactose reduced milk, Food Engineering, Jul., 1980.
- 108.- Newcomer A. D., Mc Gill D. B., Thomas P. J. and Hofmann A. F., Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency, N. Engl. J. Med., 293, 1232, 1975.
- 109.- Newcomer A. D., Thomas P. J., Mc Gill D. B. and Hofmann A. F., Comparison of methods to detect lactase deficiency, Gastroenterology, 66: 754, 1974.

- 110.- Nieto V. Z., Cañizo S. M. E., Prácticas de laboratorio, Tecnología de Alimentos I (Lácteos), Departamento de Tecnología de Alimentos División Ingeniería, Facultad de Química, UNAM.
- 111.- Nijpels H. H., Lactases and their applications, Enzymes and Food Processing, Ed. Birch G. G., Blakebroun N., Parker K. J., Appl. Sci. Pub. 1981.
- 112.- Nijpels H. H., Lactases, Developments in Food Carbohydrate, Ed. by Lee C. K. and Lindley M. G., Applied Science Pub. London, Chapter 2, 23 - 48, 1982.
- 113.- Norma Oficial Mexicana, NOM - F - 54 - 1982. Cocoa.
- 114.- Norma Oficial Mexicana, NOM - F - 444 - 1983. Alimentos - Yoghurt o Leche búlgara.
- 115.- Norma Oficial Mexicana, NOM - F - 446 - 1984, Alimentos - Leche Pasteurizada Preferente.
- 116.- Norma Oficial Mexicana, NOM - F - 447 - 1984, Alimentos - Leche Pasteurizada Preferente Extra.
- 117.- Ohya K, Ohashi H, Kobayashi T. and Shimizu S., Appl. and Env. Micro., 33, 137, 1977.
- 118.- O'Leary V. S., Woychick J. H., A comparison of some chemical properties of yogurts made from control and lactase - treated milks, J. Food Sci., 41: 791, 1976.
- 119.- O'Leary V. S., Woychick J. H., Appl. Environ Microbiol., 32, 1, 89, 1976.
- 120.- Olson A. C. and Stanley W. C., The use of tannic acid and phenol formaldehyde resins with glutaraldehyde to immobilize enzymes in food and microbial processes. Olson

- A. C. and Cooney C. L., Ed. Plenum Press, New York, 51, 1974.
- 121.- Organización Panamericana de la Salud, Normas para el examen de productos lácteos, Oficina Panamericana, Organización Mundial de la Salud, 150, New Hampshire, Av. N. W., Washington D. C., 1963.
- 122.- Paige D. M., Bayless T. M., Ferry G. C. and Graham G. C., Lactose malabsorption and milk rejection in negro children, Johns Hopkins, Med J., 1929; 163, 1971.
- 123.- Paige D. M., Bayless T. M., Huang S. and Wexler R., Physiological effects of food carbohydrates, ACS Symposium Series No. 15., American Chemical Society, Washington D. C., 191, 1975.
- 124.- Paige D. M., Mellits E. D., Chiu F. Y., Davis L., Bayless T. M. and Cordano A., Blood glucose rise after lactose tolerance testing in infants, Am. J. Clin. Nutr., 31, 222, 1978.
- 125.- Pastore M., Morisi F. and Leali L., Milchwissenschaft, 31, 6, 362, 1976.
- 126.- Pastore M., Morisi F., Zaccardelli D., Reduction of lactose content of milk using entrapped B - galactosidasa pilot plant experiments, insolubilized enzymes., Ed. Salmoha, M. Saronio, Garattini S. Raven Press, 1974.
- 127.- Patwarden and White, Toxicants occurring naturally in foods, NAS/NRC, 1973, 477.
- 128.- Payne - Bose L., Walsh J. D., Gearhart H. L., et. al., The Amer. J. of Clinical Nutrition, 30: 695, 1977.

- 129.- Perez Cornea C., Estabilizantes en la industria de alimentos, Tecnología de Alimentos, año 6, Núm. 4. - Julio - Agosto, 1971.
- 130.- Ferry N. A. and Doan F. J., A picric acid method for the simultaneous determination of lactose and sucrose in dairy products. J. of Dairy Science, 33, 176, 1950.
- 131.- Fitcher W. H., The milk industry, April, 4, 1976.
- 132.- Potter N. N., La ciencia de los alimentos, Ed. Edutex, México, 1978.
- 133.- Rab S., Baseer A., High intestinal lactase concentration in adult pakistanis, Brit. Med. J., 1: 436, 1976.
- 134.- Ransome - Kuti O., Kratchmer O., Johnson J., Gribble J., A genetic study of lactose digestion in nigerian families, Gastroenterology, 68: 431, 1975.
- 135.- Reiter B., J. of Dairy Research, 45, 101, 1978.
- 136.- Robinson R. K. and Khan P., Plant foods for man, 1978.2, 113.
- 137.- Rosado J. L., Solomons N. W., Pinada O., Hidrólisis in vivo de lactosa por B - galactosidasa de origen microbiano. Cinética de actividad., Tec. Aliment., México, Vol. 20, No. 3.
- 138.- Rosell J. M., Dos Santos I., Metodos analíticos de laboratorio y microbiología de las industrias lácteas, Ed. Labor, México.
- 139.- Rosenquist C. J., Lactose - barium study as a screening test for lactase deficiency. West J. Med., 122. 319. 1975.
- 140.- Sabioni J. G., Um método modificado para determinação

- rápida de hidrólise de lactose, Ciénc. Technol. Aliment. 4, 2, 192 - 196, 1984.
- 141.- Sahi T., Isokoski M., Jussila J., Launiala K., Pyorola K.. Recessive inheritance of adult type lactose malabsorption, Lancet, 2: 823, 1973.
- 142.- Santos Moreno A., Leche y sus derivados, Ed. Trillas, México, 1987.
- 143.- Schmidt R. M., Morris H. A., Gelation properties of milk proteins, soy protein systems, Food Technology, 38: 5, 35 - 96, 1984.
- 144.- Schneider, Kinter and Stirling, N. Engl. J. Med., 274, 305, 1966.
- 145.- Shahani K. M., Friend B. A., Properties of and prospects for cultured dairy foods. En food microbiology advances and prospects. Ed. Roberts T. A. and Skinner F. A. Academic Press Inc. Ltd. Londres, 1983.
- 146.- Sharpe M. E., Lactic acid bacteria in the dairy industry, J. Soc. Dairy Technol., 32, 1, 9 - 18, 1979.
- 147.- Sharpe M. E., Garnie E. I. and Tilbury R. H., Applied microbiology, 23, 389, 1972.
- 148.- Simoons F., Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations, II, A cultura historical hypothesis, Am. J. Dig. Dis., 15: 695, 1970.
- 149.- Simoons F., Johnson J., Kretchmer N., Perspective on milk drinking and malabsorption of lactose, Pediatrics, 59: 98, 1977.

150. - Singh T., Khanna A. and Chander H., *Journal of Food Protection*, 43, 393, 1980.
151. - Sunshine and Kretschmer, *Pediatrics*, 34, 36, 1964.
152. - Takamine, Brand fungal, Lactase 30 000, Enzyme Products of Miles Laboratories, Inc.
153. - Tamime A. Y., *Dairy Industries International*, 42, 3, 7, 1977.
154. - Tamime A. Y., In some aspects of the production of yoghurt and condensed yoghurt, University of Reading Berkshire UK, 1977.
155. - Tamime A. Y., Robinson R. K., *Yoghurt. Science and Technology*, Ed. Pergamon Press, Great Britain, 1985.
156. - Telas P. F., Young Ch. K. and Stull J. W., A method for rapid determination of lactose, *J. Dairy Sci.*, 61, 506 - 508, 1978.
157. - Torun B., Noel W. S., Viten F. E., Lactose malabsorption and lactose intolerance: implications for general milk consumption. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, Vol. XXIX, Diciembre, No. 4, 1979.
158. - Tramer J., *Yoghurt cultures*, *J. Sci. Dairy Technol.*, 26, 1, 16 - 21, 1973.
159. - Vaughan D. W., Filer L. J., *Nutrition*, 71, 10 - 14, 1960.
160. - Vedamuthu E. R., *Fermented milks*. En *fermented foods: Economic microbiology*, Vol. 1, Ed. Rose A. H., Academic Press Inc, Londres, 1982.
161. - Veissayre R., *Lactología técnica*, 3ª. edición, Ed. Acribia. España, 1980.

- 162.- Vilardell, La confiteria española, Un estudio completo sobre el helado, Dulcelandia.
- 163.- Vrisnaud Y., Rev. Institut. Pasteur, Lyon, 4, 147 - 165. 1971.
- 164.- Wallenfels K. and Malkotra O. P. Adv. Carbohydr. Chem., 16, 339, 1961.
- 165.- Warner James N., Principios de la tecnología de lácteos, Ed. AGT, Editor S. A., Mexico, 1979.
- 166.- Welsh, et. al., Arch. Intern. Med., 117, 495, 1966.
- 167.- Weser and Sleisenger, Gastroenterology, 48, 571, 1965.
- 168.- Woychik J. R., Holsinger V. H., Use of lactase in the manufacture of dairy products, En: Enzymes in food and beverage processing, Ed. Ory P. L. and Argelc St., A. J. ACS Symp. Ser. 47, 1977.

APENDICE

1. DETERMINACION DE LACTOSA

1.1 METODO DEL ACIDO PICRICO

Este método se fundamenta en la transformación del glúcido contenido en la leche en un compuesto colorido soluble. Se compara midiendo fotométricamente el color que la muestra adquiere, con el color de una solución patrón del glúcido de concentración conocida, tratada en idénticas condiciones.

El ácido picrico es reducido por los glúcidos reductores en medio alcalino a ácido picámico de color rojo, siendo la intensidad del color desarrollado proporcional a la concentración del glúcido en solución. Por lo tanto, midiendo fotométricamente la densidad óptica de la solución problema a 520 nm y comparándola con soluciones patrones del mismo glúcido, tratadas en idénticas condiciones, es posible determinar su concentración.

En el caso particular de la leche, una cantidad conocida de muestra se diluye con una solución saturada de ácido picrico, se filtra y un volumen determinado del filtrado se trata con solución de carbonato de sodio. Se mide la densidad óptica del color desarrollado en la solución y se calcula la concentración de lactosa en la muestra en base a ese valor y al que presenta una solución patrón de lactosa (130).

1.2 METODO DEL D.N.S.

Para la determinación de los carbohidratos solubles totales, una solución acuosa de la muestra generalmente es tratada con ácido sulfúrico concentrado para hidrolizar completamente a los polisacáridos y deshidratar a las moléculas del o los monosacáridos obtenidos, el producto de esta deshidratación se

hace reaccionar con compuestos fenólicos para formar compuestos coloridos cuya intensidad es proporcional a la cantidad de carbohidratos presentes.

Una característica útil en la cuantificación de carbohidratos es la reactividad del grupo carbonilo presente en los monosacáridos libres o de los sacáridos que no involucran a este grupo en su enlace. Este grupo es altamente reductor, de tal manera que al cuantificar grupos reductores en una solución acuosa de la muestra se pueden estimar los carbohidratos reductores de la misma.

1.3 METODO DE SOMOGYI

Los azúcares que tienen en su estructura grupos aldehídicos o cetónicos libres reaccionan como agentes reductores débiles y se denominan azúcares reductores. Estos incluyen todos los monosacáridos y a los disacáridos maltosa, lactosa y celobiosa. Estas propiedades se emplean para determinar los azúcares por medición de la reducción del $Cu\ II$ a $Cu\ I$ (38).

1.4 METODO DE TELES

El método de Teles es simple, rápido (aproximadamente 30 min) y preciso para la determinación de lactosa inicial en leche fluida y en suero. Es un método colorimétrico, el desarrollo de color se basa en la acción combinada del fenol, hidróxido de sodio, ácido picrico y bisulfito de sodio con lactosa (156).

1.5 METODO PARA LA DETERMINACION RAPIDA DE LACTOSA HIDROLIZADA

Es un método colorimétrico cuantitativo para la determinación específica de glucosa usando molibdato de amonio y fosfato

monobásico de potasio. El método se basa en la medición de la intensidad del color azul producido por la reducción del fosfomolibdato de amonio ocasionada por la glucosa durante una incubación (140).

2. PRUEBAS DE PLATAFORMA

2.1 CARACTERISTICAS SENSORIALES

La leche normalmente presenta color blanco, al cual se atribuye a la reflexión de la luz por las partículas en suspensión coloidal y por los glóbulos de grasa. Aquellas leches que han sido parcial o totalmente descremadas, o que han sido adulteradas con agua, presentan un color blanco con tinte azulado.

El sabor natural de la leche es difícil de definir, normalmente no es ácido ni amarga, sino ligeramente dulce, en ocasiones se presenta con cierto sabor salado por la alta concentración de cloruros que tiene la leche de vacas que se encuentran al final del período de lactancia o que sufran infecciones en la ubre; otras veces el sabor que se presenta es ácido, cuando el porcentaje de ácido láctico es superior a 0.2 - 0.3 %. Pero en general, el sabor de la leche fresca normal es agradable y puede describirse simplemente como característico.

El olor de la leche es característico y se debe a la presencia de compuestos orgánicos volátiles de bajo peso molecular, entre ellos, ácidos, aldehídos, cetonas y trazas de otros componentes. La leche puede adquirir con cierta facilidad sabores y olores extraños derivados de ciertos alimentos consumidos por las vacas antes de la ordeña, de sustancias de olor penetrante o superficies metálicas con las cuales ha estado en contacto.

bien de cambios químicos o microbiológicos que el producto pueda experimentar durante su manipulación.

La observación de las características sensoriales de la leche constituye una prueba de plataforma importante para determinar la calidad de este alimento.

2.2 TEMPERATURA

La termometría tiene suma importancia, pues nos informa con certeza sobre la temperatura exacta de la leche, este dato es de gran valor para obtener un indicio de las operaciones a que fue sometida y para prever su riqueza microbiana (121).

2.3 PRUEBA LACTOMETRICA

La densidad es una propiedad física que varía con la cantidad de grasa y sólidos totales, por lo que se puede tomar como índice de posibles alteraciones de la leche ya sea por adición de agua o separación de grasa. Se utiliza también para calcular el contenido de sólidos totales.

La leche tiene un peso específico de 1.032 que varía considerablemente con el contenido de grasa y de sólidos totales (3, 110, 138).

3. PRUEBAS DE LABORATORIO

3.1 ACIDEZ TITULABLE

Se basa en la saturación de las funciones ácidas de la leche mediante un agente alcalino, en presencia de un reactivo indicador cromático cuyo color descubre el final de la reacción de neutralización. La acidez de la leche fresca normalmente

se encuentra entre un rango de 0.12 - 0.18 % de ácido láctico y se debe al contenido de fosfatos, citratos, caseína, lactoalbúmina y anhídrido carbónico disuelto. Generalmente la leche no contiene ácido láctico, sin embargo, por acción bacteriana la lactosa sufre un proceso de fermentación formando ácido láctico, el cual aumenta la acidez titulable. De ahí que esta determinación constituye una valiosa información sobre la calidad del producto (3, 59, 110, 138).

3.2 pH

La leche fresca y de características normales presenta un pH entre 6.5 - 6.7. Valores superiores generalmente se observan en leches mastíticas, mientras que valores inferiores indican acidificación posiblemente por fermentación de la lactosa.

El método más adecuado para determinar el pH es empleando un electrodo de vidrio en combinación con un electrodo de referencia de calomel. El potencial se mide directamente en términos de pH en la escala de un potenciómetro calibrado con una solución buffer de pH conocido (59, 110).

3.3 PRUEBA DEL ALCOHOL

Aunque la leche fresca no precipita; generalmente, por la adición de volúmenes iguales de alcohol al 68 %, la leche ácida con más de 0.21 % de ácido láctico coágula, este hecho forma la base de la prueba.

La prueba del alcohol es bastante útil para determinar la estabilidad al calor, ya que un resultado positivo también puede indicar poca estabilidad de la leche al calor.

El alcohol actúa desnaturalizando y deshidratando la proteína de la leche y da positiva con calostro y lechas mastíticas aunque estas no tengan una acidez alta.

Esta prueba es muy rápida, pero es un método poco preciso, ya que la coagulación es favorecida cuando hay un alto contenido de calcio y magnesio, y retrasada por la presencia de citratos y fosfatos, lo que puede inducir a errores.

3.4 REDUCCION DEL AZUL DE METILENO

El potencial de óxido - reducción (E_h) de la leche fresca aerada es de + 0.35 a + 0.40 voltios, el cual se debe principalmente al contenido de oxígeno disuelto en el producto. Si por cualquier causa ese oxígeno es separado, el E_h disminuye. Esto ocurre cuando los microorganismos crecen en la leche y consumen el oxígeno. Si el número de microorganismos es elevado, el consumo de oxígeno será grande y por consiguiente el E_h caerá rápidamente; si por el contrario, el número de microorganismos es pequeño, el E_h disminuirá más lentamente.

El principio anterior encuentra aplicación en la determinación de la calidad sanitaria de la leche, utilizando como indicador de óxido - reducción al azul de metileno. Este se presenta de color azul en su forma oxidada y es incoloro en su forma reducida (leucobase).

El tiempo que tarda en pasar el azul de metileno de su forma oxidada a la reducida bajo condiciones controladas es inversamente proporcional a la calidad sanitaria de la leche y aunque no es posible establecer con exactitud el número de microorganismos, es posible clasificar el producto dentro de

ciertos grados (59, 168).

3.5 LACTOFERMENTACION

Esta prueba es muy importante, ya que proporciona datos muy eficientes sobre la calidad de la leche y tipos de microorganismos presentes en este alimento.

Cuando la muestra de la leche se incuba a 37°C sufre un proceso de descomposición ocasionado por la flora presente. Cuando esa flora esta integrada exclusivamente por bacterias lácticas homofermentadoras se considera normal. Por el contrario la presencia de organismos heterofermentadores con capacidad gasógena o de bacterias indeseables determina la aparición de características anormales. Estas características sensoriales en el producto, después de la incubación, permiten clasificarlo dentro de ciertas categorías (110, 138).

3.6 GRASA. METODO DE GERBER

El método de Gerber está fundamentado en el empleo del ácido sulfúrico y la fuerza centrífuga para separar la grasa de la leche o de sus derivados (110, 138).

3.7 PROTEINA. METODO DE KJELDAHL

Las proteínas y demás materias orgánicas son oxidadas por el ácido sulfúrico; el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Al hacer reaccionar esta sal con una base fuerte se desprende amoniaco que se destila y se recibe en un volumen conocido de ácido valorado. Por titulación del ácido no neutralizado se calcula la cantidad de amoniaco desprendido y así, la cantidad de nitrógeno de la muestra. El

porcentaje de nitrógeno multiplicado por 6.25 nos da el porcentaje de proteína cruda (3).

2.8 SÓLIDOS TOTALES Y SÓLIDOS NO GRASOS. METODO LACTOMETRICO

El porcentaje promedio de sólidos totales en la leche es de 11.5 - 12.5 % representados por componentes lípidos o liposolubles (vitaminas) en emulsión, proteínas en suspensión coloidal y glúcidos, vitaminas hidrosolubles, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución. Los componentes sólidos no grasos corresponden a un promedio de 8.5 - 9.0 %.

El peso específico de la leche aumenta proporcionalmente con el porcentaje de sólidos no grasos y disminuye a medida que aumenta el contenido de grasa. En base a las relaciones mencionadas se han establecido varias fórmulas que permiten calcular el porcentaje de sólidos totales y de sólidos no grasos en la leche a partir de la lectura lactométrica corregida y el porcentaje de grasa (3, 110).