



5A
27
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

IMPORTANCIA DE LA GRASA EN PRODUCTOS
LACTEOS, SUBSTITUTOS, ADULTERANTES
Y TECNICAS DE IDENTIFICACION

TRABAJO MONOGRAFICO DE
ACTUALIZACION MANCOMUNADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
MARIA OLGA GONZALEZ OLVERA
YOLANDA CORDERO ROSAS

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE Prof. Jaime Medina Oropeza
VOCAL Profa. Josefina Viades Trejo
SECRETARIO Profa. Amanda Galvez Mariscal
1er. SUPLENTE Profa. Lucia Cornejo Barrera
2do. SUPLENTE Profa. Ma. Victoria Coutiño Covarrubias

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Bibliotecas de la Facultad de Química, Biblioteca Central,
Hemeroteca Nacional, Biblioteca México, Biblioteca Nacional,
Biblioteca del Instituto de Ciencias biomédicas.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Jaime Medina Oropeza



SUSTENTANTES



María Olga González Olvera



Yolanda Cordero Rosas

AGRADECIMIENTOS:

A nuestro asesor M. en C. Jaime Medina Oropeza quien con su ayuda y constante estímulo hizo posible la realización de este trabajo.

Con respeto a todos los profesores de la Facultad de Química, por transmitirnos sus conocimientos para llegar a tener una formación profesional.

A mis padres:

Sebastián y Facunda, porque me enseñaron el camino
a seguir con sus continuas enseñanzas.

A mi hijo:

David Uriel, porque me motiva para superarme y ser
cada día mejor.

A mi esposo:

Faustino, por ser el compañero que comparte mis
triunfos y fracasos.

A mis hermanos:

Enrique, Armando, Daniel, Oscar y Sebastián,
por su cariño y apoyo.

Yolanda Cordero Rosas

A mi madre

Gracias a su paciencia y apoyo, ha logrado sacar a todos y cada uno de sus hijos adelante, y ellos, así como yo, estoy segura le estarán eternamente agradecidos.

A mi esposo

Por su alegría, entusiasmo, su amor y su paciencia es para mí el compañero ideal.

A ti Samantha

Esta pequeña que con sólo verla sonreír y ver sus ojos llenos de alegría y anhelo de vivir, me impulsan cada momento a ser mejor y a luchar por su felicidad que es la mía.

A cada uno de mis hermanos por su apoyo incondicional en los momentos indicados.

O L G A

INDICE

RESUMEN

INTRODUCCION	1
1 GENERALIDADES	2
1.1 Leche de vaca.	3
1.2 Grasa.	5
1.3 Composición y clasificación.	6
1.4 Propiedades fisicoquímicas de la grasa.	10
2 GRASAS	17
2.1 Factores que afectan las características de las grasas.	18
2.2 Rancidez.	27
2.2.1 Lipólisis.	27
2.2.2 Oxidación.	31
2.3 Antioxidantes.	35
2.4 Importancia nutricional.	41
2.5 Colesterol.	52
2.6 Adulterantes.	55
3 PRODUCTOS LACTEOS	60
3.1 Crema. (Nata).	61
3.1.1 Crema de consumo.	62
3.1.2 Crema congelada.	64
3.1.3 Crema ácida.	64
3.1.4 Crema de granja.	65
3.1.5 Crema batida.	65
3.2 Mantequilla.	65
3.2.1 Batido.	66

3.2.2	Amesado de la mantquilla.	66
3.2.3	Moldeado y envoltura.	68
3.2.4	Almacenamiento.	68
3.2.5	Propiedades reológicas.	69
3.3	Margarina.	70
3.3.1	Fabricación de la margarina.	74
3.4	Leches industrializadas.	77
3.4.1	Leche hervida.	78
3.4.2	Leche pasteurizada.	79
3.4.3	Leche esterilizada.	80
3.4.4	Leches homogenizadas.	81
3.4.5	Leche estandarizada.	82
3.4.6	Leche desnatada.	82
3.4.7	Leche de imitación.	82
3.4.8	Leches concentradas.	82
3.4.8.1	Leche evaporada.	83
3.4.8.2	Leche en polvo.	83
3.4.8.3	Leche condensada.	88
3.4.9	Leches medicamentosas.	89
3.5	Helado.	89
3.6	Queso.	94
3.7	Leches fermentadas.	102
3.7.1	Yoghurt.	103
3.7.2	Kefir.	107
3.7.3	Leche acidófila	107
3.7.4	Mazada.	108
3.7.5	Leches fermentadas concentradas.	109

3.8	Sustitutos de la leche.	113
3.8.1	Mantequilla con aditivos y sustitucion parcial de la grasa lactea por grasa vegetal.	114
4	METODOS DE IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION	116
4.1	Métodos volumétricos.	118
4.1.1	Método Gerber.	118
4.1.2	Método Babcock.	119
4.1.3	Método de complejometria indirecta.	119
4.1.4	Pruebas de detergentes.	121
4.2	Métodos ponderales.	123
4.2.1	Método de Rose Gottlieb.	124
4.2.2	Método de Mojonnier.	124
4.3	Métodos instrumentales.	126
4.3.1	Turbidimetria.	126
4.3.2	Absorción de radiaciones.	127
4.3.3	Ondas ultrasonoras.	128
4.3.4	Espectrofotometria.	128
4.3.5	Cromatografia de gases.	130
4.3.6	HPLC.	135
5	DISCUSION.	140
6	CONCLUSIONES.	148
	BIBLIOGRAFIA.	152

INTRODUCCION

La leche es un alimento fundamental e insustituible en la dieta humana (durante la niñez, principalmente en el periodo de lactancia), ya que posee un alto valor alimenticio al proporcionar la mayoría de los nutrientes.

La grasa es uno de los principales componentes de la leche, debido al valor que representa en la alimentación del humano, y además que es uno de los ingredientes principales en la elaboración de la mantequilla, crema y otros productos lácteos, así como el que desempeña un papel primordial en la estabilidad de los mismos, se decidió realizar la presente investigación bibliográfica.

Como objetivos principales destacan:

- La importancia nutricional, las propiedades, las características y los diversos factores que afectan a los productos lácteos.
- Recopilar las determinaciones analíticas por diferentes métodos que indiquen el tipo y proporción de los glicéridos presentes en la grasa.
- Influencia de la concentración y tipos de ácidos grasos presentes, la época de ordeña, la alimentación de las vacas y otros factores que afecten las características de la grasa de leche.
- Se revisaran también las adulteraciones más comunes en los productos lácteos, el tipo de reacciones de deterioro en la grasa y los factores que las afectan así como las características de los antioxidante utilizados para la conservación de dichos productos.

1 GENERALIDADES

1.1 Leche de vaca.

La leche considerada bajo un concepto fisiológico, es la secreción de las glándulas mamarias; desde el punto de vista legal; se define como el producto del ordeño higiénico, efectuado completa y profundamente, en una o más hembras de ganado lechero en perfecto estado sanitario; o sea, bien alimentado y en buen estado de salud. Esta leche no debe contener calostro, el cual es un líquido amarillo espeso y amargo, cuya composición difiere tanto en el aspecto cuantitativo como en el cualitativo de la leche propiamente dicha y que aparece durante un periodo de 6 a 7 días después del parto, químicamente contiene más caseína, albúmina, globulina, cloruros y otros minerales, así como menos lactosa que la leche normal.

En general el nombre de leche se refiere al producto procedente de la vaca; la leche que derivada de otras especies va siempre seguida con la designación de la hembra productora: "leche de oveja", "leche de cabra", "leche de burra", etc.

La composición de la leche determina su calidad nutritiva, su valor como materia prima para fabricar productos alimenticios y sus propiedades. En la tabla 1.1 se muestra una clasificación de los principales componentes de la leche y sus porcentajes aproximados. Los componentes principales son los que se encuentran en mayor concentración; sin embargo, no son necesariamente los más importantes en todos los aspectos por ejemplo, las vitaminas que se encuentran en concentraciones pequeñas, son nutritivamente importantes; las enzimas son

Tabla 1.1. Composición aproximada de la leche

COMPONENTE	CONTENIDO MEDIO EN PORCENTAJE (p/p)	INTERVALOS DE PORCENTAJE (p/p)
Agua	87.3	85.5-88.7
Extracto seco magro	8.6	7.9-10.0
Grasa de materia seca	31.0	31-38
Lactosa	4.6	3.8-5.3
Grasa	3.9	2.4-5.5
Proteína	3.25	2.3-4.4
Caseína	2.6	1.7-3.5
Sustancias minerales	0.65	0.53-0.80
Ácidos orgánicos	0.18	0.13-0.22
Varios (vitam., enzimas etc)	0.14	

catalizadores importantes de las reacciones deteriorantes y algunos componentes menores contribuyen en gran medida al sabor de la leche. (1).

1.2 Grasa.

Los lípidos son ésteres de los ácidos grasos. Los términos lípido y grasa se emplean como sinónimos, aunque se admite generalmente que la grasa se compone en gran parte de, una mezcla de triglicéridos, mientras que el lípido no tiene porque presentar tal composición.

La grasa láctea proporciona energía (aproximadamente 37 kJ/g) y nutrientes (ácidos grasos esenciales, vitaminas liposolubles, etc.) al consumidor. Una gran parte de la misma se separa fácilmente de la leche, siendo esta una de las razones por las que se ha estudiado tanto. Los productos ricos en grasa láctea, como la crema y mantequilla, tienen a menudo una textura y aroma definidos y apreciados. Por otra parte la grasa láctea está muy predispuesta a la alteración que da lugar a olores y sabores muy desagradables que van de acuerdo al contenido graso del producto. (2).

En la leche de vaca, el contenido de grasa varía notablemente debido a una serie de factores muy diversos, citándose entre otros, la raza, la edad y la alimentación. Sin embargo, los valores más comunes se encuentran entre 32-42 g/lit. o sea, 3.2 y 4.2 %, (1).

De los ácidos grasos de cadena corta y media de la grasa, un 75 % se sintetizan en el citosol de la célula secretora (o glándula mamaria) y solo un 25 % de los ácidos grasos que la componen son originados de la dieta. Dos mecanismos intervienen en

la síntesis de los ácidos grasos, así como en su elongación. El primer mecanismo considera ácido acético donde se condensan unidades de dos carbonos hasta alcanzar el tamaño de la cadena de los diferentes ácidos grasos. El segundo mecanismo considera al ácido beta-hidroxibutírico como el elemento a partir del cual comienza la síntesis de ácidos grasos. De los mecanismos propuestos el primero parece ser el más extensamente utilizado en la vaca.

Los ácidos grasos de cadena larga (más de 16 carbonos) proceden de la sangre y se absorben bajo la forma de triglicéridos.

El mecanismo exacto de la elongación, (crecimiento de la cadena) en la glándula mamaria, así como la naturaleza de los pasos intermedios no se ha establecido todavía. Por su parte los ácidos grasos insaturados parecen formarse por la deshidrogenación de los ácidos grasos saturados correspondientes.

La composición de la grasa de la leche varía mucho; sin duda la principal causa de la variación es el pienso (alimentación seca que se da al ganado) y tanto sus componentes lipídicos, como no lipídicos, afectan la composición de la grasa de la leche. En consecuencia variará con la época del año, con la región geográfica, con las prácticas ganaderas, etc.

La grasa de leche es de las más complejas grasas naturales, a pesar de esto, la grasa de la leche pura tiene características lo suficientemente constantes como para poder distinguirse por ensayos químicos y físicos de otras grasas y aceites.

1.3 Composición y clasificación.

Los triglicéridos son los componentes más importantes de los

lipidos de la leche ya que constituyen más del 98 % y por lo tanto son los principales responsables de sus propiedades.

Estos triglicéridos son el resultado de la reacción entre un alcohol (glicerol) y tres ácidos grasos. De estos ácidos grasos se informa que en la grasa de la leche existen aproximadamente 250 diferentes, sin embargo comunmente sólo se manejan y estudian alrededor de unos 20. De éstos, es el ácido oleico no saturado el que existe en mayor cantidad (33 %) y es la combinación de éste con los ácidos linoléico, butírico y el capríco lo que influye en que el punto de fusión de la grasa de la leche sea bajo, (1).

La proporción de los principales ácidos grasos de la leche se indica en la tabla 1.2.

En la grasa pueden distinguirse dos grupos de compuestos:

- 1 Lípidos. Reúne a triglicéridos, monoglicéridos, lecitinas, cefalinas, esfingomelina y cerebrósidos.
- 2 Las grasas no saponificables. Reúne a beta-carotenos, neobetacarotenos, xantófilas, colesterol, deshidrocolesterol, ergosterol y las vitaminas liposolubles A,D,E y K.

El ácido butírico (C4:0) es específico de la grasa láctea de los rumiantes. Los ácidos grasos insaturados presentan una gran variación en la longitud de la cadena, grado de insaturación e isomería. La proporción total de trans-isómeros puede ser de unas 5 moles en % (porcentaje de los ácidos grasos totales).

Hay varios ácidos grasos "extraños" (impares, ramificados, ceto e hidróxi). Esto da lugar a la gran variación entre los 250 diferentes tipos de ácidos grasos.

La Tabla 1.3 muestra la composición de lípidos y la localización de sus diferentes fracciones en el seno de la leche.

Tabla 1.2. Proporción de los principales ácidos grasos de la leche

Ácidos grasos	Porcentaje en la grasa
Butírico	3.5
Caprótico	2.0
Caprílico	1.0
Cáprico	2.0
Laurico	2.5
Mirístico	10.0
Palmítico	25.0
Esteárico	10.5
Araquídico	0.5
Oléico	33.0
Linoléico	4.0

Tábla 1.3. Composición de lípidos de la leche

CONSTITUYENTE	CONCENTRACION %	LOCALIZACION EN LA LECHE
Triacilglicéridos	97-98	Glóbulos de grasa
Diacilglicéridos	0.25-0.48	Glóbulos y membranas
Monoacilglicéridos	0.015-0.036	Glóbulos y membranas
Cetoácidos	0.85-1.28	Glóbulos de grasa
Acidos grasos libres	0.01-0.44	Glóbulos y leche descremada
Fosfolípidos (lecitina, cefalina y esfingomielina)	0.2-1.0	Membrana del glóbulo
Cerebrósidos	0.013-0.066	Glóbulos de grasa
Esteroles (colesterol y lanosterol)	0.25-0.40	Membrana del glóbulo
Escualeno	trazas	Membrana del glóbulo
Carotenoides	0.0007-0.0085	Glóbulos y membranas

La forma en que se disponen los ácidos grasos varía mucho mientras que las cantidades relativas de sus distintas clases no varían tanto. (3).

Las principales variables son:

- 1 Longitud de la cadena (predominan los ácidos grasos con 4 a 18 átomos de carbono que tienen un número par, pero también hay algunos de número impar).
- 2 Número de dobles enlaces. La reactividad de los ácidos grasos aumenta generalmente con el grado de insaturación.
- 3 Posición de los dobles enlaces. A temperaturas altas la posición de los dobles enlaces puede cambiar. Los enlaces no conjugados son los más comunes.
- 4 Isomería geométrica. La posición *cis* es la más corriente en la naturaleza, la cual puede cambiar a *trans* a temperaturas altas.
- 5 Ramificación. La mayoría son ácidos grasos sin ramificar.
- 6 Grupo ceto e hidroxilo. Las alfa y gamma lactonas son sustancias con aroma marcado. En la grasa de la leche existen vestigios de gamma-lactonas que son esenciales para su sabor característico, pero las cantidades mayores que se originan por calentamiento o durante un almacenamiento prolongado de la leche en polvo o de la grasa láctea originan un sabor extraño.
- 7 Eteres 1-glicéricos. Los lípidos neutros o fosfolípidos que contienen al grupo -C-O-CH=CH-R (isómero enol) originan por hidrólisis alcoholes grasos HO-CH=CH-R y también pueden originar aldehídos grasos $\text{O=CH-CH}_2\text{-R}$. (2).

1.4 Propiedades fisicoquímicas de la grasa.

Dada la complejidad de la materia grasa de la leche, resulta muy práctica su descripción mediante índices y constantes (Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Constantes e índices de la materia grasa de la leche

CONSTANTE	INDICE
Calor específico	537,4 julios
Densidad a 15°C/15°C	0,936-0,942
Punto de fusión	28-35°C
Índice de solidificación	25-30°C
Índice de refracción a 40°C	1,45419 (1,45326-1,45512)
Calor latente de fusión	37.023,5 julios
Índice de Reichert-Meissl	27,6 (25,1 -30,5)
Índice de Kirschner	19-24
Índice butírico	10,2 moles % (9,5-11,2)
Índice de Hetner	2,0 (1,4-2,6)
Índice de saponificación	86,5-90 %
Índice de acetilo	220-241
Índice de iodo	1,9-8,6
Índice tiocinógeno	26-45
Índice de tocoferoles	34-38
Temp. crítica de disolución	42°C-53°C
P de f de acetato de colesterol	114°C
Índice de acidez	menos de 0,3

La variabilidad de las principales propiedades físicas de la grasa demuestra que se trata de una mezcla de varios cuerpos, los triglicéridos.

La grasa de la leche se encuentra dispersa en la leche como esferas o glóbulos microscópicos. La leche recién ordeñada es una emulsión de esta grasa en agua. La grasa de la leche es inmisible en el agua o suero de la leche.

La membrana del glóbulo de grasa es una concentración de materiales en la superficie de contacto grasa/suero. Esta concentración es el resultado de dos fuerzas:

1. Tensión superficial, provoca que la pequeña cantidad de grasa en el glóbulo adopte la forma esférica, que es la que presenta menor área de superficie para el volumen de grasa de que se trata.
2. Las diferentes cargas eléctricas de los iones de los materiales en esa superficie de contacto, tanto dentro de la grasa como dentro del suero, hacen que los materiales se acerquen unos a otros. Cada lado de la superficie de contacto contribuye a concentrar los materiales que actúan en cierta forma como una membrana aún cuando no es un verdadero tejido. Este complejo de fuerzas y materiales en la superficie de contacto grasa/suero inhibe la tendencia de cada glóbulo para adherirse a otro. La congelación, agitación y otros factores posibles desestabilizan físicamente la grasa en la leche y los productos lácteos.

Los glóbulos de grasa en la leche varían de tamaño según la especie de animal, la raza, la etapa de lactancia, frecuencia de ordeña y otros factores. No obstante la mayoría de los glóbulos tienen un diámetro que varía normalmente entre 1 a 10 micras.

Un glóbulo graso es una masa de triglicéridos envuelta en una

membrana lipoproteica. Se ha demostrado que los triglicéridos más insaturados y los que tienen un peso molecular más bajo, están situados en el centro del glóbulo, probablemente porque son líquidos y así quedan retenidos por los glicéridos más sólidos que se localizan en la periferia. (4.5).

Se ha establecido que la leche contiene fosfolípidos en cantidad suficiente para formar una capa monomolecular en la superficie de todos los glóbulos grasos. La característica de los fosfolípidos de ser moléculas tanto hidrófilas como lipófilas, les confiere un papel fundamental en la estabilidad de los glóbulos grasos, ya que la parte polar de los fosfolípidos se orienta hacia la fase acuosa y el segmento no polar hacia la fase lipídica. La membrana contiene también globulinas que tienen propiedades aglutinantes importantes en el desnatado espontáneo de la leche. Los glóbulos grasos están cargados negativamente contribuyendo estas cargas a mantener su estabilidad (Figura 1.1). (4).

La membrana de los glóbulos grasos es relativamente frágil.

Por acción de los microorganismos o por efecto de la agitación de la leche puede romperse y los componentes que contiene se dispersan en el suero.

El peso específico de la grasa de la leche oscila entre 0.91 y 0.93 y el de la fracción no grasa de la leche entre 1.0295 y 1.035 por lo tanto el glóbulo de grasa tiende a flotar debido a su menor peso específico.

En el descremado de la leche por centrifugación generalmente se busca que la descremadora contenga la menor cantidad de grasa posible, a lo que se oponen los glóbulos más pequeños. Dado el poco tiempo que necesita el descremado (unos 3s) y que la leche se agita

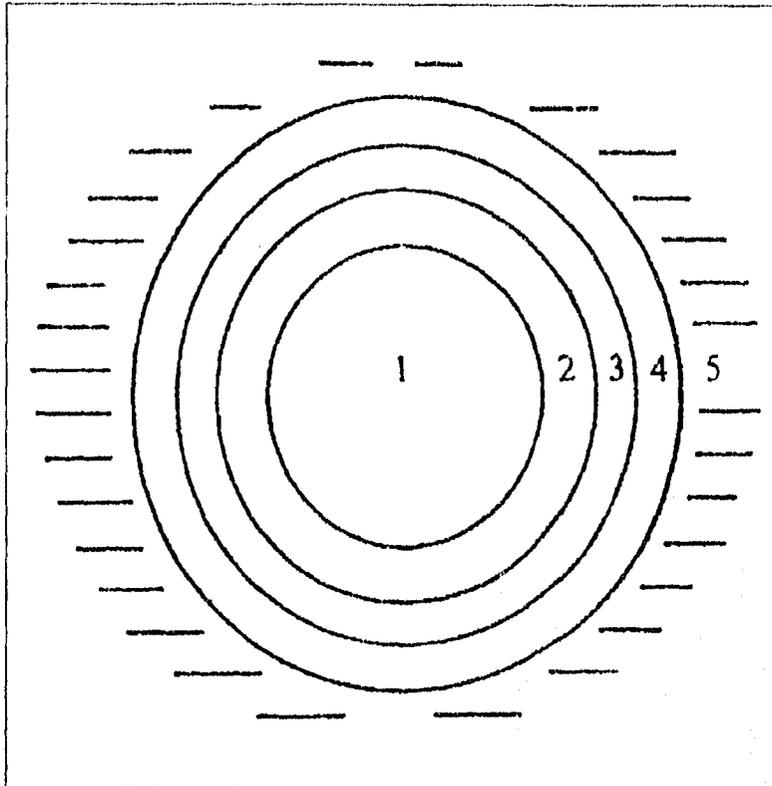


Figura 1.1 Estructura de un glóbulo de grasa

- 1 - Triglicéridos insaturados y de bajo peso molecular
- 2 - Triglicéridos sólidos
- 3 - Fosfolípidos
- 4 - Lipoproteínas, enzimas, aglutininas.
- 5 - Cargas eléctricas.

vigorosamente al entrar en la desnatadora, puede prescindirse de la aglutinación por frío de los glóbulos grasos. Normalmente responden bastante bien a la ley de Stokes ($v_s = -a(\rho_p - \rho_f)d^2/18\eta$ p donde a =aceleración que define el campo tanto de la gravedad como de la centrifugación, d =diámetro, ρ_f =densidad del glóbulo graso.

ρ_p = densidad del plasma de la leche). Cuando mayor es la fracción grasa en los glóbulos pequeños y más amplia la dispersión de las condiciones, mayor será el contenido graso de la leche descremada. El tamaño globular, no solo por la ecuación anterior, sino también por los glóbulos pequeños son los que más se alteran por el movimiento browniano y las corrientes de convección. En los productos homogenizados los glóbulos más pequeños tienen las capas superficiales más gruesas, su densidad puede ser incluso mayor que la del plasma ocasionando su sedimentación.

Los ácidos grasos de la grasa de la leche funden entre -2 y +9 grados centígrados, algunas de las propiedades físicas de la leche resultan difíciles de precisar en forma definida debido a la gran variedad de ácidos grasos.

La grasa de la leche funde en promedio a unos 33 °C.

El hecho de que los ácidos grasos presentes en la grasa de la leche, están en forma sólida a una temperatura dada, depende de qué tanto tiempo se ha mantenido la grasa a esa temperatura o a qué cambios de temperatura se ha visto previamente sometida. El mantener la grasa a una temperatura dada, da tiempo para que los cristales de grasa se formen. Esto puede ser importante para productos como la mantequilla y explica el porqué la crema debe enfriarse para hacer la mantequilla.

El índice de refracción de la grasa de la leche indica la

composición de la grasa y se emplea como una de las pruebas para conocer su pureza. Se permite que los valores en la grasa láctea varien de 1.45326 a 1.45512 de acuerdo con la región geográfica.

El color de la grasa varía de un pálido pero distinguible amarillo claro a blanco. La intensidad del amarillo en la grasa de leche puede variar con el pienso, que en gran parte varía según la estación.

Cada gramo de grasa de la leche contribuye con unas 9 kcal de energía térmica al valor nutritivo de la leche o de los productos lácteos.

La densidad de la leche de una especie dada no es un valor constante por estar determinada por dos factores opuestos y variables que son:

- La concentración de los elementos disueltos en suspensión varían proporcionalmente.
- Proporción de materia grasa, la densidad varía de manera inversa al contenido de materia grasa.

Por último se ha tenido en cuenta que la viscosidad de la leche se debe sobre todo a la materia grasa en estado globular y a las macromoléculas protéicas, mientras que las sustancias en solución sólo intervienen en una pequeña parte, (5).

2 GRASAS

2.1 Factores que afectan a las características de las grasas.

2.1.1 AGITACION.- La agitación ocasiona la agrupación de los glóbulos grasos y la liberación de material de la membrana por lo que disminuye el área superficial de la grasa. En el batido se forman burbujas de aire que hacen contacto con los glóbulos grasos, los cuales pierden parte de sus membranas al formar una interfase aire-agua.

Cuando los glóbulos grasos se dividen por fricción como ocurre con la homogenización, se forman glóbulos más pequeños que tienden a agruparse en racimos antes de que una nueva membrana haya tenido tiempo de formarse en su superficie, esto se realiza con el objeto de que se retrase la separación de la crema, (2).

2.1.2 TEMPERATURAS ALTAS.- El tratamiento térmico se acompaña casi siempre de agitación o de corrientes vigorosas y origina la coalescencia de los glóbulos grasos. Se ha visto que al aplicarse una temperatura de 135°C a la crema, hay un efecto sobre la membrana de los glóbulos grasos que provoca una disminución en la estabilidad de almacenamiento debido al incremento de grasa libre y que ocasiona una separación de fases en la emulsión, la cual es irreversible, (5,6).

El calentamiento del aceite de mantequilla a 130°C mejora su sabor pero a temperaturas mayores resulta en defecto por el sabor a oxidado, (7).

Las alteraciones causadas en los glóbulos grasos por la pasteurización de la leche también originan lipólisis que, a su vez afectan más a la membrana.

2.1.3 TEMPERATURAS BAJAS.- Un enfriamiento hace que los glicéridos de alto punto de fusión se cristalicen ocasionando la ruptura de la membrana. La refrigeración es un tratamiento que determina la migración de una fracción de varios componentes, desde los glóbulos grasos hacia el plasma de la leche. Entre estos componentes se encuentran los fosfolípidos, siendo su migración aproximadamente de una quinta parte, del cobre una tercera parte y más de la mitad de las proteínas, ocasionando un aumento del ácido sulfhídrico (H₂S).

El enfriamiento causa la adsorción de las crioglobulinas en los glóbulos grasos.

2.1.4 CRISTALIZACION.- La cristalización de la grasa láctea tiene una gran importancia práctica ya que de ella dependen en gran parte la estabilidad de los glóbulos grasos y la consistencia de los productos muy ricos en grasa. La cristalización ocurre cuando el enfriamiento de la grasa láctea es rápido y profundo, dando lugar a muchos núcleos y por lo tanto a cristales pequeños, especialmente en los glóbulos cuya grasa puede sobreenfriarse. Una sustancia no cristaliza salvo que se formen núcleos (pequeños cristales embrionarios) de un tamaño que impida justamente su redisolución. La velocidad de cristalización depende de muchos factores, como área de la superficie del cristal (tamaño) y de la velocidad de disipación del calor de cristalización. La grasa láctea exhibe una cristalización mixta grande, tanto mayor, cuanto más rápidamente se enfría a temperaturas más bajas. Esto se debe probablemente al enorme número de triglicéridos distintos que

posee, (2).

2.1.5 RAZA.- Las diferentes razas de vacas dan variaciones amplias en el contenido de grasa. A medida que el porcentaje de grasa aumenta, el porcentaje de sólidos no grasos también aumenta a un ritmo más lento. En promedio la raza que produce leche con mayor contenido de grasa es la Jersey (5.14%), como se puede observar en la tabla 2.1. Sin embargo hay que recordar que estas cifras son promedio; el hato de cualquier raza produce leche de composición diferente de un hato a otro de la misma raza, (8).

2.1.6 PERIODO DE LACTANCIA.- Dura aproximadamente 10 meses. Cuando la vaca pare, la primera leche que se secreta se llama calostro. Los cambios de calostro a leche normal se efectúan entre el segundo y décimo día, la leche se considera apta para el consumo humano después de la sexta ordeña siguiente al parto.

El efecto del progreso de la lactancia sobre el porcentaje de grasa, está íntimamente asociado con la estación del año y con la condición de la vaca al parir. En términos generales la grasa, los sólidos no grasos y el contenido en proteínas de la leche, llegan a un valor máximo en las primeras semanas de lactancia, después decrece a un mínimo para la grasa alrededor de las 10 semanas y por último aumenta el valor de la grasa hasta el final de la lactancia.

La grasa y los sólidos no grasos disminuyen con las lactancias sucesivas, hay una caída de alrededor de 0.1% en ambos componentes en cada segunda, tercera y cuarta lactancia después de las cuales el descenso es menos pronunciado, (8,9).

TABLA 2.1 CONTENIDO MEDIO DE GRASA DE LA LECHE PROCEDENTE DE LAS CINCO RAZAS PRINCIPALES.

RAZA	PORCENTAJE DE GRASA
Ayrshire	3.85
Suiza	4.01
Guernsey	4.98
Holstein	3.45
Jersey	5.14

En estudios recientes se ha investigado como aumentar la producción de grasa en los meses en que normalmente sufre un descenso mayor. Este estudio consiste en alimentar la vaca con la hormona de crecimiento junto con la tirosina, (10).

En vacas Holstein se realizaron investigaciones exponiendolas a 25°C-35°C por 2 semanas durante su etapa de lactancia dando por resultado una disminución del 40% de su producción de leche y aumentando, aunque ligeramente el porcentaje de grasa, especialmente la concentración de ácidos grasos de cadenas largas C18:0 y C18:1, (11).

En estudios realizados mediante cromatografía en capa fina (TLC) se determinó que los triglicéridos son los componentes lipídicos más abundantes de la grasa de la leche, mostrando significativamente niveles inferiores en el inicio de la lactancia (leche llamada calostro) que en el final de la lactancia (leche madura).

Mediante cromatografía gas-líquido se encontró que en el punto medio de la etapa de lactancia la mayoría de los ácidos de cadena corta (C6:0-C14:0) mostraron un máximo mientras que la mayoría de los ácidos de cadena larga mostraron un mínimo. Mediante este mismo método se comprobó que la alimentación proporcionada en mayo a las vacas (alimentación de grano) incrementa el porcentaje de grasa, conduciendo a un aumento en la proporción de ácidos de cadena corta y un decremento en la proporción de ácidos de cadena larga principalmente C18, (12,13).

2.1.7 ESTACION DEL AÑO.- En la tabla 2.2 se muestra el porcentaje de grasa y sólidos no grasos durante un periodo de 11 meses en la leche de 9 vacas que parieron en enero. Se observa que tanto el contenido de grasa como de sólidos no grasos es mayor en otoño e invierno que durante la primavera y el verano. Nadie sabe exactamente el porqué esto sea así. El efecto de la elevada temperatura y la excesiva humedad sobre el organismo de las vacas parece ser la causa principal, aunque también pueden influir otros factores, en especial la alimentación, el estado de lactancia y los cambios estacionales que varían de acuerdo con la localidad.

Las condiciones óptimas para la manufactura de la manteca requieren de un índice de Polenske menor de 1.45 en verano y mayor de 1.50 en invierno. Se recomienda que este índice sea detectado una vez por mes en fábricas de productos lácteos (8,14).

2.1.8 ETAPAS DE LA ORDEÑA.- La primera leche del día producida por una vaca contiene menos grasa que al final de su producción y rezagos, etapas en las que la leche es más rica en grasa (esto se puede observar en la tabla 2.3). El dejar de ordeñar a la vaca antes de que se agote da como resultado una pérdida definida de la grasa, existiendo la tendencia a que se seque prematuramente. En los experimentos en que los periodos de ordeña se mantuvieron iguales, la ordeña de la mañana es ligeramente menor en contenido de grasa que la ordeña de la tarde.

2.1.9 EDAD DE LA VACA.- El primer periodo de lactancia de la vaca es generalmente a los dos años de vida. Se considera que una

**TABLA 2.2 VARIACION DE LA GRASA Y DE LOS SOLIDOS NO GRASOS
PROVOCADA POR LA ESTACION DEL AÑO.**

MES	% DE GRASA	% DE S.N.G.
ENERO	3.95	8.70
FEBRERO	3.93	8.77
MARZO	3.70	8.50
ABRIL	3.68	8.50
MAYO	3.76	8.62
JUNIO	3.61	8.23
JULIO	3.62	8.10
AGOSTO	3.77	8.20
SEPTIEMBRE	3.83	8.53
OCTUBRE	4.02	8.72

TABLA 2.3 PORCENTAJE DEL CONTENIDO DE GRASA EN RELACION CON LA ETAPA DE LA ORDENA.

ETAPAS DE LA ORDENA	% DE GRASA
Primeros flujos	1.6
25 % producción	3.25
75 % de producción	5.0
Retagos	8.3

vaca está en su plenitud, del tercero al sexto periodo de lactancia. El porcentaje de grasa cambia muy poco durante los primeros seis periodos, después de ese tiempo, existe una disminución gradual y si una vaca continúa produciendo leche de los 14 a los 16 años de edad, el contenido de grasa puede ser de 0.5 a 1% más bajo que la leche que produjo estando en su plenitud, (8).

2.1.10 ALIMENTACION.- Aún cuando los cambios súbitos en la alimentación pueden afectar el porcentaje de grasa en la leche, no es posible que los cambios de alimento proporcionen un aumento material o permanente en el contenido de grasa. Ciertas grasas, entre las que se cuentan las que están relativamente saturadas, pueden aumentar el porcentaje de grasa de la leche. Por el contrario, la administración de grasas altamente insaturadas, como los aceites de pescado, pueden determinar una reducción sustancial en el porcentaje de grasa de la leche. Una cantidad del orden de los 250 ml de aceite de pescado al día puede ser suficiente para reducir el porcentaje de grasa de la leche. Puesto que las grasas altamente insaturadas se enrancian con facilidad, la inclusión en las raciones hace aumentar las necesidades en vitamina E, ya que esta vitamina actúa como antioxidante, (15).

La capacidad de la ubre para usar ácido butírico en la síntesis de los ácidos grasos de la leche puede explicar porqué ciertos piensos tales como la cebada no reducen el porcentaje de grasa tanto como lo haría el maíz, (16).

2.2 Rancidez

El término rancidez se usa para describir los diferentes mecanismos a través de los cuales se alteran los lípidos y se ha dividido en dos grupos: lipólisis o rancidez hidrolítica y auto-oxidación o rancidez oxidativa.

2.2.1 Lipólisis

La lipólisis se debe básicamente a la acción de las lipasas que liberan ácidos grasos de los triglicéridos y de los fosfolípidos. La lipasa ataca preferentemente los restos de ácidos grasos en posiciones 1 y 3. Esto implica que se forman diglicéridos 1,2 y 2,3 y que los ácidos grasos liberados muestran una disposición distinta de la grasa de la leche como un todo. La lipólisis forma monoglicéridos predominantemente β mono-acilglicéridos, (2).

La lipólisis de la grasa láctea aumenta la concentración de ácidos grasos libres lo que produce en productos lácteos un sabor rancio o jabonoso. La intensidad de la lipólisis se expresa corrientemente como acidez o como índice de acidez de la grasa en milimoles de ácido graso libre por 100 g. de grasa. El valor normal es de 0.5 mmol/100g en la leche. Cuando la acidez de la grasa es aproximadamente de 1.4 mmol/100g, el sabor a rancio se hace perceptible. Existen métodos convencionales para detectar la actividad lipasa en leche y productos lácteos, pero la mayoría son tediosos y no pueden ser utilizados en rutinas analíticas, además estos métodos miden resultados de los productos de la actividad lipasa, pero no la actividad enzimática por sí misma. Se desarrolló un método colorimétrico basado en las propiedades hidrolíticas de

la lipasa hacia ésteres nitrofenilicos. A las muestras de leche o queso se les adiciona PNB (butirato de p-nitrofenilo) y el regulador apropiado, para después detener la actividad lipasa con un inhibidor y realizar mediciones espectrométricamente en menos de una hora. (17).

La enzima lipolitica de la leche es una lipoproteína, la lipasa (E.C.3.1.1.34); su función normal es liberar ácidos grasos de las lipoproteínas y quilomicrones de la sangre. Los glicéridos que van a ser atacados están asociados a las proteínas y a los lípidos compuestos y la enzima sólo actúa en el sustrato en presencia de un cofactor, el cual está siempre presente en la sangre. La enzima no necesita del cofactor para hidrolizar los glicéridos o incluso otros ésteres carboxilicos; se necesita para poner en contacto la molécula de la enzima con su sustrato cuando éste se presenta como lipoproteína o está cubierto por ella. La lipólisis espontánea se debe a una cantidad relativamente grande de activador o cofactor que se transfiere de la sangre a la leche. De hecho la adición a la leche de suero sanguíneo bovino (o también de suero sanguíneo pasteurizado) aumenta la lipólisis. Se cree que las condiciones que favorecen el paso de los componentes de la sangre a la leche están correlacionadas con el incremento de la lipólisis.

En estudios realizados se ha observado que el enfriamiento provoca un cambio conformacional en la membrana de proteína tal, que la afinidad de la heparina hacia la proteína se incrementa, por lo que la adición de heparina incrementa la lipólisis en leche bovina y se disminuye el tiempo para que actúe la lipasa sobre los

glóbulos de grasa de la leche, (18).

La temperatura óptima de la lipasa es de 37°C, el pH óptimo 8.5 y los cationes divalentes (p. ej., Ca^{2+}) estimulan su acción. Cuando el pH de la leche es ajustado entre 7.0 y 8.5 con NaOH durante el almacenamiento en frío, la lipólisis se incrementa de 5 a 50 veces, deteniéndose al ajustar el pH entre 6.0 y 5.5 con ácido cítrico. Cuando el pH de la leche natural no sufre ajuste, no existe lipólisis espontánea, (2, 19).

La lipasa se encuentra en toda leche normal, pero su proporción varía mucho. La leche en las últimas etapas de la crianza parece tener un contenido mayor de lipasa, ya que la rancidez hidrolítica es más común en ella.

La actividad lipasa lipoproteína fue más alta en muestras de leche tomadas en la tarde que las obtenidas en la mañana. No obstante la liberación de ácidos grasos por unidad lipasa fue similar en la mañana y en la tarde. La pasteurización destruye la actividad de esta enzima (62.5°C durante 30 min.). También se puede inactivar por calentamiento a 75°C durante 20 seg. Algunos microorganismos sintetizan lipasas que son más resistentes al calor y pueden soportar los tratamientos de pasteurización e incluso de esterilización UHT (140°C durante 5 segundos). Las bacterias psicrófilas del género *Pseudomonas*, son microorganismos muy lipolíticos. En los quesos madurados la lipólisis es un proceso normal de las lipasas microbianas y fúngicas que influyen en el aroma.

En la hidrólisis de la materia grasa se liberan ácidos grasos de fuerte olor, como el butírico, que dan a la leche un sabor muy

desagradable. La rancidez puede desarrollarse en las leches en polvo tanto entera como parcialmente desnatada. Las principales causas son un precalentamiento insuficiente o la contaminación de la leche tratada con leche cruda. Si la leche original presenta un defecto de rancidez, el proceso de desecación no siempre lo hace desaparecer, (4, 5, 20).

Entre los factores que inhiben la acción de las lipasas están los siguientes:

- a) La acidez, el oxígeno disuelto, los metales (Cu, Fe, etc.).
- b) Puede ser intensamente inhibida por sus productos, en particular por los ácidos grasos de cadena larga; posiblemente porque se une fuertemente a ellos.
- c) La enzima está en gran parte unida a las micelas de caseínas; esto disminuye mucho la concentración de enzima libre y por lo tanto su actividad.
- d) La membrana natural del glóbulo graso protege eficazmente a los triglicéridos del ataque enzimático, por lo que los tratamientos que alteran esta membrana (homogenización, agitación, cambios bruscos y repetidos de temperatura, etc.) favorecen el enranciamiento. Una agitación moderada de leche de vaca provoca un aumento de lipólisis con temperaturas de agitación menores de 15°C, una disminución a 25°C y un aumento a altas temperaturas (mayor de 40°C). (2, 21)
- e) La leche contiene inhibidores en cantidades variables, de los cuales una parte son proteínas de bajo peso molecular. En investigaciones realizadas se encontró que parte de la proteína de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche juega un papel

importante en la inhibición de la lipólisis. La solución glicoproteínica aislada de la membrana de los glóbulos de grasa produce una marcada actividad inhibitoria. (22).

En investigaciones recientes se estudiaron los efectos de gomas (heteropolisacárido de consistencia viscosa) sobre la actividad lipasa de la leche y lipasa de pseudomonas. Las gomas se hidrataron en agua y mezclaron con la leche, después la lipasa fue agregada a la mezcla leche-goma y la hidrólisis se detectó después de 48 hrs. a 4°C, el método fue evaluado por la acidez presentada. De las gomas probadas, la carragenina, el furcellarano y el arginato de sodio inhibieron significativamente la actividad lipasa de la leche en un 73.9, 50.6 y 62.1 % respectivamente. (23).

2.2.2 Oxidación

La oxidación de la grasa es uno de los problemas más importantes en la tecnología lechera. Este fenómeno ha sido ampliamente estudiado, ya que tiene como consecuencia la aparición de trascendentes anomalías en la leche y productos lácteos. Se trata principalmente de un proceso de orden químico.

Los principales factores que favorecen la oxidación de la grasa son :

- a) Grado de insaturación de los ácidos grasos
- b) Presencia de oxígeno y catalizadores como por ejemplo: hierro y cobre
- c) Grado de acidez
- d) Luz U.V.
- e) Altas temperaturas

f) Catalizadores orgánicos de hierro (hemoglobina, etc.)

Los principales factores que inhiben la oxidación de la grasa

son:

- a) Antioxidantes
- b) Envases opacos
- c) Refrigeración
- d) Secuestrantes de iones metálicos
- e) Exclusión de oxígeno.

Cuando se oxidan los ácidos grasos insaturados de la grasa de la leche se obtienen hidroperóxidos, éstos al romperse forman aldehídos, cetonas y diferentes ácidos como por ejemplo ác. propiónico, ác. valérico, ác. glutárico, ác. pelargónico etc., los cuales son identificados por cromatografía de gases. (3,24).

Las pruebas utilizadas para medir el grado de oxidación, como el índice de peróxidos o la prueba del ácido tiobarbitúrico, se basan en detectar la acumulación de las sustancias formadas en las reacciones de oxidación. La prueba del ácido tiobarbitúrico se basa en la reacción de condensación entre 2 moléculas de ác. tiobarbitúrico y una de malonaldehído que forma un compuesto cromógeno, el cual se determina espectroscópicamente a 532 nm. Los compuestos que han sido identificados como los principales responsables de los defectos de oxidación como son el sabor y el aroma son los aldehídos y cetonas.

La grasa da origen a distintos sabores de oxidación que se describen como: a papel, cartón, metálico, óxido, aceite, sebo, quemado, etc. El sabor a cartón posiblemente se debe a la oxidación de fosfolípidos; la mazada (suero de mantequilla) puede llevar un

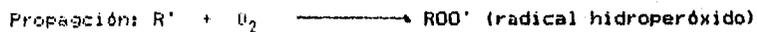
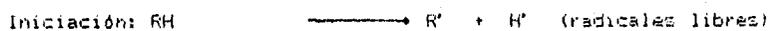
sabor metálico debido a la oxidación; la manteca adquiere sabor oleoso y si la oxidación es muy alta adquiere un sabor a pescado.

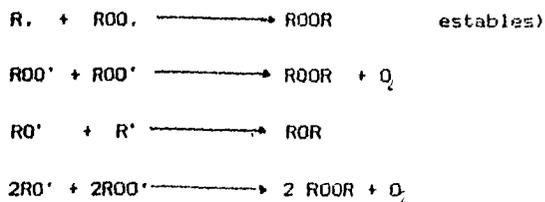
(4).

La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados es del tipo de reacción en cadena, que consiste esencialmente en tres pasos: iniciación, propagación y terminación.

En términos generales, siempre se requiere de algún agente catalizador para efectuar el primer paso, aunque parece ser que cuando el oxígeno tiene una configuración electrónica de singulete, puede unirse directamente al ácido insaturado sin la previa formación de radicales libres.

Durante la etapa de iniciación, se sustrae uno de los átomos de hidrógeno adyacentes a la doble ligadura, formándose un radical libre al cual el oxígeno se puede unir fácilmente. Posteriormente, el radical hidropéroxido reacciona con nuevos ácidos grasos, formando más radicales libres, con lo cual se propaga la reacción. El paso final de las reacciones de oxidación se efectúa a través de reacciones de condensación, en las que los diferentes radicales interaccionan formando compuestos muy estables; por tanto, terminan cuando ya no existen radicales libres activos:





La autooxidación de los productos lácteos se inicia generalmente por los fosfolípidos, que contienen restos de ácidos grasos muy insaturados y que están en contacto con el catalizador principal: el cobre. Si el contenido de cobre es muy alto, los triglicéridos pueden oxidarse en ausencia de fosfolípidos. Existe cobre natural (cobre presente en la leche antes de la ordeña) y cobre que entra por contaminación al que se le denomina cobre "añadido" o "agregado" el cual es mucho más activo como catalizador que el natural.

Los peróxidos tienen la capacidad de interaccionar con proteínas, pigmentos y otros constituyentes de los alimentos. Las reacciones entre peróxidos y proteínas son muy importantes ya que reducen el valor nutritivo de los alimentos. Los efectos que ejercen los hidropéroxidos sobre las proteínas son: a) pérdida de la solubilidad de la proteína; b) ruptura de cadenas; c) pérdida de algunos aminoácidos específicos como cisteína, lisina, histidina y metionina.

El malonaldehído (producto de la ruptura de los hidropéroxidos provenientes de la oxidación de los ácidos linoléico y araquidónico) reacciona con los aminoácidos específicos de las proteínas ocasionando una disminución del valor nutritivo de la

leche. En estudios realizados recientemente, se encontró una alta oxidación de la caseína en leche de bovino, leche humana y formulaciones de leche infantil, (3, 25).

La aplicación de la quimiluminiscencia (reacción química que va acompañada por emisión de luz), en el estudio de la oxidación de la grasa de la leche almacenada a 20°C, 50°C y 80°C, muestra los valores más altos a altas temperaturas. La quimiluminiscencia aumenta conforme aumenta la oxidación de la grasa de la leche, (26).

2.3 Antioxidantes

Las sustancias en la leche tienen una mayor o menor capacidad de liberar electrones o aceptar oxígeno en el caso de un agente reductor, o de absorber electrones en el caso de un agente oxidante.

Un antioxidante es una sustancia capaz tanto de aceptar oxígeno como de perder hidrógeno. La tendencia de un sistema a comportarse en un sentido u otro, toma la forma de un potencial de oxidoreducción (Eh).

El potencial medio de la leche normal es de +0.25 V.

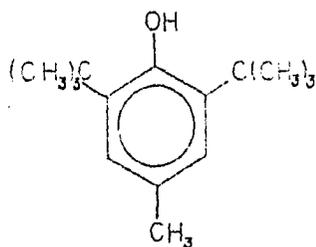
La adición de antioxidantes aumenta mucho la estabilidad frente a la autooxidación, pero tal práctica la prohíbe generalmente la legislación, además en la leche y productos lácteos que han sido debidamente manipulados, procesados y almacenados son innecesarios, (27).

La leche contiene un sistema reductor enzimático como la reductasa de Schardinger también llamada Xantina oxidasa, además de

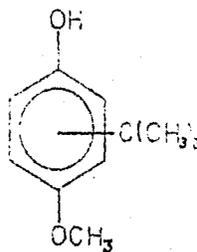
otras sustancias reductoras como ácido ascórbico, tocoferoles, etc. estas últimas son vitaminas. Otro antioxidante es por ejemplo la astaxantina, (28).

El tocoferol como antioxidante depende en general de su concentración, de su forma química y del tipo de grasa en que se encuentra, (29). Los tocoferoles comparados con los antioxidantes BHA y BHT (hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado, respectivamente) son muy estables a la temperatura de 180°C, no son volátiles y no provocan decoloración a temperaturas altas (30). Se ha observado una mayor potencia como antioxidante tanto a la mezcla de tocoferoles en sus diferentes formas (alfa, beta, gama) como a la mezcla de tocoferol con algún otro componente como pudiera ser la cistina ó el gambir (árbol rubiáceo de cuyas hojas y ramas se obtiene un extracto acuoso, que contiene 20% de catecol, quercetina y taninos), (31, 32).

Los contenidos de tocoferoles fueron detectados por HPLC en leches crudas y pasteurizadas, en intervalos mensuales por un año, encontrándose que el alfa-tocoferol fué el componente principal en productos lácteos.



BHA (mezcla de 2- y 3-terbutil-
4-metoxifenol)



BHT (2,6-di-terbutil-
4-metil fenol)

El contenido de tocoferol en la leche de vaca varía con la estación del año, siendo más alto en Junio-Octubre y más bajo en Nov-Mayo tanto en leche cruda como pasteurizada. Los contenidos de alfa-tocoferol en todos los productos lácteos varían desde 20.5 a 54.2 $\mu\text{g/g}$ grasa (media 13.8) en el invierno. Los productos lácteos proveen aproximadamente 10% del total de la vitamina E de la dieta, (33).

Con respecto al ácido ascórbico éste tiene su Eh normal de +0.06V a pH=7. En invierno su contenido en la leche es bajo y el Eh elevado, (34). El ácido ascórbico tiene un efecto sinérgico, con el gama-tocoferol retardando generalmente la autoxidación, (35). Así mismo en proporción elevada el ácido ascórbico protege a las grasas de la oxidación.

Cuando se ha oxidado el 40% de la cantidad de ácido ascórbico presente originalmente en la leche, aparece el mal sabor debido a la oxidación de la grasa, pero si se oxida bruscamente más allá del 70% (por ejemplo, agregando agua oxigenada), el sabor a óxido no aparece. Cuando el potencial redox alcanza bruscamente un nivel elevado, probablemente se forma un cuerpo muy oxidado insípido, (34).

Se ha intentado mejorar la conservación de la mantequilla y de otras grasas alimenticias mediante la adición de antioxidantes; para lo cual se han ensayado numerosas sustancias reductoras, sobre todo compuestos fenólicos con un grupo hidroxilo en posición orto. En recientes investigaciones se estudió la actividad tanto antimicrobiana como antioxidante de varios sulfuros fenólicos. Estos grupos fenólicos contienen tanto hidróxi fenoles como grupos

sulfhidricos, (36).

Tanto la vitamina E, como los alfa-tocotrienoles, los gama-tocotrienoles o los delta-tocotrienoles libres son antioxidantes efectivos y su actividad aumenta con el incremento en la concentración (200-2000 ppm). El orden de actividad antioxidante de los tocotrienoles es: gama-T3 > delta-T3 > alfa-T3, donde gama-T3 tiene cerca del doble de actividad que el alfa-T3, (37).

El calentamiento de la leche arriba de 80°C la vuelve prácticamente insensible a la oxidación debido a la aparición de sustancias reductoras que se producen en el calentamiento por degradación de una fracción protéica (lactoglobulina) y que poseen el grupo tiol, muy lábil, que actúa como antioxidante o que regenera a los antioxidantes destruidos.



Para facilitar la capacidad de conservación de la leche entera en polvo, debe calentarse intensamente, lo que le confiere propiedades poco apetecibles, como por ejemplo sabor a cocido. Como la leche en polvo entera es susceptible de oxidarse, la principal precaución a tomar durante el envasado, es la eliminación del oxígeno presente. Se ha demostrado que la leche en polvo envasada en caliente (49°C a 52°C) contiene menos oxígeno que si se envasa fría (29°C-30°C), (27). Se ha observado que la adición de leche en polvo a productos alimenticios, que contienen tocoferoles, como antioxidantes evita las pérdidas de éstos en tratamientos térmicos (por ejemplo horneado), (38).

Para evitar el desarrollo del gusto a oxidado, es fundamental eliminar en la leche y productos lácteos cualquier contaminación

con hierro o cobre y tener en cuenta que las reacciones de oxidación se aceleran con el calor, la luz y la acidez (el cobre cataliza la formación de peróxidos mientras que los tocoferoles inhiben estas reacciones), (4,39). El cuidado durante el manejo de la leche y de los productos lácteos que se desea proteger de ese tipo de deterioro debe ser sumamente estricto. En donde la legislación sanitaria lo permita se pueden utilizar los antioxidantes. Según la Norma Oficial Mexicana, para la margarina (uno de los productos lácteos con antioxidantes), se podrán utilizar en la fase grasa: hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propilo u otro autorizado, en proporción no mayor de 0.01%, solos o en combinación, dentro del citado límite, (40). La estabilidad del BHT aumenta con la concentración y aumenta ligeramente con la presencia de BHA, durante la clarificación de la mantequilla y subsecuentemente durante su almacenamiento posterior. (41).

Los fosfolípidos constituyen menos del 1% de la grasa de leche y parecen ser los responsables de una parte de los sabores oxidados en la leche y productos derivados, aún cuando se ha informado que muestran un cierto efecto antioxidante sobre la grasa de la leche. Los fosfolípidos se concentran en la membrana del glóbulo de grasa. Se ha observado un efecto sinérgico entre el BHA y los fosfolípidos, (42). Uno de los fosfolípidos más conocido es la lecitina, cuando la leche se separa, gran parte de la lecitina va a la crema. Durante el batido, la mayor parte de la lecitina se queda en el suero. Se adicionan a menudo preparaciones de lecitina para mejorar el sabor de los productos lácteos, (5).

De experimentos recientes se ha demostrado que las lecitinas unidas a prolaminas tienen una actividad antioxidante. El proceso consiste en disolver gliadinas (prolaminas) en etanol, mezclarlas con lecitina de soya y aceite de sardina, todo esto en presencia de gas nitrógeno y secarlas por aspersión para finalmente dar una presentación de microcapsulas. También se ha observado que el bambú pulverizado junto con tocoferol y lecitina origina un antioxidante más potente y seguro que aquellos convencionalmente utilizados, (43, 44). Además la mezcla de palmitato de ascorbilo y lecitina forman un poderoso antioxidante llamado Ronoxan A. utilizado en grasa de leche y en fórmulas para lactantes, retrasándose mucho más la oxidación de la grasa. Este antioxidante puede formarse también con palmitato de ascorbilo/di-alfa-Tocoferol y lecitina, manteniendo bajo el valor de peróxidos de la grasa de la leche anhidra. El BHA y el galato de dodecilo fueron también bastante efectivos a 32°C y 55°C, (45,46).

Entre otros antioxidantes nuevos estan:

- 1) Neox.- Es un nuevo antioxidante compuesto principalmente por BHT además de fosfato de calcio y carbonato de calcio. Este antioxidante es una alternativa adecuada para evitar la oxidación de lípidos en sustitutos de leche. El BHT que se encuentra formando parte del Neox fue detectado por cromatografía de gases. (47).
- 2) Aceites naturales esenciales como tomillo y comino. Fueron usados para evitar el deterioro de mantequilla durante su almacenamiento a temperaturas ambientales, estos aceites esenciales aumentan el valor ácido, por lo tanto tienen un efecto antioxidante, (48).

3) Oligopéptidos de soya. Se utilizan como antioxidantes para conservar los alimentos, son obtenidos de proteínas de soya por hidrólisis con endo y exo-proteinasas, y además son nutrientes solubles del alimento, (49). El papel de los aminoácidos en la autooxidación de la grasa de la leche es muy importante, ya que actúan como antioxidantes, siendo responsable de esto el grupo amino primario. Entre estos aminoácidos con efecto protector, están: L-cisteína, L-triptanol y L-tirosina, (50 y 51).

2.4 Importancia nutricional

Los criterios que tienen que adoptarse para valorar los aspectos positivos y negativos de los lípidos en la alimentación, es un tema de gran interés para todos aquellos que están relacionados con la ciencia, fabricación, comercio y con el consumo en el ámbito alimentario, (52).

Los lípidos de la dieta sirven principalmente de fuente de energía. Los lípidos de la leche dan como media 37 Kj/g (9 cal/g). La energía que los productos lácteos aportan a la dieta del hombre es importante. Los productos lácteos producen un calor de combustión que está en relación con sus contenidos en proteína, hidratos de carbono y grasa. La energía expresada en calorías se denomina energía bruta. La energía ingerida por un organismo vivo se somete a la digestión y al metabolismo, por lo que se puede hablar de energía digestible y energía metabolizable, como capacidades o disponibilidades energéticas a distintos niveles dependientes del alimento y del organismo que es alimentado (tabla 2.4). En las tablas 2.5, 2.6, 2.7, 2.8 y 2.9 se muestran los

Tabla 2.4 Valores energéticos de los componentes de la leche
(cal/g).

	Energía bruta (cal/g)	Energía digestible (cal/g)	Energía metaboliza- ble (cal/g)	Valor calórico (cal/g)
Proteína	5.65	4.35	4.00	4
Carbohidra- tos	4.1	4.1	4.02	4
Grasa	9.45	9.45	8.98	9

Tabla 2.5 Contenido medio de calorías en diferentes tipos de leche líquida

TIPO DE LECHE LIQUIDA	ENERGIA (calorías en 100 g)
Natural de vaca	63.2
Concentrada reconstituida	59.1
Pasteurizada	59.0
UHT entera	58.8
UHT semidesnatada	44.4
UHT desnatada	38.0

Tabla 2.6 Contenido medio de calorías en diferentes tipos de queso.

TIPO DE QUESO	ENERGIA	ENERGIA
	(Cal. en 100 g.)	(Cal. en 100 g.)
	EXTRAGRASO	GRASO
Manchego	461.7	413.1
Fresco	257.7	239.8
Fundido	371.1	208.0

Tabla 2.7 Contenido medio de calorías en diferentes tipos de helado

TIPO DE HELADO	ENERGIA
	(Calorías en 100 g.)
De crema	209.0
Sabor a nata	185.1
Sabor a vainilla	196.9
Sabor a chocolate	177.3
Sabor a limón	119.3

Tabla 2.8 Contenido medio de calorías en diferentes tipos de leche conservada

TIPO DE LECHE CONSERVADA	ENERGIA (Calorías en 100 g)
CONCENTRADA	216.5
EVAPORADA	155.6
CONDENSADA	329.3
EN POLVO ENTERA	495.9
EN POLVO DESNATADA	347.7

Tabla 2.9 Contenido medio de calorías en diferentes productos lácteos

PRODUCTO LACTEO	ENERGIA (Calorías en 100 g.)
Yoghurt natural	61.3
Yoghurt natural desnatado	45.1
Mantequilla	763.0
Nata azucarada	36

contenidos medios de calorías en leche y derivados, (53).

La grasa láctea es líquida a la temperatura corporal (37°C), lo que es un requisito para su digestibilidad. Los lípidos de la leche son la fuente de ciertos ácidos grasos esenciales (linoléico, linolénico y araquidónico) y sirven de transporte a las vitaminas liposolubles (A, D, E, K).

La digestión y absorción de los triacilglicéridos varían con la composición de los ácidos grasos y con la disposición de los mismos en las moléculas. Los lactantes recién nacidos absorben mejor la grasa de la leche de mujer que la de vaca, esto se debe en parte a las diferencias en composición de ácidos grasos y probablemente en gran parte a las diferentes disposiciones de los ácidos grasos en los triacilglicéridos. En la grasa de la leche de mujer, el ácido palmítico se esterifica primeramente en la posición 2 (lo que implica la formación del 2-monopalmitato que se absorbe fácilmente), mientras que en la grasa de la leche de vaca se distribuye casi por igual en las tres posiciones (dando grasas menos solubles). Por lo tanto cuando los ácidos palmítico y esteárico se sitúan en la posición 2, los procesos digestivos y de absorción se favorecen. Se ha sugerido que las diferencias de tamaño del glóbulo graso influyen las velocidades de digestión y absorción, (2).

En general se admite que al menos un 1% del total de la energía de la dieta debe ser aportada por los ácidos poliinsaturados ácido linoleico 18:2 (ácido octadeca-9:12-dienoico) teniendo sus dos dobles ligaduras en posición cis-cis y el ác. araquidónico 20:4 (ácido eicosa-5:8:11:14-tetraenoico) teniendo sus 4 dobles

ligaduras en posición cis; y para los niños lactantes quizás sea preferible un 4%. La tabla 2.6 indica que los contenidos de estos ácidos son mucho mayores en la grasa láctea humana que en la de vaca. El ácido linoléico de la grasa de la leche de mujer supone el 4-5% de la energía de la leche; la grasa de la leche de vaca sólo contiene una cantidad que supone el 1% aproximadamente de la energía total.

Ni la grasa de la leche de mujer ni la de la leche de vaca contiene mucho ácido linoleico. Este ácido es precursor del ácido araquidónico, el cual es un ácido estructural crucial en el desarrollo del cerebro, por ello se recomienda que los preparados de la leche de vaca para la lactancia infantil se suplementen con una fuente de ácido linoleico, como por ejemplo el aceite de maíz.

La leche de mujer contiene más grasa que la leche de vaca. Estas dos leches se diferencian además por la naturaleza de sus componentes lipídicos; la leche de vaca contiene más ácidos grasos saturados y menos ácidos grasos insaturados siendo la diferencia más notable el contenido seis veces menor en ácido linoléico, cantidad que sin embargo es suficiente para que no aparezca ningún signo de carencia, como por ejemplo la deshidratación de la piel. Un consumo exagerado de fuentes energéticas en forma de lípidos y especialmente de ácidos grasos saturados podría provocar numerosas enfermedades isquémicas del corazón y los vasos, (54).

Las manipulaciones físicas (fritura, oxidación) de algunos nutrientes lipídicos producen efectos dañinos sobre células específicas por formación no enzimática de lipoperóxidos de malonaldehído (aldehído malónico) y de radicales libres.

Tabla 2.6 Composición aproximada de ácidos grasos (%p/p).

ACIDO	LECHE DE VACA	LECHE DE MUJER
Cadena corta		
Butírico	3.4	< 1
Caproico	2.0	< 1
Caprílico	1.2	< 1
Cáprico	2.5	1.0
Sat.de cad. larga		
Láurico	2.9	5.0
Mirístico	11.0	10.5
Palmitico	27.5	24.0
Esteárico	11.5	7.0
Araquídico	0.2-1.2	0.9
Monoinsaturados		
Palmitoleico	2.9	3.5
Oleico	27.0	35.0
Poliinsaturados		
Linoleico	2.1	12.0
Linolénico	1.8	1.8
Araquidónico	0.1-1.0	1.7

Nutritivamente, las grasas son positivas en cuanto a que son psicoestimulantes del apetito, hacen más lenta la digestión (factor de estabilización metabólica), no desarrollan gases intestinales, pero tienen el inconveniente de que son colesteroalgénicas.

La familia de los ácidos "impares" y ramificados que son minoritarios en el reino animal son de dudoso significado nutricional. Según algunos investigadores la presencia de ácidos grasos ramificados es tóxica. Los ácidos grasos cuyas cadenas tienen un número par de carbonos se metabolizan normalmente, mientras que las de número impar originan ácidos dibásicos.

El ácido oléico es energético, especialmente para el músculo estriado; es plástico para la mielinización del nervio; es "regulador" en cuanto a que es digestivo.

El ácido linoléico, es medianamente energético, plástico para la biomembrana de las células (con un máximo para el hígado, corazón e intestino), es "regulador" para la citoprotección del estómago y del páncreas y probablemente ayuda a la eliminación renal del sodio. En exceso puede desequilibrar el nivel de Fe^{2+} y puede convertirse no enzimáticamente en peróxido (por ejemplo por fritura).

Los ácidos gamma-linolénicos, que, enzimáticamente, derivan del linoléico, tienen actividades "plástica" para las partes cutáneas (uñas) y de "regulador" porque generan enzimáticamente la prostaglandina PGE_1 anti-agregante.

El ácido araquidónico, derivado enzimático del alargamiento e insaturación del ácido linoléico en el hígado, es el más "regulador", ya que se convierte en prostaglandina PGE_2 (con

efecto inmunosupresor).

El ácido alfa-linolénico es muy energético y "plástico" para las neuronas retinicas cerebrales.

La mantquilla y los triglicéridos de cadena media (MCF): tienen un significado preponderantemente bioenergético. Su efecto hipercolesterolemizante parece constante y por otro lado, la restricción alimenticia no parece modificar dicho efecto; los MCF aumentan la uricemia y luricuria (quizá por baja eliminación renal, inducida por el ácido láctico).

El tocino y las margarinas hidrogenadas inducen efectos trombógenos y probablemente múltiples efectos en la cardiopatía isquémica.

Las principales familias de ácidos grasos han demostrado:
Para los saturados "cortos" y asimilados, un significado preponderantemente energético no insulino-dependiente.

Para los saturados "largos", propiedades energéticas, engrasantes y peligro de arteriogenicidad.

Para los monoinsaturados "largos", un significado preponderantemente digestivo-colecistocinético probablemente cetógeno e hipertrigliceridemizante, pero positivo para la tutela de la cubierta de mielina protectora del nervio.

Los poliinsaturados tienen efectos estructurales en la biomembrana, son menos estables y potencialmente, también dañinos, especialmente si se convierten en peróxidos.

La necesidad de grasas se puede indicar como sigue:

Hasta los 12 años: particular atención al porcentaje de poliinsaturados indispensables para el crecimiento y, quizá,

especialmente en el lactante para el desarrollo del cerebro.

Hasta los 25 años: vigilancia del aporte de ácido oléico (monoinsaturado), que se utiliza mejor para la actividad muscular y quizá, para la protección de los nervios.

Hasta los 40 años particular vigilancia de la dosis de ácidos saturados que debe ser razonablemente controlada, ya que existe una relación entre estos ácidos y la aparición de arteriosclerosis.

Hasta los 65 años: privilegio relativo de los ácidos monoinsaturados (que regulan la descarga de la bilis y la eliminación de colesterol) y de los poliinsaturados (que aseguran la integridad del hígado, corazón, cerebro y mantienen reducido el colesterol en la sangre).

Después de los 65 años: control de los poliinsaturados, que se pueden convertir en compuestos de efecto "envejecedor" en el cerebro y en la piel.

Se admite que el porcentaje de grasas en la dieta debe aumentar conforme el individuo pasa de una vida sedentaria (con un régimen de 2200 cal/día) a una vida dinámica (3 000 cal/día) o a un trabajo pesado (más de 3 000 cal/día), dicho aporte de grasas debe ser bien repartido entre las familias antes citadas.

Estando expuesto al frío (inferior a 10°C) debe predominar una adecuada disponibilidad de grasas "saturadas" (mantequilla, sebo, etc). Hay que hacer notar que una alimentación rica en fibras dietéticas (harina de semillas, judías, alubias, etc) puede reducir la absorción intestinal de grasas y en consecuencia reduciría su aparente disponibilidad por parte del organismo.

En líneas generales los saturados deben ser restringidos, los

en los ácidos grasos saturados y en los ácidos grasos evidenciados.

2.5. Colesterol

Es el esteroide animal más abundante y se halla en casi todos los tejidos animales. El colesterol es un intermediario necesario en la biosíntesis de hormonas esteroideas; sin embargo, ya que puede sintetizarse a partir de la acetil coenzima A, no es una necesidad en la dieta. Los altos niveles de colesterol en la sangre están asociados con la aterosclerosis y el incremento de la actividad. Esto debería ser controlado si el nivel de colesterol en la sangre se puede controlar con la dieta (55).

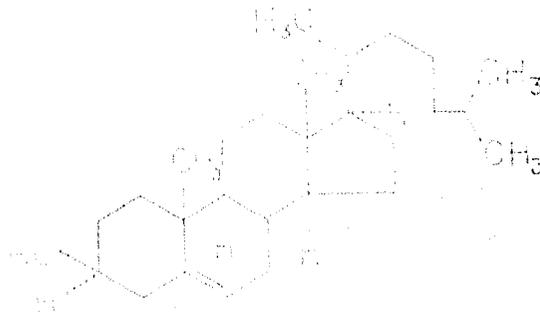


Tabla 1150.

Los ácidos grasos saturados de cadena larga de la dieta (más de C10) suben los niveles de colesterol, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados los bajan. La grasa de la leche de vaca

contiene 300 a 350 mg de colesterol por 100 g de grasa y tiene una proporción pequeña de ácidos grasos poliinsaturados/ saturados aproximadamente 0.1. Por estas razones ocasionalmente se ha recomendado la restricción o exclusión de la grasa láctea de la dieta. El nivel de colesterol de las diferentes fracciones de las leches sigue la siguientes secuencia: crema > mantequilla > suero > leche > leche desnatada. Sin embargo el hecho concreto es que la leche como tal (no la grasa láctea) es hipocolesterémica: disminuyendo los niveles de colesterol sérico. Los factores de la porción no grasa de la leche responsable de esta acción y los mecanismos por los que actúa son desconocidos, (56).

En muestras de leche humana se ha encontrado que el contenido de colesterol total fué más alto del primero al tercer día, después del nacimiento. Luego disminuye gradualmente alcanzando un nivel medio de aproximadamente 0.5mM. El porcentaje relativo del colesterol libre fué más bajo del cuarto al séptimo día (68.5%) y más alto 60 días después del nacimiento (84.2%), (57).

La European Atherosclerosis Society (EAS) ha recomendado ciertos criterios para el diagnóstico y tratamiento de los adultos con niveles elevados de lípidos destinados a disminuir la frecuencia de enfermedad cardíaca coronaria (ECC).

Las modificaciones dietéticas básicas consisten en mantener el contenido de grasas totales y de grasas saturadas por debajo de 30% y 10% de calorías totales, respectivamente; consumir menos de 300mg por día de colesterol y aumentar la ingesta de fibra.

Para los adultos entre 18 y 19 años, el comité canadiense recomienda mantener los niveles de colesterol total por debajo de

180 mg/dL, cuando la cifra supera los 220 mg/dL se deben tomar medidas correctivas. Para los individuos con más de 30 años se considera deseable un nivel de colesterol total por debajo de 200 mg/dL. También se aconseja el ejercicio vigoroso, (58).

En estudios realizados recientemente se ha encontrado que el secado de la leche en polvo entera y desnatada con niveles altos de calentamiento provoca aumentos importantes de algunos óxidos de colesterol (epoxi-colesterol, hidroxicolesterol, etc.). El calentamiento de la mantequilla por 10 minutos a 150°C-200°C, provoca un aumento gradual de los óxidos de colesterol desde 0 a 2.5 ppm, (59).

La propiedad hipocolesterolemica de la leche en polvo desnatada se investigó en ratas, donde la dieta de leche en polvo desnatada con caseína por un periodo de 5 a 12 semanas produjo una hipocolesteremia transitoria, (60).

La ingestión de grasas saturadas es un potente factor de influencia para el colesterol en plasma. En cada persona varía el grado en que aumentan sus niveles de colesterol, según la grasa ingerida. En segundo lugar, el efecto es debido a la presencia de grasa saturada o ácidos grasos de 12 a 16 átomos de carbono.

La fibra soluble (por ejemplo la pectina) que contienen las verduras, frutas y ciertos cereales, principalmente avena, contribuyen en gran medida a la reducción del colesterol, de aquí que se haga hincapié sobre estos alimentos en las dietas para reducir el colesterol.

Si la grasa saturada se sustituye por grasa Poliinsaturada de la clase "Omega 6" (por ejemplo, aceites tales como el de girasol,

presentación y promoción de los mismos, aprovechándose de los términos e ilustraciones sonoras así como visuales, procedentes de la industria láctea (ej. mantequilla vegetal, leche de soya, imágenes de granjas, jarras de leche y el mugido de una vaca después de la imagen televisada de un producto de imitación).

Además en los mercados, los productos de imitación se colocan junto a los productos verdaderos, lo que constituye una fuente suplementaria de confusión para el consumidor, a menudo el etiquetado es incompleto y no informa correctamente al consumidor de la ausencia de ciertos ingredientes esenciales del producto natural. Los preparados lácteos son productos alimenticios que no inducen a engaños, siempre que su etiquetado esté acorde con las disposiciones legislativas e incluyan la información complementaria relacionada principalmente con la lista de ingredientes y forma de preparación, porque así el consumidor recibe clara e inequívocamente información veraz de lo que adquiere, (62).

La adulteración de grasa de vaca con manteca de cerdo ha recibido recientemente mucha atención. La composición típica de los ácidos presentes en la manteca y en la grasa de vaca es la siguiente:

	C14	C15	C16	C16:1	C17	C18	C18:1	C18:2
Manteca %	2.0	-	25.0	3.0	0.5	13.0	46.0	10.0
Grasa %	3.5	1.5	26.0	3.5	1.5	22.0	39.0	2.5

C14 Mirístico

C16:1 Palmitoléico

C18:1 Oléico

C15 Pentadecanóico

C17 Margárico

C18:2 Linoléico

C16 Palmítico

C18 Esteárico

La grasa de vaca contiene un porcentaje mayor de C18:0 y menor proporción de C18:1 y C18:2 comparada con la manteca de cerdo.

El aumento en la concentración de ácido oléico, ácido linoléico y 2-mono-glicéridos es indicativo de una adulteración en la grasa de vaca con manteca de cerdo. Los 2-mono-glicéridos son producto de una hidrólisis de los triglicéridos mediante la acción de la lipasa, (63, 64).

La adulteración de mantequilla con otras fuentes de grasa como aceite de algodón hidrogenado y grasa de buey se caracterizó por contener una cantidad mayor de C16, C18, C18:1 y ácidos grasos de cadena corta como son el cáprico, caprílico, caprílico y butírico. La adición de aceite de algodón hidrogenado o sebo de buey a la mantequilla en porcentajes mayores al 2%, afecta la composición de los ácidos grasos y los índices de las mezclas resultantes, (65).

Para aislar el esteroles se analizaron varias muestras de mantequilla (supuestamente pura) provenientes de diferentes distribuidores; primero por cromatografía en capa fina, posteriormente por cromatografía de gases se mostró que de estos esteroles una gran parte corresponde al colesterol que es de origen animal pero también se encuentran sitosteroles que son de origen vegetal. En el aceite de semilla de algodón se encuentra beta-sitosterol, gama-sitosterol y alfa-sitosterol, siendo el beta-sitosterol el que se encuentra en mayor proporción. De acuerdo a esta información es posible concluir que existe aceite de algodón en la grasa de mantequilla pues existe una alta concentración de beta-sitosterol, (66).

En conjunto los índices de Reichert-Meissl, Polenske y Kirschner permiten distinguir la grasa de la mantequilla del resto de las grasas, aceites en general y especialmente de los aceites de coco y palma.

El índice de Reichert-Meissl mide el contenido de ácidos grasos volátiles solubles en agua; el de Polenske los ácidos grasos volátiles insolubles en agua; el de Kirschner constituye una medida del ácido graso característico de la mantequilla. El índice de Reichert-Meissl se halla en torno a 27-28. Los índices inferiores a 24 son sospechosos. Un índice de Polenske superior a 2.5 intensifica considerablemente la sospecha, señalando la presencia de algún aceite de palma. Frecuentemente, basta con la determinación de estos dos índices para establecer si existe adulteración. Si existe duda, se puede determinar el índice de Kirschner, lo que resolverá la cuestión. La grasa de mantequilla comercial pura tiene un índice de Kirschner no inferior a 20; la mayor parte de las mantequillas ofrecen un índice próximo a 23.

La adulteración de la mantequilla con grasas extrañas puede deducirse también de otros datos. Un índice de refracción superior a 1.4555 a 25°C y un índice de saponificación inferior a 200 señalan la presencia de aceites vegetales distintos de los aceites de la familia de la palma (que también tienen índices de refracción bajos e índices de saponificación altos).

La concentración de tocoferoles sirve también para indicar la adición de grasas vegetales a las animales. La grasa de la mantequilla contiene menos de 55 mg de tocoferoles por 100 g de muestra, en tanto que la mayor parte de la mantequilla con los

aceites vegetales normalmente usados, con excepción de los aceites de coco y cacahuete, contienen de 300 a 600 mg de tocoferoles por 100 g. La determinación de fitosterol sirve también para determinar aceites vegetales deduciendo el tipo y a veces la cantidad de adulteración, (67).

La determinación de grasas no lácteas como la de puerco, aceites de girasol, grasa de res o mezcla de ellas, puede ser muy precisa midiendo la absorbancia de estas grasas entre 430 y 450 nm, (68).

3 PRODUCTOS LACTEOS

3.1. Crema. (Nata)

La crema es leche enriquecida en materia grasa, mediante el desnatado espontáneo o centrifugo. La crema se puede obtener por decantación de la capa que se forma en la superficie de la leche fresca. La crema es menos densa que la leche, por lo que cuando la leche gira rápidamente en un recipiente separador de tipo centrifugo, la leche desnatada sale del mismo y la crema permanece en el centro. Una distribución de paletas en la esfera giratoria permite que la leche desnatada y la crema puedan ser separadas continuamente.

El contenido de grasa de la crema puede regularse ajustando la velocidad con que la leche gira dentro del recipiente. (34,66).

Las cremas reciben diferentes denominaciones según su origen, composición, tratamiento higiénico, conservación y por la incorporación de aire o gases inocuos, azúcares, aromas, frutas, alimentos naturales y otros aditivos autorizados.

Los componentes intrínsecos de las cremas, son la materia grasa de origen lácteo y el extracto seco magro, cuya composición será la misma que la del extracto seco magro de la leche natural de partida, descontando lo que corresponda a los ingredientes facultativos y aditivos autorizados incorporados.

La materia grasa de las cremas, debe alcanzar un valor mínimo de 12% (69). Al aumentar el contenido de grasa de la crema, mejora el curso del proceso elaborador de la mantequilla. La crema que contiene más grasa puede batirse con idénticos resultados a menor temperatura o con un número de revoluciones relativamente bajos del rotor del cilindro de batido. (70)

La crema se somete a una pasteurización más severa que la

leche: como mínimo 74.4 °C durante 10 segundos, porque la resistencia de los microorganismos al calor es mayor en la crema ya que la capa de materia grasa ejerce un efecto protector. El calentamiento debe ser suficiente para destruir las levaduras, los mohos, la mayor parte de las bacterias y enzimas especialmente las lipasas y peroxidasas.

Eventualmente, antes de la pasteurización, la crema de muy baja calidad se puede someter a un tratamiento térmico a vacío con el fin de eliminar las sustancias volátiles responsables de los malos olores y sabores; se puede utilizar en este caso vacreadores; se trata de aparatos que combinan un calentador y un desodorizador. En una primera cámara de vacío se mezcla la crema con vapor; en una segunda cámara de vacío se realiza el calentamiento y en una tercera cámara a un vacío de 60 - 60 kPa. se realiza el verdadero proceso de desodorización y de refrigeración de la crema.

La crema debe enfriarse bruscamente tras la pasteurización para evitar el sabor a cocido y para favorecer la solidificación de la materia grasa en cristales finos, lo cual proporciona una estructura suave, mejorándose a su vez la estructura de las mantequillas ordinariamente quebradizas y desmenuzables. La maduración de la nata consiste en refrigerarla y mantenerla a baja temperatura durante un tiempo suficientemente largo para obtener una relación óptima entre la grasa solidificada y la grasa líquida. El tratamiento tendrá que ser más largo en verano que en invierno, porque durante esta época del año, la proporción de ácidos grasos insaturados de bajo punto de fusión es mayor.

Tipos de cremas:

3.1.1. Crema de consumo (crema fresca): Esta calidad corresponde a

la llamada "crema para el café" con 10-12% de materia grasa (M.G.). Se les llama también crema ligera, crema fluida, etc. va bien con el té, el café, con las frutas frescas o en compotas, etc. Es importante homogenizarlas por las siguientes razones: prevenir la separación del suero y de la materia grasa, aumentar la viscosidad (ya que da al producto una apariencia rica y untuosa y una buena estabilidad al calor), da a la crema un mayor poder colorante al café, evita la formación de tapones de nata en el envase y de gotas de aceite en la superficie del café, (34). La viscosidad de la nata aumenta con la presión y disminuye al aumentar la temperatura. La estabilidad de la nata al calor depende mucho de la temperatura de homogenización, disminuyendo sensiblemente a bajas temperaturas. Además hay otros factores como son:

- la temperatura del café: a más alta temperatura, mayor es la tendencia de la nata a flocular;
- el tipo de café utilizado y su procedimiento de fabricación: cuanto más ácido es el café, más fácilmente flocula la nata;
- la dureza del agua utilizada: un agua dura favorece la floculación, ya que las sales de calcio y magnesio que contiene, favorecen la coagulación de las proteínas, (4).

Para mejorar la estabilidad de las cremas homogenizadas se les puede adicionar antes de la homogenización 0.5-5.0% de Quillaja saponina (corteza de árbol de donde se obtiene un extracto acuoso y alcohólico, que contiene varias saponinas, ac. quillaico, sacarosa, almidón y oxalato de calcio). se usa como saborizante y como espumante, (28,71), dando una crema que no muestra separación de aceites, ni de proteínas aun cuando se adicione café a pH 4.7. Las gotas de aceite en la crema pueden deberse a los altos niveles de

ácidos grasos libres dañados inicialmente, que son fáciles de ser atacados por enzimas. (72).

3.1.2. Crema congelada: Un procedimiento destinado a evitar la conservación prolongada de la mantequilla en cámara fría (que ocasiona numerosos problemas), para mejorar la calidad de la mantequilla durante todo el año, consiste en congelar la crema concentrada. La crema a congelar debe tener aproximadamente 50% de materia grasa, debe pasteurizarse a altas temperaturas (95-98°C, 15 seg.) enfriarse rápidamente a 15-20 °C y posteriormente a 3-5 °C, con lo cual puede durar hasta 8 meses. Para descongelarla se hace lentamente en dos o tres días a temperatura ambiente (12 a 15 °C). La nata nueva así obtenida debe ser pasteurizada de nuevo antes de ser transformada en mantequilla.

La crema de verano con elevado índice de yodo en su grasa y alto contenido de sustancias biológicamente activas se congela. La mantequilla fresca de invierno presenta algunos defectos que no tiene la mantequilla de verano: es más consistente y menos fácil de extender, es más pálida y contiene menos carotenos y vitamina A. (34,70).

3.1.3 Crema ácida: Se encuentra en forma de gel untuoso con un ligero sabor ácido. Se fabrica a partir de nata fresca con 15-20% de materia grasa. Esta nata se precalienta a 72°C y después se homogeniza, se pasteuriza y se refrigera a 22°C. A continuación se inocula con 1.0 - 1.5% (v/v) de un cultivo láctico que suele estar compuesto de las siguientes especies: *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetyl lactis* y *Leuconostoc citroverum*. Se agrega también un poco de cuajo para favorecer la formación del gel, se incuba por 14-16 h. hasta obtener una acidez de alrededor de 70°D. La

ácidos final de la crema enfriada debe mostrar un pH de 4.9-5.2.(4).

3.1.4 Crema de granja: Se elabora a gran escala en regiones de recreo, sin embargo se fabrica cada vez menos mantequilla de granja. Esta crema contiene frecuentemente más de 2 g/l de M. G.. El cuidado y conservación son insuficientes por tanto puede haber contaminación bacteriana.

3.1.5. Crema batida: Se trata de una emulsión de aire en una crema con 32-35% de grasa, haciendo que se introduzcan en la nata pequeñas burbujas de aire. El aire ocupa al menos la mitad del volumen del producto final. Para obtener mejores resultados el recipiente y la crema deben enfriarse a menos de 8°C. (54,66).

Para actualizar y ampliar la información del contenido de vitaminas en cremas y helados en el Reino Unido, se emprendió un estudio, encontrándose buenos resultados. Entre las vitaminas están: vitamina C, tiamina, riboflavina, vitamina B6, B12, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina y ácido fólico. (73).

3.2. Mantequilla.

La mantequilla es un producto lácteo, rico en materia grasa que se obtiene exclusivamente de la crema de vaca, con o sin adición de sal común y con o sin colorantes artificiales, con una riqueza en grasa de leche no inferior al 80% de su peso.(67).

Hasta los primeros años de la década de 1920, la mantequilla comercial contenía por término medio alrededor de un 82.5% de grasa, a raíz de la aprobación de una acta normativa, el contenido en grasa descendió y hoy oscila en torno a 80.5%, casi 16.0% de agua, de 1 a 2% de sal y alrededor de 1% de SN GL.. (67,69).

Las características de la materia grasa propia para la

mantequilla difieren según la estación del año. En verano la proporción de grasas insaturadas, mas blandas (índice de todo mas alto) es mayor que en invierno y esto se refleja en la textura y la extensibilidad de la mantequilla. La consistencia de la materia grasa depende principalmente: del grado de insaturación, de la longitud de las cadenas, de la posición que ocupan los ácidos grasos en la molécula de glicerina y de los distintos puntos de fusión de cada grupo de triglicéridos. (4).

La fabricación de la mantequilla comprende dos fases principales: la separación de la nata (desnatado o descremado), (54), y la transformación de la nata en mantequilla, proceso que lleva consigo a su vez varias operaciones, la más importante de las cuáles es el batido (Figura 3.1).

Antes de que se bata la crema, debe atemperarse (mantenerse a una temperatura fija por un tiempo determinado) para asegurar el grado de solidificación que se desea de sus componentes grasos y obtener así una mantequilla con la firmeza y plasticidad deseable, (5).

3.2.1. Batido. La crema se agita a una temperatura de 8 a 9°C hasta 11 o 12°C (dependiendo de la estación del año) que favorece la formación de mantequilla, transformándose la nata (emulsión de una grasa en fase acuosa) en mantequilla (emulsión de una fase acuosa en grasa). Durante el batido la membrana de la nata se deforma y se rompe, liberándose por una parte el contenido del glóbulo, es decir la materia grasa o mantequilla y por otra, el suero de mantequilla, llamado también mazada o "babeurre". La agitación intensa favorece el acercamiento y fusión de los glóbulos y con ello la desestabilización de la emulsión. Durante el batido hay formación de espuma (que favorece el acercamiento de los glóbulos grasos) que

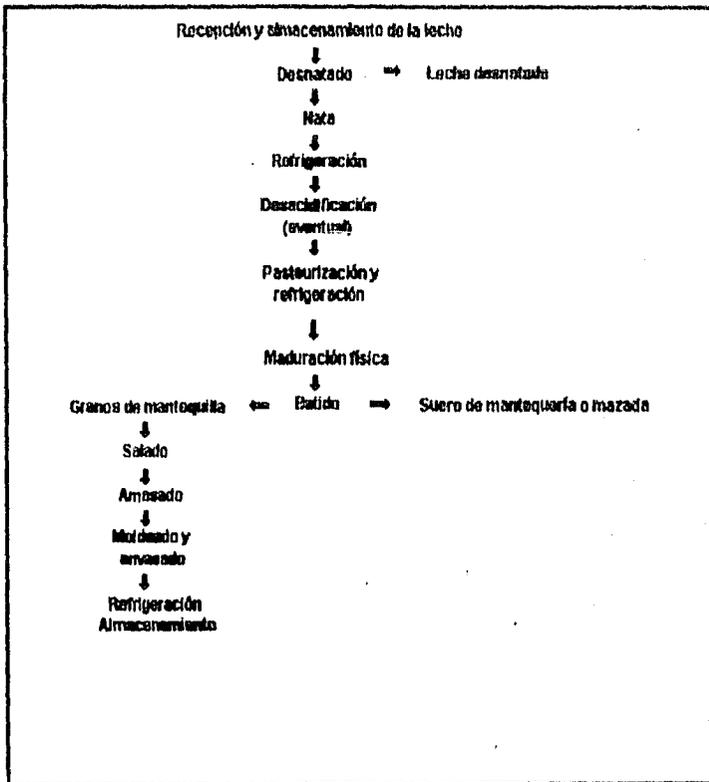


FIGURA 3.1 ESQUEMA DE FABRICACION DE MANTEQUILLA

desaparece cuando los granos de mantequilla se han formado. El batido debe continuar hasta que estén bien formados estos granos (de 3 a 4 mm de diámetro). (4,5,54).

Los granos de mantequilla se lavan entonces, agregándose agua en forma de aspersion fina. El agua de lavado tiene dos finalidades: enjuagar los granos para liberarlos del suero o cuajo y suministrarle otra oportunidad a la grasa de recuperar la temperatura a la que se inició el batido.

3.2.2. Amasado de la mantequilla: involucra mezclado, amasado, extendido y compactado de la masa de gránulos, hasta homogenización total. La grasa suave se amasa rápidamente, pero se vuelve adhesiva, viscosa y puede volverse grumosa si se amasa excesivamente. La grasa dura resiste las fuerzas de amasado incrementando el tiempo y disminuyendo la efectividad del mismo. Si se va a adicionar sal se agrega aquí. Se puede agregar hasta un 3% de sal, pero es más común que se adicione entre un 1% y 2%, aunque la mantequilla sin sal es a menudo más conveniente para cocinar que la salada (principalmente para preparar salsas, (66); la sal realza el sabor y mejora su conservación).

3.2.3. Moldeado y envoltura. Conforme sale de la batidora la mantequilla se coloca en charolas o tinas enfriándose para que se endurezca, se retira y se coloca en una plataforma de cortado (con alambres bien tensos para cortarla y darle las dimensiones adecuadas. Los trozos se envuelven individualmente en forma manual ó mecánica, usualmente con pergaminos.

3.2.4. Almacenamiento. Puede durar varios meses si las temperaturas de almacenamiento son suficientemente bajas. Mientras más tiempo se mantenga en almacenamiento más baja debe ser la temperatura del

mismo. Las temperaturas de -20°C a -25°C son adecuadas para un almacenamiento por varios meses. para 1 o 2 meses se recomiendan de -10°C a -15°C . (5.68).

3.2.5. Propiedades reológicas.(reología es la ciencia de la deformación)

Extensión: es una de las propiedades más importantes para la mantequilla, designada también como "untabilidad" o sea la aptitud para cubrir la rebanada de pan o tostada.

Dureza: es la resistencia a la deformación.

Tixotropía: propiedad que tiene la mantequilla de endurecerse cuando se deja en reposo, después de haberla trabajado.

Firmeza: es sinónimo de dureza; sin embargo se refiere más específicamente a la resistencia de la mantequilla a la deformación bajo su propio peso.

Textura: es el conjunto de varios atributos. Se refiere generalmente a la consistencia de la mantequilla, depende de las propiedades reológicas y de los granos que ponen de manifiesto la heterogeneidad del producto.

Friabilidad: es cuando se aplica una fuerza a la mantequilla y se rompe en lugar de deformarse y fluir, debido a la dureza excesiva y a una estructura cristalina grasosa.

La mantequilla grasienta: posee una dureza muy baja, debido a que la proporción de grasa sólida es escasa. Todas estas propiedades dependen de la temperatura. (34).

Existen diversos tipos de mantequilla que corresponden a las variadas propiedades de las leches de diferentes regiones. Ejemplo., la consistencia de la materia grasa de la mantequilla, es uno de los caracteres típicos de las mantequillas de cada región.

De la composición química de la materia grasa se derivan los caracteres específicos de las mantequillas de los diferentes orígenes. Si la técnica utilizada no modifica la composición química, los elementos característicos de la región deben subsistir. (34).

Como conservadores naturales de la mantequilla se encuentran algunos aceites esenciales como son el de tomillo y comino, usados para prevenir el deterioro durante el almacenamiento a temperatura ambiente de la mantequilla (adición aprox. de 200 ppm) estos aceites mostraron un mayor efecto anti-hidrolítico y una acción superior como preservadores comparados con BHT. (74).

3.3. Margarina.

La margarina es un producto alimenticio que surgió en 1869 en una época de alta demanda de aceites y grasas, debido a la escasez de mantequilla en Europa. Parece que la margarina fué utilizada ya en la guerra franco-prusiana de 1870, pero el gran consumo se inició en la segunda guerra mundial, precisamente cuando se agravó la falta de grasas para uso alimenticio.

La evolución hasta el producto extendible que hoy conocemos bajo el nombre de margarina, constituye un excelente ejemplo del progreso tecnológico en la industria alimentaria, gracias a los esfuerzos realizados por químicos especialistas, los tecnólogos en alimentos, nutricionistas e ingenieros químicos.

La margarina es una emulsión de agua en aceite que consiste de una fase oleosa y una fase acuosa discontinua dispersa finamente. La fase continua contiene saborizantes, colorantes, vitaminas y también cristales de grasa. Las propiedades físicas de la margarina son influenciadas principalmente por el tipo y la cantidad de

cristales de grasa. Desde sus principios hasta la actualidad, la industria de las margarinas ha pasado por muchos cambios tecnológicos. La granulosis inicial de la pasta se evito sometiéndola a un enfriamiento rapido, la utilizacion de leche acida para aumentar el sabor fue otra innovacion. Luego se empezaron a mezclar los aceites liquidos de semilla de algodón o de sebo, para disminuir la temperatura de fusion de la mezcla. Mas tarde se usó tambien manteca de cerdo en la mezcla de sebo y de aceite de semilla de algodón. Finalmente se introdujeron tambien otros aceites vegetales que no precisaban un alto grado de refinación, tales como el de cacahuete, sésamo, coco, girasol, palma y otros frutos secos, (52). De los aceites de origen animal, el aceite de pescado (ordinariamente arenque) es de los mas baratos.

Hoy en día, el aceite de soya constituye casi un 90% de la fase oleaginosa en cualquier margarina. Los mejores productos se obtienen de la mezcla de diferentes tipos de aceites antes de la hidrogenacion.

Algunas margarinas contienen 10% de mantequilla y el sabor a mantequilla que se requiere se puede exaltar con diacetil y acetilmetilcarbinol. De introducción más reciente debido al aumento en la posesión de refrigeradores, son las margarinas de tina las cuales contienen mezclas de grasas relativamente suaves (contenido bajo en grasas sólidas) que se pueden untar entre 0 y 5°C. La correlación entre grasas saturadas y enfermedades coronarias del corazón, así como la presencia deseable de ácidos grasos poliinsaturados indispensables en la dieta de los consumidores conscientes de su salud, ha llevado al desarrollo de las margarinas

de tina, suaves, preparadas con aceites vegetales ricos en ácido linoléico (C18:2) tales como el aceite de semilla de girasol. También se han introducido sustitutos de la margarina y de la mantequilla (unturas pobres en grasa). Estas contienen alrededor de 40% de grasas, sean aceites vegetales o mezclas de aceites vegetales y mantequilla, casi 60% de agua y por ello solo proporcionan la mitad de calorías que la mantequilla o la margarina.

La distribución de los ácidos grasos en diversos tipos de margarinas se muestra en la tabla 3.1.

Los reglamentos de 1976 para margarinas, requieren que todas ellas contengan al menos 80% de grasa, de la cual no más de un décimo de su peso puede ser grasa de leche y no más de 16% de agua; cualquier margarina vendida al menudeo debe contener 760-940 u.i. por cada 28.3g (1 onza) de vitamina A y de 80 - 100 u.i. de vitamina D.(9).

La calidad de las margarinas depende en gran parte de la pureza de las grasas, las cuales deben estar perfectamente refinadas y ser inodoras, insípidas y estables con el tiempo.

Las características físicas de las sustancias grasas son muy importantes.p.ej:

- punto de fusión;
- título de ácidos grasos;
- dilatometría.

La dilatometría parece ser el dato más importante para la calidad de estos productos entendiéndose por dilatometría la relación de grasas sólidas-grasas líquidas a una determinada temperatura.

Las características de plasticidad, licuefacción, untuosidad y

Tabla 3.1 Composición típica de los ácidos grasos de diversos tipos de margarinas.

Tipo de margarina	Ácidos Grasos Totales, (%)											
	12:0	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:3	22:1	Trans
De paquete:												
Aceites mixtos (animales/pescado/ vegetales)	1.2-1.8	3-7	17-21	3-9	1.0	5-15	20-44	5-6	0.9-1.4	0.6-1.0	0-10	9-40
Aceites vegetales	11	5	25	0.7	0.2	7	37	11	1.7	0.6	0.4	9
Aceites vegetales ricos en AGPI	-	0.3	17	0.2	0.1	6	26	42	7	0.3	0.2	6
De tina:												
Aceites mixtos (animales/pescado/ vegetales)	-	4-6	16	5-8	0.9-1.6	5-6	20-30	10-24	3	5-8	2-8	35
Aceites vegetales	1.8	1.0	10-13	0.2-0.7	0.1	7-9	20-40	30-55	2-4	0.2-0.9	0-1	9-13
Aceites vegetales ricos en AGPI	0-0.7	0.3-0.8	8-9	0.2	-	8-19	20-28	54-56	0.4-1.8	0.2-0.4	0.1	9-13
Naturales pobres en grasa:												
Aceites vegetales	2.2	1.8	12	8.6	0.2	6	42	28	5	0.5	0.8	16

AGPI = ácidos grasos poliinsaturados.

Trans = isómeros trans totales aislados, determinados por I.R.

consistencia de la margarina, dependen del conocimiento de las sustancias grasas utilizadas, su estructura y parámetros físicos.

LECHE: Normalmente se utiliza leche fresca descremada, leche en polvo descremada reconstituida en agua o bien mezcla de los dos tipos.

SAL: Debe ser purísima y no contener ni cobre ni hierro. El contenido en calcio y magnesio no debe sobrepasar el 1 por 1000. Debe ser completamente soluble en agua.

SUSTANCIAS EMULSIONANTES Y ANTISALPICADURAS: Las sustancias emulsionantes son en general mezclas de mono y diglicéridos (40% y 60% respectivamente). Es fundamental que estos productos estén libres de malos olores y sabores. Las sustancias antisalpicaduras impiden proyecciones cuando el producto se utiliza en un proceso de fritura, normalmente son lecitinas de soya refinadas.

VITAMINAS: En las margarinas de buena calidad están siempre presentes las vitaminas A y B; y algunas veces también la E y D.

3.3.1. FABRICACION DE LA MARGARINA: Se indica en la figura 3.2. El proceso incluye cuatro fases bien definidas:

- preparación de la leche ácida;
- preparación de la grasa;
- formación de la emulsión y su enfriamiento-cristalización;
- empaquetado.

En la figura 3.3. se muestra la fabricación de margarina utilizando aceite de soya y algodón.

Tanto la mantequilla como la margarina contienen alrededor de un 80% de grasa y la principal diferencia entre ambas radica en las cantidades y la composición de los distintos triglicéridos de estas grasas.

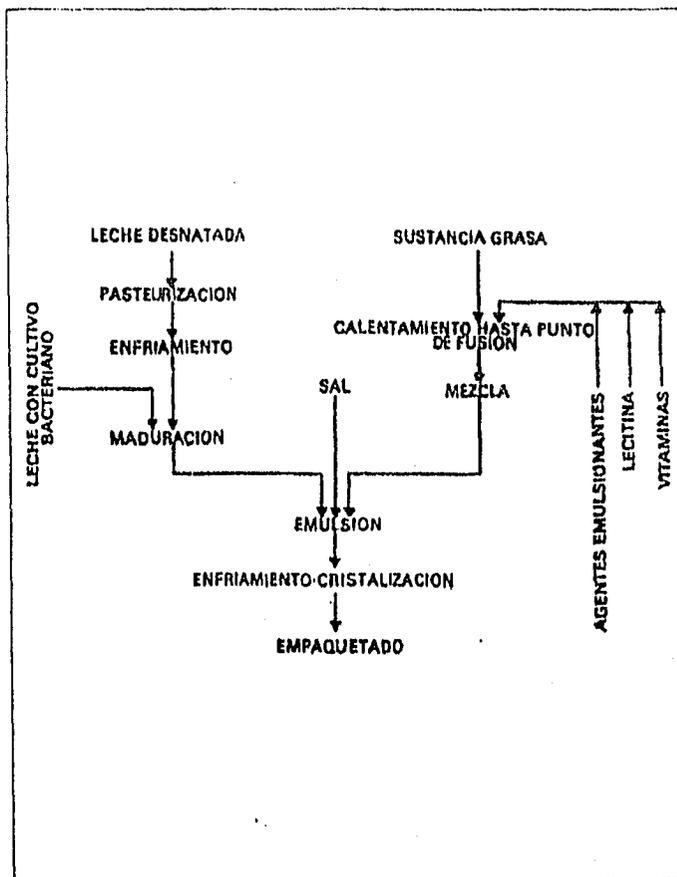


FIGURA 3.2. ESQUEMA DE FABRICACION DE LA MARGARINA

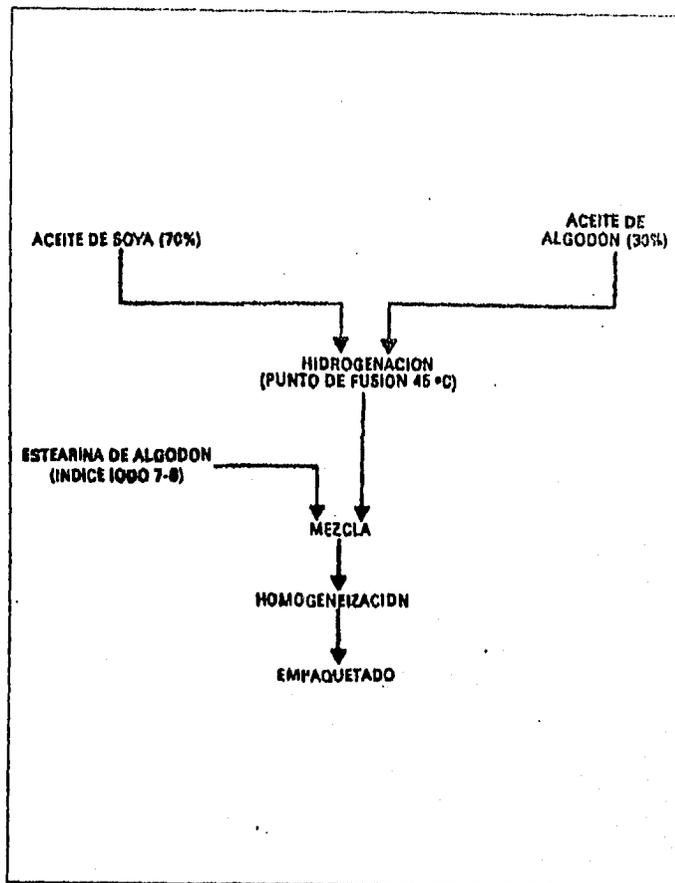


FIGURA 3.3. ESQUEMA DE FABRICACION DE MARGARINA UTILIZANDO ACEITE DE SOYA Y ALGODON

Tanto la margarina como la mantequilla, deben guardarse en un lugar frío al abrigo de la luz y en envoltorios adecuados para evitar que tomen olores de otros alimentos. Las margarinas duras se venden normalmente en bloques y las blandas se empaquetan en tubos, las margarinas duras son usadas normalmente por los panaderos para elaborar pastas. (75).

3.4 Leches industrializadas.

El fin perseguido con el tratamiento térmico de la leche, es su conservación al destruir los microorganismos, inactivar las enzimas y determinar algunos cambios en su composición química, estos últimos son en parte convenientes; pero, muchos cambios químicos producidos a temperaturas altas son perjudiciales.

Los cambios producidos en la grasa por el calentamiento, pueden ser reversibles o irreversibles. Ejemplo de reacciones reversibles son: aglutinación de los glóbulos grasos por el frío. Este tratamiento térmico provoca que las inmunoglobulinas pierdan su capacidad de inhibir las bacterias y de aglutinar por el frío los glóbulos grasos; ello se debe posiblemente a la desnaturalización térmica de estas proteínas, por lo tanto la tendencia de la leche al descremado puede disminuir. La aglutinina se inactiva por el calor. La homogenización y la agitación vigorosa y prolongada de la leche (o de la leche descremada) también la inactivan. La agitación de la leche a temperaturas bajas altera la viscosidad debido a que la aglutinina se asocia a los glóbulos grasos individuales; el calentamiento de esta leche a 48°C separa la aglutinina de los glóbulos y restaura en gran parte la capacidad de flocular cuando la leche se enfría de nuevo.

Otro cambio reversible debido al tratamiento térmico es el

estado de cristalización de la grasa. Esto es muy importante ya que la consistencia de los productos muy ricos en grasa y la estabilidad de los glóbulos grasos dependen de este estado.

Los fosfolípidos pueden romperse debido a temperaturas relativamente altas ($>100^{\circ}\text{C}$).

Los triglicéridos pueden experimentar una cierta interesterificación de acuerdo con la presencia de di y monoglicéridos, pero solamente a temperaturas muy altas.

A partir de la grasa se forman lactonas y metilcetonas; en un amplio intervalo de temperaturas, en general a temperaturas más altas se originan más lactonas, (de aquí el aroma más pronunciado).

La estabilidad de los glóbulos grasos frente a la coalescencia puede disminuir ligeramente debido al tratamiento térmico.

La tendencia de la crema a formar grumos de glóbulos grasos durante la homogenización aumenta por el tratamiento térmico previo, (2).

A continuación se indican los procesos térmicos más comunes.

3.4.1 Leche hervida.

El hervir la leche mata la mayor parte de los microorganismos, pero es un proceso más drástico que la pasteurización; altera el sabor y causa una pérdida mucho mayor de vitamina C, tiamina, vitamina B12 y ácido fólico. La pérdida principal, es la capa de nata que tiende a formarse sobre la leche además del depósito de proteína y calcio que se adhiere al fondo del recipiente. Estas pérdidas pueden sumar hasta $1/6$ de las proteínas y calcio, y $1/5$ de la grasa. Las pérdidas se reducen mucho si se agita la leche mientras se calienta con fuego fuerte para que hierva rápidamente y

después de la enfriamiento (66).

3.4.2 Leche pasteurizada.

La pasteurización deriva del apellido del famoso científico francés Luis Pasteur. Aproximadamente en 1900 se practico por primera vez en los Estados Unidos. La pasteurización se lleva a cabo con todos los derivados de la leche (excepto en algunas variedades de queso). (67).

Pasteurización baja. En la mayoría de los países se define legalmente como un tratamiento termico de tal intensidad que inactive la fosfatasa alcalina de la leche, puede llevarse a cabo calentando 30 minutos a 63°C o 15 segundos a 72°C. Destruyendose así casi todos los microorganismos patógenos presentes en la leche y la mayor parte de las formas vegetativas microbianas. Para inactivar la lipasa en la leche homogenizada, se aplica un tratamiento termico más intenso (20 segundos a 75°C), ello determina un cambio perceptible del sabor y una ligera modificación del poder aglutinante de bacterias y glóbulos grasos por el frio.

Pasteurización alta. Esta operación implica un tratamiento termico tal que inactive la lactoperoxidasa, calentando 20 segundos a 85°C; pero en ocasiones se emplean tratamientos mayores, de hasta 100°C. Se destruyen casi todas las formas vegetativas pero no así las esporas; se inactivan la mayoría de las enzimas, con excepción de la proteinasa de la leche y algunas lipasas y proteinasas bacterianas. (3).

En la hidrólisis de la materia grasa por acción de las lipasas se liberan ácidos grasos de olor fuerte, como el butírico, que dan a la leche un sabor muy desagradable.

Una leche cruda normal tiene un índice de ácidos grasos libres

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

entre 0.25 y 0.40. Se considera que una cantidad mas elevada indica que se ha producido una hidrólisis y normalmente cuando el indice es de alrededor de 1.3 el consumidor detecta facilmente esta alteracion.

Las alteraciones que se producen en la leche modifican su sabor, característica fundamental en una leche de consumo. El valor nutritivo no sufre cambios significativos.

En general la correcta refrigeración de la leche a baja temperatura y su conservacion en la granja durante un maximo de dos dias, evitan las fermentaciones bacterianas antes de la pasteurización. En la leche pasteurizada, el riesgo de fermentacion aumenta gradualmente con el tiempo, dependiendo de la poblacion bacteriana y de la temperatura de conservacion. Los sabores anormales que se desarrollan con mas frecuencia tienen su origen en las modificaciones bioquimicas de las proteínas y de las grasas, ya que los psicotropicos son en su mayoria proteolíticos y/o lipolíticos. La proteólisis da lugar a la aparicion de sabores amargos y la hidrólisis de la materia grasa produce rancidez y a veces sabores afrutados. (4).

3.4.3 Leche esterilizada.

La esterilización es la destruccion de todos los microorganismos y gérmenes patógenos incluidas las esporas; para este fin suele ser suficiente mantener la leche 30 minutos a 110°C (es decir en autoclave), 30 segundos a 130°C, o 1 segundo a 145°C, dependiendo del tipo y número de esporas presentes. (2).

Leche U.H.T. La esterilización en flujo (por lo tanto de corta duracion) se denomina tratamiento UHT (Temperatura Ultra Alta). Este tratamiento consiste en el calentamiento de la leche en forma

continúa a una temperatura mínima de 132°C durante algunos segundos, su refrigeración a temperatura ambiente y su envasado aseptico. El fin que persigue es destruir todos los microorganismos para asegurar su estabilidad y su larga conservación para satisfacer las exigencias comerciales y proteger la salud del consumidor.

El tratamiento térmico U.H.T. mínimo necesario para destruir las bacterias produce la desnaturalización de la beta-lactoglobulina, lo que implica una liberación de grupos sulfhidrilos (SH-), que tienen un efecto determinante sobre el sabor del producto. Estos productos son los responsables del pronunciado sabor a cocido de la leche recién tratada. Como ya se había visto, las propiedades reductoras de estos grupos retrasan las reacciones de oxidación de la leche durante el almacenamiento (ver capítulo antioxidantes).

Como las enzimas no se inactivan al 100%, el tiempo de conservación de la leche U.H.T., dependerá de la temperatura de almacenamiento. A una temperatura baja (10-15°C) se producirán más lentamente las reacciones enzimáticas, físicas (separación de la grasa) y químicas, responsables de las alteraciones en el producto terminado. A la temperatura ambiente estas reacciones se producirán con mayor velocidad.

El tratamiento U.H.T. se considera como el avance más importante en la tecnología lechera, este procedimiento ofrece la doble ventaja de una larga conservación de la leche de consumo sin necesidad de refrigeración. (2,4).

3.4.4 Leches homogenizadas.

El proceso de homogenización consiste en pasar la leche caliente (60°C), por un conducto estrecho a alta presión; esto rompe los

globulos de grasa en globulitos minusculos que permanecen en suspension y no flotan al dejar la leche en reposo. por esto no se forma la crema. Mientras la grasa está contenida en los glóbulos no puede ser atacada por la lipasa; en el momento en que la homogenización rompe los glóbulos y permite actuar a la lipasa es necesario destruir la enzima. Esto se consigue por medio del tratamiento térmico, la pasteurización o la esterilización. La homogenización no afecta al valor nutritivo de la leche.

3.4.5. Leche estandarizada.

Es aquella que sin alterar ninguno de los otros componentes, el contenido de grasa se ajusta a un valor predeterminado. El contenido de nata en una leche se alcanza por adición de nata, o bien se rebaja por desnatado parcial. Existen tres categorías principales: leche entera, con un contenido mayor de 3.5% de grasa; leche semidesnatada, con 1.5-1.8% de grasa; leche desnatada, con menos del 0.3% de grasa, (66).

3.4.6. Leche desnatada.

Es aquella a la que se le ha quitado casi toda la grasa (la cantidad de grasa que se deja es normalmente de 0.1%). La leche desnatada no contiene vitamina A y no es conveniente para los niños, a menos que tengan suplementos vitamínicos. Se le considera de valor en las dietas de adelgazamiento.

3.4.7. Leche de imitación.

Es el término usado para describir la "leche entera", elaborada a partir de leche desnatada reconstituida, a la que se ha incorporado grasa o aceite que no sea grasa de leche.

3.4.8. Leches concentradas.

Estos productos se preparan por concentración de leche entera o

leche desnatada a $1/3$ del volumen, eliminando agua. La concentración de la leche se lleva a cabo mediante una evaporación del agua al vacío. Se emplea vacío para operar a baja temperatura ($45 - 50^{\circ}\text{C}$) y así evitar el deterioro que podría sufrir la leche al ser tratada a alta temperatura. El desarrollo de microorganismos se previene, o bien por un tratamiento térmico o por adición de azúcar, que aumenta la presión osmótica del medio destruyendo la mayor parte de los microorganismos. (1,66).

3.4.8.1. Leche evaporada.

Para garantizar la fabricación de un producto uniforme, la composición química de la leche cruda se ajusta de tal manera que la proporción de grasa con respecto al total de sólidos es generalmente de $1 : 2.44$. Este valor es el que normalmente se encuentra en la leche de mezcla y si el ajuste es necesario, se hace por la adición apropiada de nata o leche desnatada a la leche original.

En la leche evaporada después de varios meses en reposo, la materia grasa tiende a separarse y subir a la superficie. Generalmente, la causa de este defecto es una homogenización insuficiente. No obstante puede aparecer por otros motivos como por ejemplo al agregar una cantidad excesiva de agua en la estandarización final de la leche. Este defecto se produce más rápidamente cuando el producto tiene poca viscosidad. (27).

3.4.8.2. Leche en polvo.

Marco Polo ya relata en sus escritos como los Tártaros, en el siglo XII, obtenían leche en polvo poniendo a secar al sol finas capas de leche. Pero hubo que esperar hasta 1875 para que Grinwade patentara en Inglaterra un sistema de fabricación de leche en polvo.

que se explotó comercialmente en Estados Unidos en 1887 y en Canadá hacia 1920.

El manejo y distribución de la leche es difícil. Un mejor secado de la leche, da origen a un producto que es de fácil manejo y tiene una mayor vida de anaquel, con menos problemas de tipo técnico y económico. La leche importada que llega a nuestro país es en su gran mayoría leche en polvo. Esta leche debe reunir ciertas características para su comercialización y consumo, como son: condiciones higiénicas adecuadas, buena solubilidad a modo de obtener una buena disolución, debe estar exenta de partículas insolubles, sabor agradable y parámetros químicos adecuados.

Puede haber leche entera en polvo o leche desnatada en polvo. La mayoría de éstas, se elaboran a partir de leche denatada. El alto porcentaje de grasa de la leche entera en polvo dificulta la fabricación de productos de buena calidad debido a la oxidación y enranciamiento durante la conservación. (76).

En la producción de leche desnatada en polvo si el desnatado es eficaz, la materia grasa que queda en la leche es solamente del 0.05 al 0.07%, mientras que la concentración adecuada de grasa en la nata obtenida es de 40 a 45%.

En la fabricación de leche en polvo entera o semidesnatada, para ahorrar energía la leche entera se puede desnatar por completo, homogenizar solamente la nata y después reincorporar a la leche desnatada el porcentaje de materia grasa deseado. Es conveniente obtener una nata con una riqueza del 18 al 25% de grasa para evitar los problemas de batido y separación de la materia grasa.

Para obtener 1 kg de leche en polvo integral, se necesitan en

promedio 8.3 kg de leche líquida. Si se desea fabricar una leche en polvo de 25% de grasa, basta dividir este número entre 8.3 (factor de rendimiento) para saber la concentración de la materia grasa que deberá tener la leche de partida, pero para obtener un margen de seguridad se proporciona un porcentaje ligeramente más alto, por ejemplo 26.5:

$$26.5 / 8.3 = 3.19 \%$$

Esto es, en la grasa de leche fluida debe ser: 3.2% (1) (si no fuese así, quiere decir que le fué extraída la grasa, y los subproductos que se obtienen de ella no tendrían las características deseadas, como se ha visto en algunos de los productos estudiados). La homogenización se realiza para mejorar la emulsión y la distribución de la materia grasa, así como facilitar la reconstitución de la leche en polvo entera.

La tabla 3.2 detalla la composición de la leche entera en polvo, la leche descremada en polvo y la leche bronca, (29, 32, 76).

La principal precaución a tomar durante el envasado es la eliminación del oxígeno presente. Se ha demostrado que la leche en polvo envasada en caliente (49 a 52°C) contiene menos oxígeno que si se envasa fría (29 - 30°C). Si la leche en polvo se mantiene caliente durante demasiado tiempo, su solubilidad y su capacidad de conservación disminuyen, sobre todo si está almacenada en grandes contenedores.

En algunos países, no está permitido el uso de antioxidantes, por lo que la leche en polvo entera solo se conserva de 3 a 6 meses, excepto cuando después del envasado contiene menos del 2% de oxígeno residual. Por esta razón se utilizan para este producto envases rígidos, generalmente metálicos que permiten aplicar a la

TABLA 3.2. Composición de tres tipos de leches.

COMPONENTES	LECHE		
	BRONCA	ENTERA EN POLVO	DESCREMADA EN POLVO
Agua	87.5	4.0	5.0
Materias grasas	3.5	26.0	1.5
Materias nitrogenadas	3.3	27.0	34.0
Lactosa	4.9	37.0	50.0
Minerales	0.8	6.0	8.0
Extracto seco desengrasado	9.0	70.0	93.5

leche un vacío de unos 73 cm Hg durante al menos 2 minutos o un tratamiento equivalente. Antes de cerrar el envase, se reemplaza el aire por un gas inerte, como dióxido de carbono (CO₂), nitrógeno o una mezcla de ambos.

Sin embargo, el oxígeno aprisionado entre las partículas de polvo o disuelto en la grasa no se elimina por completo y después de algunos días se produce una desorción del mismo. Para conservar la leche en polvo alrededor de dos años se considera aceptable un porcentaje máximo de 3% de oxígeno desarrollado al cabo de 7 días.

La rancidez puede desarrollarse en las leches en polvo entera y parcialmente desnatada produciendo un sabor a rancio que se debe a la hidrólisis de la grasa causada por la lipasa que libera ácidos grasos de fuerte olor y sabor amargo. Las principales causas son un precalentamiento insuficiente o la contaminación de la leche tratada con leche cruda, (1, 34). Como la rancidez, el defecto de oxidación está relacionado con la materia grasa. La presencia de oxígeno y de algunos metales pesados y la ausencia de agentes antioxidantes favorecen su aparición. El desarrollo de los sabores de oxidación es el factor más limitante para la conservación de la leche en polvo entera, a este respecto, hay que tener en cuenta los siguientes aspectos:

- 1) El desarrollo de acidez favorece la oxidación de la materia grasa.
- 2) La contaminación con hierro y cobre tiene el mismo efecto.
- 3) Una adecuada clarificación y homogenización de la leche aumenta su resistencia a la oxidación.
- 4) El precalentamiento de la leche a altas temperaturas contribuye a la formación de compuestos reductores que protegen la

materia grasa frente a la oxidación.

- 5) La concentración de la leche hasta un alto contenido en extracto seco disminuye los riesgos de oxidación.
- 6) La baja humedad de la leche en polvo es esencial para evitar o retrasar este efecto.
- 7) El envasado en una atmósfera de gas inerte es una buena medida de protección.

La leche en polvo entera es difícil de dispersar en el agua debido a la hidrofobicidad de la grasa. Durante la desecación, una parte de los glóbulos grasos se descomponen, la grasa se acumula en la superficie de las partículas repeliendo el agua y dificultando la disolución. La lecitina es una sustancia que tiene propiedades lipofílicas e hidrofílicas y puede utilizarse para recubrir la superficie de las partículas de polvo, sirviendo literalmente de puente entre la materia grasa y el agua, facilitando así la dispersión del producto. Generalmente, el vector utilizado para aplicar la lecitina es el aceite de mantequilla. (4).

Como resultado del calor y la humedad, existe un rearrreglo químico de ciertos ácidos grasos que provoca una pérdida de sabor en la leche entera en polvo. La interacción grasa-sabor es de particular importancia ya que durante el proceso, la grasa puede sufrir oxidación y producir sabor a cocido en la leche reconstituida. (76).

En experimentos recientes se ha manufacturado leche en polvo para infantes la cual contiene polvo de suero lácteo, vitaminas, minerales, glicomacropéptidos, aceites vegetales y leche descremada con el objeto de obtener un producto altamente nutritivo. (77, 78).

3.4.8.3. Leche condensada. Puede existir condensada desnatada y

leche condensada entera, la cual contiene una proporción de grasa con respecto al total de sólidos de 1:2.44.

La cantidad de azúcar agregada es 15-17% del peso inicial de la leche, de tal manera que su concentración en el agua de la leche condensada es alrededor del 62%, esto aumenta considerablemente el contenido energético, pero reduce significativamente la proporción proteica en el total de los sólidos por lo que no es conveniente como alimento para niños, (1, 66). La composición de este tipo de leche es variable de acuerdo con las reglamentaciones vigentes en cada lugar. Generalmente el producto puede tener:

Materia grasa	8-9 %
Sólidos no grasos	20-22 %
Proteínas	7-8 %
Agua (máximo)	25.5 %
Lactosa	10-11 %
Minerales	1.5-1.8%
Azúcar	44.5-45.0%

3.4.9. Leches Medicinales.

Son aquellas leches sometidas a condiciones especiales de comercialización, se utilizan únicamente para la alimentación de individuos que padecen ciertas afecciones patológicas, como por ejemplo las leches de composición lipídica modificada, especialmente para algunos individuos que padecen diarreas, (54).

3.5. Helado.

La antigüedad de los helados se remonta hasta 1774, pero la historia de la industria heladera comenzó hasta 1851, año en que

Jacob Fussell considerado como el padre de esta industria en América, fundó la primera fábrica de helados en Baltimore, Maryland. A partir de entonces, la evolución de esta industria ha sido constante.

La denominación de glace a la crème, crème glace o ice cream se reservan exclusivamente a los productos obtenidos por la congelación de una mezcla pasteurizada de leche, nata y azúcar (sacarosa) aromatizada en condiciones definidas con frutas, jugos de frutas o de un aroma natural autorizado, (27).

La mezcla típica de los helados de crema contiene 10 % de grasa láctea, 11 % de extracto seco magro, 14 % de azúcar y 0.3 % de aditivos, tal como emulsionantes, estabilizadores, sustancias aromáticas y colorantes. La mezcla homogénea se convierte en helado por "congelación", que significa que se enfría rápidamente de -4 a -6°C, al mismo tiempo que se bate con aire. Ambos procesos deben tener lugar simultáneamente; después de congelar no puede incorporarse aire con el batido y éste, sin congelación no origina una espuma estable. En los productos llamados helados de leche, helados de crema o crema helada, toda la grasa debe ser grasa de leche (Figura 3.4) (2,66).

Las principales funciones ejercidas por los componentes del helado son las siguientes:

Materia grasa: Los principales factores a tener en cuenta en la utilización de la grasa son: el costo, ya que es uno de los ingredientes más caros del helado y la calidad del producto. La materia grasa da al producto excelentes características de sabor y textura, sin embargo el exceso de grasa dificulta el batido. Es importante recalcar que la grasa no es más que uno de los factores

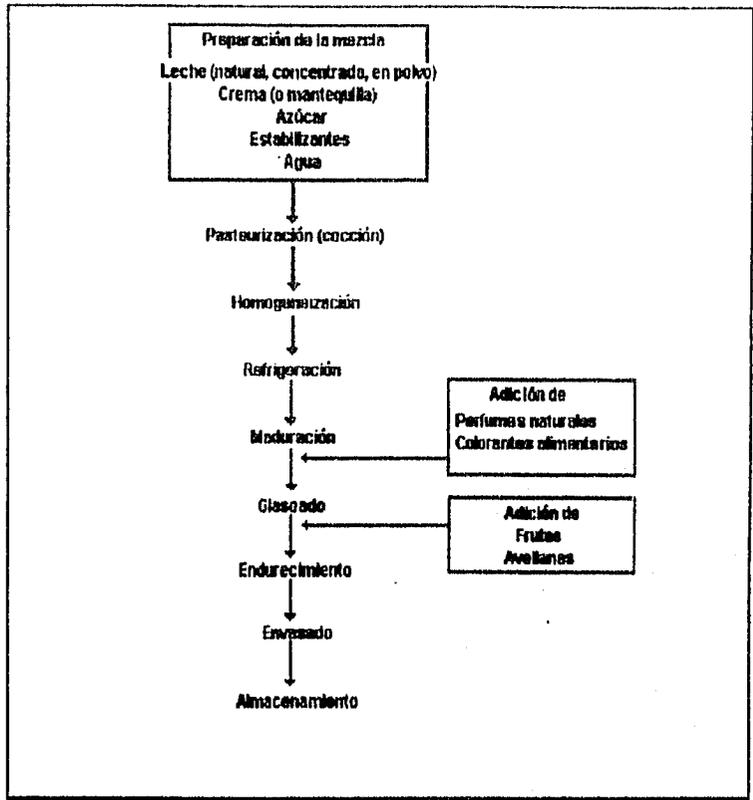


FIGURA 3.4 DIAGRAMA DE FABRICACIÓN DE HELADO

que determinan la calidad del helado; aumentando su proporción no se corregirán los defectos originados por la utilización de una mezcla mal equilibrada, ingredientes de mala calidad o un proceso de fabricación incorrecto.

Fuentes de materia grasa: La materia grasa suele agregarse en forma de nata o de un producto más concentrado. El producto que da al helado un sabor más rico y cremoso es la nata dulce y por lo tanto es la mejor fuente de materia grasa concentrada. Las ventas de leche, productos lácteos y helados fluctúan considerablemente durante todo el año. Algunas veces se producen excedentes de nata dulce que pueden congelarse para posterior utilización. Con este fin, sólo se debe emplear nata de excelente calidad, que no contenga ni cobre ni hierro. Para conservarla mejor se le suministra un tratamiento equivalente a 75°C durante 15 minutos. La adición de azúcar (10%), también protege la conservación, además hace que la nata congelada funda más rápidamente y que la separación de la materia grasa sea menor, disminuye el punto de congelación, aumenta la viscosidad y le da un sabor dulce. La nata congelada debe mantenerse a una temperatura inferior a -20°C y preferiblemente durante un tiempo máximo de seis meses. Si se añade azúcar aumenta el volumen que hay que congelar y por lo tanto, el costo de la conservación. La nata congelada puede servir para suministrar el 100% de MG del producto, pero puede tener un efecto negativo sobre el sabor y la estabilidad del helado. En general se recomienda agregar a la mezcla un máximo de 40 a 60% de MG en forma de nata helada.

Se pueden utilizar otras fuentes de MG concentrada, tales como

la mantequilla no salada o el aceite de mantequilla. Cuando estos productos son de buena calidad puede suministrarse del 40 al 75 % de la MG del helado. En este caso, se recomienda corregir la deficiencia del fosfolípido, incorporando los agentes emulsionantes apropiados, (27).

Estabilizadores: es corrientemente un polisacárido, como alginato, carragenato, goma de garrofa o carboximetil-celulosa; en ocasiones se emplea la gelatina, que aumenta la viscosidad e incluso da al helado fundido propiedades de gel. Sin embargo el exceso de estabilizadores causa una sensación desagradable en la boca. En la mezcla destinada a la fabricación de helados forman las emulsiones un complejo con la grasa y la proteína, estabilizando así la emulsión. Al enfriar y batir el helado en el congelador, se desestabiliza una parte de la grasa emulsionada y los glóbulos grasos se aglomeran para formar racimos. Este proceso resulta controlado por la clase y cantidad del emulsionante.

Los cristales de hielo son indispensables para dar consistencia y sensación de frescura; las bajas temperaturas disminuyen el sabor dulce. Los cristales de hielo no deben ser demasiado grandes para evitar la sensación de arenosidad en la boca.

Las burbujas de aire tienen tres funciones principales. Hacen mas ligero al helado que sin aire sería demasiado rico. Le proporcionan blandura y por lo tanto lo convierten en deformable durante la masticación. Actúan de aislante frente al frío excesivo; sin aire el frío sería demasiado intenso en la boca. Generalmente el contenido de aire es del orden de 50 % en volumen. (27).

3.6. Queso.

El término actual de "queso" deriva del latín "caseus". La FAO ha redactado un "Codigo de principios" en el que se da la siguiente definición: "Queso es el producto fresco o maduro obtenido por drenaje (del líquido) tras la coagulación de la leche, nata, leche desnatada total o parcialmente, grasa láctea o una combinación de estos componentes", (79).

El queso es el resultado de la concentración selectiva de la leche. El agua se elimina en una proporción distinta en cada variedad, arrastrando con ella una parte de los elementos solubles y de las proteínas no coaguladas que contiene la leche.

El primer paso en la fabricación tradicional del queso es la coagulación de la leche (también llamada cuajada) con ácido láctico o cuajo (extracto de estómago de ternero que contiene la enzima que coagula la leche). Esta enzima al igual que los ácidos hacen que la caseína de la leche se coagule y precipite, atrapando la grasa de la leche, por lo que la cuajada contiene: la caseína, la grasa, el suero de la lactosa, las proteínas del suero y gran parte del contenido en sustancias minerales (Figura 3.5). En la siguiente figura se ilustra la formación de la cuajada a partir de la leche y la formación de la cuajada enzimática como la ácida.

La cuajada enzimática se observa cuando se añade a la leche tibia una cantidad suficiente de cuajo. Es el sistema de coagulación más ampliamente empleado en quesería. Se forma produciendo una proteólisis limitada de la caseína con lo cual pierde sus propiedades estabilizantes en presencia de calcio respecto de las caseínas. Las micelas de caseína, cuya estructura se ha modificado, se agregan en flóculos y después en fibras que

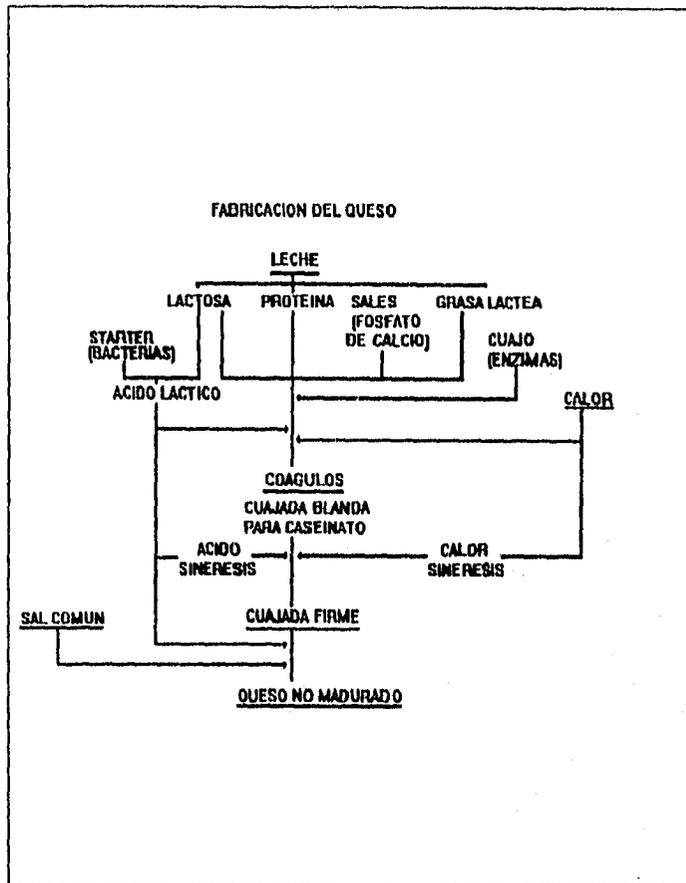


FIGURA 3.5. FABRICACION TRADICIONAL DE QUESO NO MADURADO.

finalmente constituyen una red tridimensional cuya estructura se elabora progresivamente.

La cuajada ácida se observa casi siempre que se abandona a su suerte una leche recogida de forma adecuada. Las bacterias, presentes siempre, degradan la lactosa para formar ácido láctico, que reduce el pH de la leche provocando la alteración de las micelas de caseína. Cuando el pH de la leche llega a ser 5.2, a 20°C, las micelas se han desestabilizado suficientemente para aglomerarse y formar un gel láctico. Para alcanzar este estado completamente es necesario acidificar la leche hasta un pH de 4.6 a pH que corresponde al punto isoeléctrico de la caseína llamada "ácida" que nada en el lactosuero que contiene todo el calcio micelar en estado disuelto.

La segunda etapa consiste en la deshidratación más o menos intensa de este coágulo para obtener una pasta de consistencia variable; es el descremado o sinéresis.

Tercera etapa; la maduración, durante la que por acción de los microorganismos y las enzimas, se producen diversas modificaciones que dan lugar a distintas variedades de queso, (4). La materia grasa influye en la textura, el sabor, el rendimiento y algo en el color. En este proceso de maduración se desarrolla el aroma y tienen lugar diversas modificaciones físicas en la pasta, por ejemplo la textura se vuelve más untuosa, aparecen agujeros u ojos y se forma la corteza superficial.

Las enzimas naturales más importantes de la leche son las lipasas y las proteasas, participan en la maduración, pero su acción es lenta ya que se destruyen en parte durante la pasteurización de la leche, además de que las condiciones no son

óptimas para la maduración: la temperatura es demasiado baja y el pH generalmente es muy ácido.

El grado de lipólisis equivale a la cantidad de ácidos grasos liberados que se expresan como acidez de la fase grasa del queso. La proporción de ácidos grasos libres originados en la lipólisis varía según los tipos de quesos. Por su parte, los ácidos grasos liberados también sufren transformaciones. Por oxidación los ácidos grasos saturados originan metilcetonas, componentes importantes en el desarrollo del aroma típico de los quesos azules. La lipólisis lenta y parcial de algunos componentes de la grasa, conduce a la formación de compuestos que intensifican el aroma de algunos quesos de maduración larga. Cuando se produce una liberación excesiva de ácidos grasos, en particular de ácido butírico, se presentan en el queso graves defectos del aroma. Los principales componentes aromáticos son generalmente los ácidos grasos, aldehídos, cetonas, alcoholes, aminas, ésteres y compuestos sulfurados, (4).

Grasa láctea: La grasa de la leche constituye la fuente a partir de la cual se forman algunos componentes que son los responsables en parte del aroma, el bouquet y la textura de los quesos maduros. (Figura 3.6). En esta figura se muestra el proceso de maduración de la misma, en el que se incluyen las enzimas que intervienen procedentes de diversos orígenes:

- a) Las enzimas coagulantes.
- b) Las enzimas originales de la leche.
- c) La actividad metabólica de los microorganismos y las enzimas que de ella resultan y que son las causantes de la proteólisis, de la lipólisis, de la glicólisis, de la producción de gases, de la producción de aroma, así como también de la aparición de la

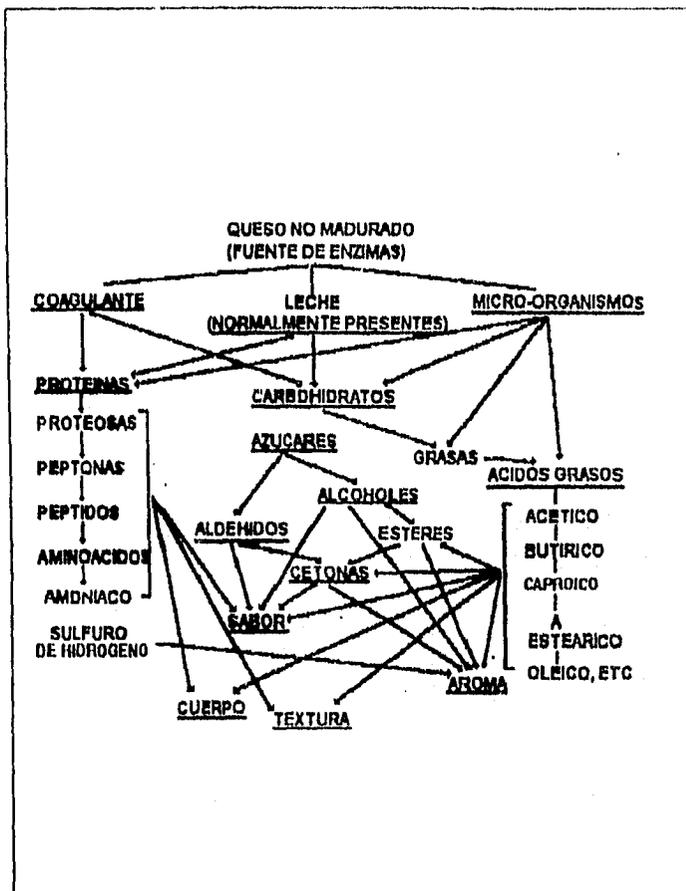


FIGURA 3.6. MADURACIÓN ENZIMÁTICA DE QUESO NO MADURADO.

flora de maduración y de la flora contaminante.

Una de las condiciones indispensables para que la maduración se desarrolle de una forma óptima y por lo tanto para obtener un queso de buena calidad es la formación de una flora específica de maduración. Se caracteriza fundamentalmente por ser una flora superficial y por la formación de agujeros en el interior de la pasta del queso.

Estos procesos se reflejan y se muestran en las transformaciones organolépticas que experimenta el queso durante la maduración.

El aroma está determinado principalmente por los componentes volátiles que se liberan en la cuajada durante su maduración. Entre estos compuestos se encuentran los ésteres, los ácidos grasos, los aldehídos, las cetonas, los alcoholes, las aminas, el anhídrido sulfuroso y el amoníaco. De ellas, los aldehídos, las cetonas y los alcoholes son probablemente los más importantes.

La influencia de la grasa en estas características depende, no sólo de la variedad de queso elaborado sino también de la composición y propiedades físicas de este componente. Los quesos que no contienen grasa, suelen secarse y endurecerse excesivamente. Cuando son frescos, tienen poco sabor y no dan lugar al típico aroma a queso. De hecho la sola presencia de un 1% de grasa de quesería ya le imparte al queso un aroma característico, que no se produce en los que no lo poseen, (79).

Rendimiento en grasa: Varios factores influyen sobre la cantidad de grasa de la leche que pasa al queso. La grasa se encuentra en la leche en forma de pequeños glóbulos; los que pasan en mayor proporción al queso son los de dimensiones medias, seguidos de los de tamaño reducido. Este hecho se debe a que al coagular la leche,

y especialmente si la coagulación es lenta, los glóbulos grasos de mayor diámetro ascienden a la superficie para formar nata, no se incorporan a la cuajada y pasan al suero; mientras que los de menor diámetro no siempre son retenidos por la cuajada y son arrastrados por el suero. Si la leche se homogeniza los glóbulos grandes se reducen de tamaño y las pérdidas de grasa en el suero disminuyen, aumentando así el rendimiento quesero de la grasa, (80).

La relación caseína/grasa, determina la calidad del queso. Cuando esta relación se halla desequilibrada, la textura del queso es demasiado blanda o bien demasiado dura, a menos que el proceso de elaboración se modifique adecuadamente para ajustar el contenido de agua como ocurre en la elaboración de quesos magros, (79).

Clasificación de quesos: Además de la gran variedad de quesos, las diferencias existentes dentro de cada variedad con respecto al tamaño, forma, presentación, tipo de leche empleada, sistema de fabricación, etc. hace que su clasificación resulte extremadamente complicada.

Las características de cada queso vienen definidas por su tamaño, forma, peso, color y aspecto externo, así como algunos datos analíticos, como son: su contenido de grasa, sal, humedad, extracto seco magro, etc. Las características de aroma y bouquet son más difíciles de establecer, ya que están determinadas en parte por el tipo de leche (vaca, oveja, cabra o búfalo) y que pueda además emplearse sola o mezclada para la fabricación del queso.

Una clasificación muy amplia sería la que se muestra en la Tabla 3.3, en la cual no se incluyen el grado de maduración, el tamaño, la forma o el aspecto externo, ni se mencionan tampoco las características de la corteza (ya sea normal, corteza madura por

TABLA 3.3 Clasificación de los quesos según su composición.

TIPO DE QUESO	AGUA SOBRE ESM %	GRASA SOBRE EST %	DESCRIPCION
Extraduro	< 51	> 60	Queso muy graso
Duro	49 a 55	> 45 < 60	Queso de leche entera
Semigraso	53 a 63	> 25 < 45	Queso semigraso
Semiblando	61 a 68	> 10 < 25	Queso magro
Blando	> 61	> 10	Queso de leche desnatada

ESM = Extracto Seco Magro

EST = Extracto Seco Total

mohos, queso de vena azul, etc.). Por ello, parece más útil incluir en ella, aquellas variedades de queso que mejor representan los tipos clasificados, (80).

3.7 Leches fermentadas.

Los productos lácteos fermentados, leches fermentadas o productos de leche ácida, se caracterizan porque obtienen su carácter ácido y su textura típica por experimentar una fermentación láctica unida a una producción de aroma.

Las leches fermentadas están entre los productos lácteos que gozan de una creciente demanda por parte de los consumidores y contribuyen notablemente a equilibrar el estancado y parcialmente en retroceso, consumo de leche.

La inmensa variedad de complementos que se les puede incorporar no sólo permiten ofrecer al consumidor una amplia gama de productos, sino que hacen posible reducir el contenido calórico de los alimentos con vistas a lograr unos hábitos alimenticios más sanos. Como ejemplo valgan los yogures de leche desnatada con o sin edulcorantes artificiales y los productos fermentados elaborados con leche semidesnatada y enriquecida con proteínas. Algunos de estos productos se han hecho famosos incluso en zonas muy lejanas de su lugar de origen y se fabrican actualmente en todos los países. El más conocido es sin lugar a dudas, el yogurt, que es originario de Bulgaria, pero también el kumys y el kefir, originarios del Cáucaso, gozan de una gran difusión internacional.

Todos estos productos se pueden producir tanto con leche entera, como normalizada a un contenido de grasa (a veces muy bajo) y con leche desnatada. También se considera un producto de leche fermentada la mazada o suero de mantequería, obtenida como

subproducto en la elaboración de la mantequilla ácida.

Estos productos, según su textura, pueden ser geles consistentes, líquidos, batidos o bebidas.

3.7.1. Yoghurt.

Es un producto líquido resultado de la fermentación de leches mediante la adición previa de un cultivo de yoghurt a la leche pasteurizada, en ocasiones homogenizada en el contenido de grasa, o a la leche fresca desnatada; que puede contener productos estabilizadores, (81).

Se puede preparar con leche de cabra, de oveja y de burra, pero lo más común es prepararlo con leche de vaca.

La fermentación del yoghurt es el resultado de la actuación de dos formas lácteas: *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. A los lactobacillus se les atribuye una producción alta de ácido láctico mientras que a los estreptococos producen una menor cantidad de ácido, pero originan un aroma característico. La leche cuaja cuando su acidez alcanza 65 a 70 °D.

El contenido de grasa en los distintos tipos de yoghurt elaborados en distintas partes del mundo varía de 0.1 a 10 %, siendo necesario estandarizar la composición de la leche para cumplir las especificaciones fijadas por las normas legales o por la composición recomendada para el yoghurt. En México el contenido de grasa según la Norma Oficial Mexicana se muestra en las tablas 3.4 y 3.5.

Los métodos empleados para la estandarización de la leche incluyen:

1. Eliminación de parte de la grasa de la leche (mediante centrifugas).

TABLA 3.4. Composición de grasa en Yoghurt natural.

	LECHE ENTERA		LECHE PARCIALMENTE DESCREMADA		LECHE DESCREMADA	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
Grasa, %	2.5	-	1.0	-	-	0.5

TABLA 3.5. Composición de grasa en yoghurt con fruta y aromatizado.

ESPECIFICACIONES	LECHE ENTERA		LECHE PARCIALMENTE DESCREMADA		LECHE DESCREMADA	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
Grasa, %	2.0	-	0.8	-	-	0.40

3. Mezcla de leche entera y leche desnatada.
2. Adición de nata a leche entera o desnatada.
4. Utilización de una combinación de los métodos 1 y 3, es decir, utilización de centrifugas para la estandarización.

El grado de lipólisis es mayor en los yoghurts con un elevado contenido en grasa.

Cuando se trabaja con leche entera, la homogenización logra efectos singulares, ya que reduce el tamaño de los glóbulos evitando la separación de la grasa durante la incubación, además de que mejora la viscosidad y textura del producto. Sin embargo la intensidad de la lipólisis en la leche homogenizada es muy superior a la que tiene lugar en la leche no homogenizada, debido en gran parte a la destrucción de la membrana del glóbulo graso.

El acetaldehído es uno de los principales componentes del aroma del yoghurt. Sin embargo, el diacetilo y la acetona podrían sustituirlo cuando la producción de acetaldehído es escasa y se quiera mantener la finura del aroma, otros componentes posibles relacionados, quizá indirectamente con el aumento del aroma característico o que podrían actuar como precursores de los principales responsables del aroma del yoghurt, son los ácidos grasos volátiles: ác. acético, ác. propiónico, ác. butírico, ác. isovalérico, ác. caprónico, ác. caprílico y ác. cáprico. (82, 83, 84).

Las lipasas del yoghurt pueden proceder del mismo cultivo o de los microorganismos contaminantes que resisten el tratamiento térmico de la leche. Cualquier incremento en la concentración de ácidos grasos volátiles en el yoghurt puede atribuirse al metabolismo lipídico de los microorganismos incluyendo L.

bulgaricus y *S. thermophilus*.

Algunos investigadores han comprobado una apreciable pérdida de lípidos, habiendo observado una disminución del 3 al 4% de la grasa en yoghurt almacenado durante 21 días a 4°C debido a la actividad lipásica de *S. thermophilus* y *L. bulgaris*. Sin embargo este hecho no ha sido completamente comprobado. (85).

Durante la elaboración y almacenamiento del yoghurt se observa un apreciable aumento de la concentración total de ácidos grasos en el producto. El incremento de la concentración de ácidos grasos volátiles en el yoghurt depende de varios factores, como la cepa del cultivo utilizado, el tipo de leche, la duración y temperatura de incubación, la temperatura aplicada durante el tratamiento térmico de la leche. Sin embargo, se ha observado un ligero descenso de los ácidos grasos volátiles en presencia de bajas concentraciones de ácido cítrico en la leche, (86).

El origen de los ácidos grasos volátiles en las leches fermentadas, en particular desnatadas, pueden no ser resultado del metabolismo lipídico de los microorganismos del yoghurt, sino de la degradación de otros componentes de la leche, como los aminoácidos en el curso de la desaminación oxidativa y la descarboxilación, los aminoácidos son escindidos dando lugar al correspondiente ácido graso volátil.

Se considera que la actividad esterasa (lipasa) detectada en las bacterias del yoghurt está directamente relacionada con la acción de enzimas proteolíticas, más que con lipasas. Tal conclusión está de acuerdo con la elevada producción de ácidos grasos volátiles por acción de *L. bulgaricus*, probablemente debido a las péptido-hidrolasas, (87,88).

bulgáricus y *S. thermophilus*.

Algunos investigadores han comprobado una apreciable pérdida de lípidos, habiendo observado una disminución del 3 al 4% de la grasa en yoghurt almacenado durante 21 días a 4°C debido a la actividad lipásica de *S. thermophilus* y *L. bulgaris*. Sin embargo este hecho no ha sido completamente comprobado, (85).

Durante la elaboración y almacenamiento del yoghurt se observa un apreciable aumento de la concentración total de ácidos grasos en el producto. El incremento de la concentración de ácidos grasos volátiles en el yoghurt depende de varios factores, como la cepa del cultivo utilizado, el tipo de leche, la duración y temperatura de incubación, la temperatura aplicada durante el tratamiento térmico de la leche. Sin embargo, se ha observado un ligero descenso de los ácidos grasos volátiles en presencia de bajas concentraciones de ácido cítrico en la leche, (86).

El origen de los ácidos grasos volátiles en las leches fermentadas, en particular desnatadas, pueden no ser resultado del metabolismo lipídico de los microorganismos del yoghurt, sino de la degradación de otros componentes de la leche, como los aminoácidos en el curso de la desaminación oxidativa y la descarboxilación, los aminoácidos son escindidos dando lugar al correspondiente ácido graso volátil.

Se considera que la actividad esterasa (lipasa) detectada en las bacterias del yoghurt está directamente relacionada con la acción de enzimas proteolíticas, más que con lipasas. Tal conclusión está de acuerdo con la elevada producción de ácidos grasos volátiles por acción de *L. bulgaricus*, probablemente debido a las péptido-hidrolasas, (87,88).

3.7.2. Kefir.

El Kefir es un producto lácteo fermentado obtenido con un cultivo de kefir y con leche fresca pasteurizada, normalizada en su contenido en grasa o desnatada, mediante un proceso de fermentación láctica y, en menor grado, de un proceso de fermentación alcohólica. El contenido de grasa en el producto obtenido de leche normalizada debe ser de 2.5%.

El cultivo del Kefir está compuesto fundamentalmente por granos o gránulos de kefir (también hongos de kefir), que son los responsables de la fermentación. Entre las especies bacterianas que suelen encontrarse están las siguientes: *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus caucasicum*, *Leuconostoc kefir*, etc. Entre las especies de levaduras están: *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir*, etc. Las levaduras son las responsables de la estructura de red de los granos de kefir, así como de la producción de alcohol y de CO₂. Las bacterias son las principales causantes de la acidificación. (81, 89).

3.7.3. Leche acidófila.

La leche acidófila es un producto ácido obtenido de leche normalizada y ligeramente enriquecida en su extracto seco. El microorganismo que típicamente produce esta fermentación es el *Lactobacillus acidophilus* (*Thermobacterum intestinale*).

Los requisitos esenciales que debe reunir este producto son los siguientes:

Contenido en grasa del producto elaborado con leche normalizada	2.5%
Índice de SH	25-50

Temperatura maxima

B°C

Bacterias coliformes

No evidenciables en 0.01 cc.

3.7.4. Mazada.

La mazada o suero de mantequería es un producto que se obtiene como subproducto en la elaboración de mantequilla por el procedimiento de aglomeración de los glóbulos grasos. Dependiendo de que se procese nata ácida o nata dulce, se obtiene mazada ácida o mazada dulce (no acidificada). La mazada de nata ácida es la que normalmente se conoce como mazada. Se utiliza fundamentalmente como leche fermentada para la alimentación humana.

La mazada, aparte de poseer las típicas propiedades dietéticas y fisiológicas de todos los productos lácteos fermentados, presenta un contenido relativamente alto en fosfolípidos procedentes, fundamentalmente de las membranas de las envolturas de los glóbulos grasos (lecitinas, ácido fosfórico unido al glicerol y a los ácidos grasos). La lecitina es un elemento importante como componente del encéfalo y de los nervios.

La calidad de la mazada depende fundamentalmente del tratamiento de la nata y del proceso de batido. La composición, o contenido de nutrientes en %, ha de ser la siguiente:

Agua	91.3...92.0
Extracto seco	8.0...9.0
Grasa	0.3...0.6(en ocasiones > 0.6...1.5)
Proteínas	3.0...3.4
Lactosa	3.0...3.6
Sales minerales	0.7
Acido láctico	0.7

El contenido de grasa debe mantenerse lo mas bajo posible, pero si es mayor de 0.6% es conveniente enriquecerlo aun más y comercializar el producto como mazada enriquecida con un 1% de grasa.

El contenido de grasa depende sobre todo de la refrigeracion de la nata, de la maduración de esta y de la temperatura de batido. Un incremento de la temperatura en 2° puede traducirse en un incremento de 0.05% del contenido de grasa. (81).

3.7.5. Leches fermentadas concentradas.

Parecen tener su origen en los países escandinavos y tienen nombres variados, que significan normalmente leche "espesada". tykmaelk, laktofil.

Se obtienen por fermentación en masa de la leche concentrada con un 15% de extracto seco total y 4% de materia grasa.

Estas leches concentradas fermentadas tienen un sabor muy agradable cuando se consumen en frío; gustan a los consumidores que aprecian una acidez menos intensa que la del yogurt ordinario. (34).

3.8. Sustitutos de la leche.

En los últimos años numerosos países han trabajado en la sustitución parcial de grasa láctea por grasa vegetal en diversos productos lácteos tales como: mantequilla, queso, helado y otros, con el fin de reducir los consumos de grasa animal por su incidencia en la aparición de enfermedades circulatorias y cardiovasculares. Los niveles de sustitución dependen del tipo de aceite que se emplea.

Uno de los problemas que presenta la leche, es la incapacidad de algunas personas de digerir este alimento lo que les hace

alérgicos a él.

Basicamente para la elaboración de sustitutos de leche se deben tomar en cuenta las proteínas, grasas y carbohidratos, siendo las primeras el componente menos accesible a bajo costo, sobre todo cuando son de origen animal. Es conveniente formular un sustituto de leche procurando que este tenga una buena calidad al menor precio, (90).

A pesar de que existen muchas tecnologías que utilizan productos de origen vegetal para la elaboración de sustitutos de la leche, aún no se usan ampliamente debido a que las poblaciones tienen preferencias organolépticas por alimentos de origen animal. Se han revisado métodos de obtención de un sustituto de leche de origen vegetal, a partir de un producto disponible a bajo precio y con buenas características nutritivas como lo es una oleaginosa (frijol de soya).

La cascarilla, el hipocotilo y el cotiledón de la soya están constituidos fundamentalmente por proteínas, grasas y carbohidratos. En los cotiledones, el aceite está almacenado en pequeños compartimentos llamados esferosomas (0.2-0.3 μ de diámetro).

Las harinas de soya deben sujetarse a un tratamiento térmico con vapor para inactivar las enzimas que oxidan las grasas y que propician la formación de los compuestos responsables del sabor, amargo característico de la soya.

Los lípidos de las harinas sin desgrasar contribuyen al valor nutritivo de la soya, ya que su aceite contiene un alto porcentaje de ácidos grasos indispensables poliinsaturados (aproximadamente 50% linoléico y 9% linolénico). Se puede deducir que estas harinas,

al tener una gran concentración de ácidos grasos insaturados, son muy propensas a reacciones de oxidación que traen consigo una pérdida tanto en el valor nutritivo como en la calidad de la harina. sin embargo, hay procesos industriales de molienda de la soya que no dañan los esferosomas donde se encuentra el aceite y por lo tanto se reducen considerablemente las reacciones de oxidación. Además las lecitinas y los tocoferoles que contiene la soya funcionan como antioxidantes naturales y ayudan a estabilizar el aceite y evitar las reacciones de deterioro. La soya tiene un alto contenido en lecitina que hace a su aceite una buena fuente comercial de este valioso fosfolípido.

La leche de soya fue originalmente producida a escala comercial para la alimentación de infantes alérgicos a la leche de vaca. La UNICEF ha desarrollado varios proyectos de elaboración de esta leche en forma industrial para la alimentación de algunos pueblos asiáticos, (3).

También se han utilizado sabores que enmascaran al sabor indeseable, de ahí resultan leches de diversos sabores (chocolate, fresa, etc.). Los sabores de imitación tienen como objeto reproducir de la manera más cercana posible el aroma y el sabor de un determinado material, en la actualidad existen industrias dedicadas exclusivamente a la investigación y producción de estos sabores siendo accesibles a precios razonables.

Los aceites de soya se utilizan industrialmente en la manufactura de margarinas, aceites de mesa, mayonesas y en muchos otros productos para los que se requiere de aceites. Un subproducto de la refinación del aceite de soya es la lecitina, que se utiliza mucho en la formulación de alimentos debido a sus propiedades

emulsionantes y antioxidantes. Se usa en la producción de margarinas para evitar el sudado.

Dentro de las formulaciones de substitutos de la leche se ha elaborado leche desnatada de vaca con grasa vegetal: aceites de oliva y girasol, ambos ricos en ácidos grasos monoinsaturados y sin colesterol, consiguiéndose junto a las ventajas dietéticas de la leche desnatada (proteínas, lactosa, calcio, fósforo, etc.) y las de este tipo de ácidos grasos (aporte de los esenciales linoléico y linolénico), una ayuda para corregir el nivel de colesterol y en consecuencia una regulación metabólica.

Se han realizado estudios para evaluar diferentes niveles de sustitución de grasa láctea por grasa de origen vegetal en cremas heladas analizándose su influencia en el derretimiento, rendimiento y evaluación sensorial de este producto. Con un nivel de sustitución del total de la grasa hasta con un 25% de aceite de maíz, el producto mejora su calidad nutricional al elevar su contenido en ácidos grasos esenciales (linoléico y linolénico) obteniendo una evaluación sensorial de la calidad del producto excelente, (91).

Recientemente se ha utilizado el coco en la producción de leche vegetal, puesto que ya existe la tecnología para su elaboración en forma deshidratada, descremada y con buenas propiedades nutritivas, (3, 92).

También se ha enriquecido a la leche de vaca con ácido linoléico para obtener fórmulas (para infantes) fortificadas con grasas vegetales. Este tipo de leche se ha comparado con la leche humana y se ha visto que con la adición del ácido linoléico existe una mayor digestibilidad de la grasa, además de que este ácido es esencial

para el desarrollo del infante, (93).

Existen varias diferencias entre las leches de mujer y de vaca, tales observaciones han llevado al desarrollo de leches maternizadas y de fórmulas esenciales para niños lactantes.

La leche de vaca es mas pobre en glúcidos, ácidos grasos esenciales, hierro y vitaminas (A, B2, C, D, E, inositol). Por lo tanto, deberá ser enriquecida con estas sustancias.

La leche de vaca no contiene lisozima ni factores bifidógenos, es decir, factores de crecimiento (glúcidos y glucopéptidos) necesarios para el desarrollo de Lactobacillus bifidus en el intestino del lactante.

La leche de vaca contiene mayor cantidad de caseína y sales principalmente fosfatos y citratos de calcio. Por ello, su poder regulador es mayor.

Se llama leches dietéticas a las leches en que se ha completado su contenido hasta alcanzar el mismo valor que la leche humana, en: glúcidos (mezcla de lactosa de maíz, oliva y soya); ácidos grasos esenciales (adición de aceites de maíz, oliva y soya); hierro; vitaminas (A, D, B1, B2 y E); así como a las leches suplementadas con lisozima de clara de huevo y factores bifidógenos (adición de B-lactosa, cisteína e hidrolizados de mucinas que aportan oligosacáridos).

Se han realizado experimentos para crear una grasa de origen no lácteo, que sirva como sustituto en una leche para terneras. Los componentes de esta mezcla deben tener propiedades similares a la consistencia de la grasa de la leche. Las grasas y aceites con mayor semejanza a las características requeridas fueron grasa de puerco, aceite hidrogenado, aceite de hueso y aceite de girasol, (94).

Otras formulaciones han sido utilizadas para promover el destete y evitar problemas digestivos en el crecimiento de las crías del ganado. La composición de esta leche artificial, con la cual se han obtenido buenos resultados, contiene leches desnatadas, harinas de soya, ácidos grasos de C6-C10 o sus sales, suero lácteo seco, glucosa, ac. cáprico, vitaminas, minerales y otros ingredientes. (95, 96).

3.8.1. Mantequilla con aditivos y sustitución parcial de la grasa láctea por grasa vegetal.

Para aumentar el valor nutritivo de la mantequilla, ésta se enriquece con proteína agregando a la crema suero de manteca concentrada o leche desnatada, con lo que disminuye simultáneamente el contenido de grasa. La particularidad de esta mantequilla estriba en que la concentración de lactosa en plasma aumenta hasta 17%. Una mayor tasa de lactosa en la mantequilla origina la aparición de sabor ácido-dulzón. Para encubrir este sabor se emplean diversos aditivos, por ejemplo: jugos de frutas, extractos, café, cacao, miel, azúcar, sal común, mostaza, etc.

La mantequilla con un extracto seco desengrasado hasta en un 14% tiene buen aroma y sabor, así como una consistencia suficientemente plástica.

En la fabricación de diversos productos grasos, entre los que se cuenta la mantequilla, es conveniente sustituir parcialmente la grasa láctea por grasa vegetal. Como grasa vegetal se han empleado aceites de girasol y de maíz refinados y desodorizados. En la mantequilla terminada, la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados aumentará proporcionalmente a la grasa vegetal añadida, modificándose las constantes físicas y químicas de la mezcla de

grasa; disminuyen las temperaturas de solidificación y fusión, a la vez que aumenta el índice de yodo. Esto repercute sobre las propiedades de la mantequilla, como dureza y estabilidad ante el calor y también sobre la tasa de ácidos grasos libres. Sustituyendo el 30-55% de grasa láctea por grasa vegetal se obtienen en la mantequilla aroma y sabor admisibles. La mantequilla con 25% de grasa vegetal puede incluso no ser diferenciada por expertos con la composición tradicional.

La sustitución parcial de la grasa láctea por grasa vegetal en la mantequilla, aumenta ostensiblemente los contenidos de proteínas, fosfolípidos, ácidos grasos poliinsaturados y otras sustancias de valor biológico; con ello aumentan su importancia dietética y el valor biológico en comparación con la mantequilla tradicional. (70).

4 METODOS DE IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION

Es tal la importancia de la grasa a nivel nutricional e industrial que ningún método de análisis lácteo ha sido estudiado tan ampliamente como la determinación del contenido de grasa; son al menos unos 109 los métodos de grasa usados anualmente en todo el mundo.

En la literatura se encuentran informados diferentes métodos que son empleados para determinar grasa en leche. A continuación se mencionan los más representativos, los cuales están basados en dos principios fundamentales:

1.- Cantidad de grasa separada:

- Volumétricos

- a) Gerber
- b) Babcock
- c) Pruebas de detergentes
 - i) Método DPS
 - ii) Método TeSa
- d) Método de complejometría indirecta

- Ponderales

- a) Roese Gottlieb
- b) Mojonnier
- c) Werner-Schmid

2.- Propiedades de Glóbulos grasos y de los Triglicéridos:

- Electrónicos o instrumentales

- a) Milko Tester (turbidimetría)
- b) IRMA (absorción de radiaciones)
- c) Darison (ondas ultrasonoras)
- d) Espectrofotométricos

- e) Cromatografía de gases
- f) HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución)

Para cada uno de los métodos mencionados, como primer paso se lleva a cabo un tratamiento térmico para homogeneizar la muestra.

4.1 Métodos volumétricos

Los métodos volumétricos consisten en medir el volumen de la fase grasa separada de la acuosa por centrifugación, utilizando aparatos graduados llamados butirómetros.

4.1.1 Método Gerber

Esta prueba fué ideada por el Dr. Gerber entre 1892 y 1895.

En esta prueba se utilizan dos reactivos: el ácido sulfúrico y el alcohol isoamílico, teniendo como fundamento los siguientes puntos: Al mezclar el ácido sulfúrico con la leche, se hidroliza la proteína permitiendo que la grasa se separe.

Al aplicar la fuerza centrífuga, la grasa es forzada a acumularse en el cuello del butirómetro, debido a la diferencia en gravedad específica entre la grasa (g.e. = 0.93) y la solución ácida (g.e. = 1.43). En esta prueba se usan butirómetros Gerber cuya graduación puede ir de 0 a 90% de acuerdo al producto que se trate: leche 0-8%, leche descremada 0-0.5%, helados 0-25%, crema 0-50%, mantequilla 0-90%, queso 0-40%.

El ácido sulfúrico debe tener una densidad de 1.82 a 1.83. Este ácido disuelve rápidamente los sólidos no grasos, como la caseína, disminuye la viscosidad de la leche liberando de esta forma la grasa, genera una temperatura tal que permite que la grasa se

conserve en estado líquido para tener una separación adecuada de fases, no produce gases, no es volátil y es fácil de conseguir. Solo presenta una desventaja que es su alta peligrosidad por lo que se debe tener precaución al trabajar con él (97).

El alcohol isoamílico tiene como función disminuir la tensión interfacial grasa-agua, favorece la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa y previene la sulfonación y carbonización de la misma. Este reactivo no afecta los resultados ya que reacciona con el ácido sulfúrico formando un éster que es completamente soluble en el ácido.

4.1.2 Método de Babcock

Este método fue creado en 1890 y tiene el mismo principio que la prueba de Gerber, es decir, al mezclar el ácido sulfúrico y la leche el ácido disuelve los sólidos no grasos y permite que la grasa suba. El calor generado por la reacción licúa la grasa y facilita aún más la separación. El ácido también incrementa la diferencia entre el peso de la grasa y la solución, lo que hace que la fuerza centrífuga actúe con más facilidad.

Para esta prueba, a diferencia del Gerber, el ácido sulfúrico es el único reactivo que se emplea recomendándose una densidad de 1.825 g/ml a 20°C. Además de que se utilizan butirómetros y una centrifuga especiales, (97,98).

4.1.3 Método de complejometría indirecta.

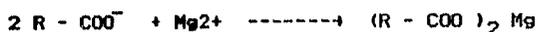
Este método se informa en la bibliografía (99), aplicado para derivados lácteos como mantquilla y crema. Uno de los compuestos

más empleados en este tipo de titulaciones es el ácido etilen - diamino-tetraacético (EDTA), que tiene ligandos covalentes para unirse a un ión metálico. Comúnmente se usa la sal disódica con dos moléculas de agua de cristalización. Un indicador usado en este tipo de titulaciones es el eriocromo negro T que es un ácido tribásico. La estabilidad de los complejos de este indicador con los iones Mg^{2+} y Zn^{2+} permite que durante la titulación con solución de EDTA el complejo formado se encuentre impartiendo color a la solución hasta que el punto de equivalencia se aproxima, siendo entonces cuando el color cambia por bajar la concentración del complejo, hasta su desaparición total quedando en su lugar el indicador sólo con su propia coloración roja, (100).

El método se fundamenta en que los glicéridos que constituyen la grasa se hidrolizan en medio hidroalcohólico con hidróxido de potasio, siguiendo la reacción:



Los aniones de los ácidos grasos ($\text{R} - \text{COO}^-$) en medio regulado (pH =10) precipitan con un exceso de solución valorada de $Mg \text{ II}$ de acuerdo con la siguiente reacción:



El precipitado anterior separado por filtración permite valorar en el filtrado el exceso de $Mg \text{ II}$ con solución de EDTA de igual molaridad en presencia de eriocromo negro T como indicador:



La diferencia entre el volumen agregado de disolución de $Mg \text{ II}$ y el

gastado de EDTA para valorar el exceso, permitirá deducir la riqueza de grasa del producto.

Cálculos.- Están fundados en el conocimiento del peso molecular medio de los ácidos grasos que constituyen las grasas estudiadas y del cual se ha podido deducir el peso molecular medio de los glicéridos de cada grasa (Pm).

Teniendo en cuenta la estequiometría de las reacciones expuestas en el fundamento del método, el factor F calculado, corresponde a la cantidad de grasa que ha sido precipitada por 1 ml de solución 0.05M de Mg II según:

$$1 \text{ ml. de Mg II } 0.05 \text{ M} = \frac{2 * Pm * 0.05}{3 * 1000} = F$$

Y el porcentaje de grasa de la muestra se deducirá de la diferencia entre los ml. de disolución de Mg II 0.05 M agregados y los ml. de EDTA de igual molaridad gastados de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\text{Grasa \%} = \frac{F (n - n') 500}{P}$$

Siendo n el número de ml. de Mg II 0.05 M agregados; n' los ml. de EDTA consumidos y P los gramos de muestra, (101).

4.1.4 Pruebas de detergentes.

El Dr. Phillip Schain introdujo en 1949 la adición de agentes surfactantes activos para la determinación de grasa, requiriendo solo de un baño de agua. Se utilizan dos soluciones de surfactantes;

la primera solución con el propósito de separar la grasa de los otros constituyentes de la leche y la otra, para clarificar los sólidos no grasos, lo cual facilita el ascenso de la grasa en el cuello del recipiente de medición.

Posteriormente se realizaron modificaciones como la llamada prueba DPS (Dairy Products Section).

a) Prueba DPS

La determinación a grandes rasgos consiste en colocar la muestra en el butirómetro, se agregan 5ml de reactivo (solución de tetrafosfato de sodio, NaHCO_3 y Tritón X-100) y se agita. El butirómetro se transfiere a un baño de agua hirviendo y después de un cierto tiempo se saca y se le agrega alcohol metílico (50% en volumen), se centrifuga y se transfiere a un baño de agua a 55-60°C, por último se lee el porcentaje de grasa, (97).

b) Prueba TeSa

En esta prueba se usa esencialmente una solución alcalina suave que contiene agentes dispersantes para su acción mecánica. Este método está aprobado por la AOAC y por la Dairy Herd Improvement Association. Se considera que esta prueba es exacta para la mayoría de productos lácteos tales como leche bronca, leche pasteurizada, homogeneizada o compuesta, leche con chocolate, postres con alto y bajo contenido de grasa, helados y crema.

El reactivo TeSa está compuesto por un agente solubilizante de proteínas, dos agentes dispersantes, un complemento alcalino y una solución amortiguadora. Esta mezcla de reactivos es suministrada como un polvo que se mezcla con agua antes de su uso.

Se utiliza un recipiente especial TeSa donde se adiciona además

de la muestra, metanol y el reactivo fava. El recipiente se coloca en un baño de agua hirviendo para después leer el porcentaje de grasa.

4.2 Métodos ponderales.

En estos métodos se lleva a cabo una extracción de la grasa con disolventes, generalmente éter. Estas extracciones se pueden realizar de una manera discontinua por decantaciones sucesivas (método de Roesa Gottlieb y Mojonnier) o de una manera continua en aparatos especiales hasta agotamiento (aparato Soxhlet).

Después de la evaporación del disolvente la grasa se obtiene por diferencia de pesos. (34).

Para las pruebas de extracción se usan los siguientes reactivos:

- Agua destilada.- Esta debe ser químicamente pura; se adiciona con el propósito de aumentar la fase acuosa para distinguir la fase etérea.

- Hidróxido de amonio.- Con una densidad de 0.8974 a 16°C; se usa para disolver la caseína que se encuentra en forma de partículas gelatinosas. También neutraliza la acidez del producto y reduce la viscosidad de la mezcla.

- Alcohol.- Con una concentración de 95% y una densidad de 0.8164 g/ml. Este reactivo previene la formación de mezclas gelatinosas que pueden ocurrir cuando el éter es agitado con la leche.

- Eter etílico.- Este reactivo tiene la propiedad de disolver compuestos que no sean solubles en hidróxido de amonio, como triglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos y vitaminas liposolubles.

- Eter de petróleo.- Este compuesto además de disolver materia grasa, tiene la propiedad de eliminar las trazas de agua que puedan estar presente en la fase etérea. (97).

4.2.1 Método de Roesse Gottlieb

Este método está reconocido por la AOAC como método oficial para la leche evaporada, se considera exacto y preciso. Se fundamenta en la extracción de la grasa con una mezcla de éter etílico y éter de petróleo, en presencia de amoníaco y etanol.

En un embudo de separación se coloca la muestra, hidróxido de amonio, etanol y éter etílico, se agita vigorosamente dejando escapar los gases formados por la parte inferior del embudo colocada hacia arriba. Después se adiciona éter de petróleo y se repite la agitación vigorosa. Se deja en reposo hasta separación de fases y la capa superior se presenta prácticamente clara, la fase etérea se decanta sobre una cápsula de porcelana, previamente tarada. Se repite la extracción de la fase acuosa remanente por dos veces consecutivas, pero utilizando menor cantidad de disolvente orgánico. Los extractos se evaporan a 30°C para después secar en una estufa a 100°C hasta peso constante.

El resultado se informa como porcentaje, previa corrección en base a una determinación en blanco.

4.2.2 Método Mojonier

Este método está basado en el Roesse Gottlieb, pero es más rápido porque está integrado por un aparato especial el cual determina además de la grasa, la humedad (sólidos totales).

El aparato de Mojonnier consta de tubos de extracción especiales que pueden centrifugarse en el mismo aparato; los reactivos se mantienen en recipientes especiales de fácil manipulación donde pueden medirse rápidamente; la evaporación del disolvente se realiza en estufa al vacío; la desecación se hace sobre parrillas de calentamiento y en desecadores; la pesada se realiza en una balanza analítica anexa. Todas estas facilidades juntas contribuyen a desarrollar el análisis con mayor rapidez y seguridad.

Esta determinación requiere los mismos reactivos que el método de Roesegottlieb. La técnica a seguir para esta prueba es la siguiente: En un tubo de extracción se colocan 10g de muestra, se añade hidróxido de amonio, alcohol, éter etílico y éter de petróleo con una agitación vigorosa, para después centrifugar los tubos. El extracto étereo se coloca en una capsula para evaporar en estufa al vacío y enfriar en desecador. En una segunda extracción se adiciona al residuo de la primera extracción, alcohol, éter etílico y éter de petróleo, se centrifuga y se coloca la solución etérea en la misma capsula usada en la primera extracción. La evaporación del éter se realiza en estufa al vacío termostáticamente controlada. La desecación del residuo se hace sobre placas de calentamiento y en desecadores con temperaturas controladas y finalmente la pesada puede hacerse en una balanza analítica anexa.

La determinación de sólidos totales consiste, a grandes rasgos, en pesar 2 g. de la muestra y extenderla sobre un recipiente especial con tapa que garantiza una evaporación uniforme a 180°C; se calienta hasta aparecer las primeras trazas de color marrón y posteriormente se transfiere a la estufa al vacío a una temperatura de 100°C por 10

minutos; se enfría en el desecador por 5 minutos y por último se pesa en la balanza para calcular el porcentaje de sólidos.

La prueba de Mojonnier también es útil para evaluar el contenido de grasa en productos tales como helados, leche evaporada, leche condensada azucarada, leche entera en polvo, mantequilla, queso y queso cottage, (97).

4.3 METODOS INSTRUMENTALES

A últimas fechas se han desarrollado modernos aparatos para la cuantificación de la materia grasa, los cuales son más rápidos y requieren menos personal. Estos métodos instrumentales se basan en las propiedades que presentan los glóbulos grasos o triglicéridos de dispersar la energía luminosa. Estos métodos se clasificaron de acuerdo a su principio o fundamento analítico:

Turbidez

Absorción de radiaciones

Ondas ultrasonoras

Espectrofotométricos

Cromatografía de gases

HPLC

4.3.1 Turbidimetría

Este método se fundamenta en el paso de luz a través de una capa de leche, provocando una pérdida de energía causada por la turbidez. Esta dispersión de luz depende de dos factores principalmente: contenido de grasa y tamaño de glóbulo graso.

Beitz desarrolló un procedimiento nefelométrico para determinar el

contenido de proteína y grasa en leche, (102), que consiste en disolver la proteína mientras que la grasa se emulsiona por adición de una solución acuosa de un surfactante. Para mantener la estabilidad de esta emulsión se probaron diferentes soluciones acuosas de surfactantes y detergentes que involucran sales cuaternarias de amonio, goma arábiga, tritónX-20 y tritón X-100. El método ha sido aplicado al estudio de la emulsión: urea-imidazol por Nakai, (103).

La correlación del método nefelométrico con el Babcock para la determinación de grasa es de 0.985.

Otro método basado en el mismo principio es el propuesto para el uso del aparato "Milko Tester". Aquí también el contenido de grasa se determina por el paso de un rayo de luz a través de la muestra de leche, registrando la turbidez de la muestra. Una celda fotoeléctrica monitorea la cantidad de luz que pasa a través de la muestra, dejando pasar más luz en muestras con menor cantidad de grasa que en otras con alto contenido de grasa.

4.3.2 Absorción de radiaciones

El aparato representativo de este método es el IRMA (Infra Red Milk Analyzer). Este método puede ser usado para estimar porcentajes de grasa, proteínas, sólidos totales y lactosa en leche, además de que se pueden analizar muestras de leche bronca, leche pasteurizada y homogenizada, (104).

Este análisis se basa en la absorción de energía infrarroja por los grupos funcionales a longitudes de onda específicas como los grupos carbonilo en el enlace éster de las moléculas de grasa a

4.3.3 Ondas Ultrasonoras

La velocidad de propagación de las ondas ultrasonoras en un líquido depende de la concentración de las sustancias disueltas y en suspensión, así como de la temperatura. En el caso de la leche la materia grasa en estado globular hace disminuir esa velocidad y los componentes del extracto seco desengrasado lo aumentan. Estos efectos opuestos varían con la temperatura y pueden diferenciarse midiendo la velocidad a dos temperaturas diferentes.

Sobre este principio se ha concebido un nuevo aparato (el Darison M-103), el cual comprende dos celdas sumergidas a 41 y 65°C. Si la muestra se precalienta, el tiempo de medición es de 90 segundos. La precisión es excelente; la homogenización previa no es necesaria, por el contrario las leches homogenizadas exigen un tratamiento especial, (34). El Darison en sí consiste de una celda ultrasonica para la muestra, un control de temperatura, componentes electrónicos para producir y recibir los pulsos del ultrasonido y un registrador de la frecuencia electrónica, (97).

4.3.4 Espectrofotometría

Estos métodos permiten medir la absorción porcentual de la luz transmitida o absorbida (densidad óptica) basados en la ley de Lambert y Beer: la densidad óptica es proporcional al espesor atravesado y a la concentración de la sustancia considerada en la solución, (106).

Los espectrofotómetros consisten de cuatro partes fundamentales: a) Fuente luminosa; b) Monocromador; c) Celdas; d) Detector.

La fuente luminosa suministra rayos de luz que pasan a través de una rendija al monocromador. De aquí se dirige a un espejo cóncavo para obtener un haz luminoso paralelo, que pasa después a un prisma o red de difracción dispersándose de nuevo en un espectro. El haz disperso se dirige hacia otro espejo cóncavo que focaliza el espectro en una rendija de salida, permitiendo solo el paso de una banda muy estrecha, obteniéndose de esta manera luz monocromática. Finalmente el detector debe ser un instrumento que mida la intensidad de la luz transmitida por la muestra, y normalmente consiste de un dispositivo que convierte la energía luminosa en una señal eléctrica que puede amplificarse. En los espectrofotómetros de un solo haz, se tiene un monocromador de prisma de cuarzo y su alcance es la región visible y la ultravioleta. Estos aparatos de un sólo haz se adaptan especialmente a los análisis cuantitativos de sustancias únicas y de mezclas simples.

En los espectrofotómetros de doble haz, la luz monocromada se desdobra en dos haces de igual intensidad, uno pasa por el blanco y el otro por la solución de la muestra. La luz transmitida por cada celda es captada en fotoceldas separadas dando lugar a una corriente eléctrica proporcional a la energía luminosa, (107).

Nakai propuso un método espectrofotométrico para la determinación de proteína y grasa en la leche, (108). Usó ácido acético para disolver y dissociar las proteínas y la grasa, obteniendo una solución completamente clara, cuya absorbancia se lee a 280nm. Se adiciona una solución de urea-imidazol para suspender la grasa. La

turbidez resultante se relaciona con el contenido de la micela y el tamaño del glóbulo graso. La solución de urea-imidazol tiene un doble propósito, desarrolla la turbidez en la mezcla y proporciona estabilidad a esta turbidez, actuando como surfactante, al igual que soluciones acuosas conteniendo sales cuaternarias de amonio, goma arábiga ó IGEPAL DM960.

Las gomas vegetales, los surfactantes químicos y el etanol fueron efectivos para estabilizar la grasa, aunque no estabilizaron lo suficiente como para un análisis cuantitativo.

Los métodos espectrofotométricos aunque implican una inversión inicial alta, compensan su adquisición con el tiempo, ya que en un laboratorio se puede usar para un sinfín de análisis con un mínimo de tiempo y personal.

4.3.5 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases en los últimos 15 años, ha venido substituyendo parcialmente a las técnicas tradicionales de análisis de grasas y aceites a nivel industrial y de investigación.

La cromatografía se puede definir como la técnica de separación de una mezcla de solutos, basada en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de ellos través de un medio poroso, arrastrados por un disolvente en movimiento. Esta separación tiene que ver con la diferente afinidad de adsorción de los solutos hacia el medio poroso y está basada en un proceso de reparto múltiple o continuo de adsorción-desorción.

La cromatografía en fase vapor se puede usar para definir la mezcla de triglicéridos de grasas naturales, esta técnica separa los

triglicéridos por peso molecular, resuelve diferencias tan pequeñas como dos átomos de carbono, (109), y se aplica a la fracción de mezclas de triglicéridos de aceites vegetales, aceites de mantequilla, mezcla de adulterantes y sus productos de reconstitución. Un procedimiento general para detectar adulterantes en mantequillas involucra un análisis del contenido de esteroides de la grasa. El colesterol es el esteroide mayoritario de las grasas animales, en tanto que los aceites vegetales, contienen un grupo de esteroides llamados fitosteroides, siendo los principales el campesterol, estigmasterol y β -sitosterol, (110).

En la cromatografía de gases la fase móvil es un gas y la estacionaria puede ser un líquido o un sólido. La cromatografía de gases se realiza siempre en columna.

Cuando la fase estacionaria es un líquido, se le llama cromatografía gas-líquido (CGL) y el mecanismo de separación es por partición. Cuando la fase estacionaria es un sólido se le llama cromatografía gas-sólido (CGS) y el mecanismo de separación es por adsorción, (111).

Los mecanismos de separación que intervienen en la cromatografía son: partición, adsorción, intercambio iónico y exclusión molecular, (112).

Cromatografía de partición.- El proceso responsable de la retención, es la distribución de los solutos que forman la mezcla entre una fase estacionaria líquida soportada sobre un sólido y la fase móvil o eluyente del sistema. Cuando la fase móvil es un líquido, se le denomina cromatografía líquido-líquido (CLL); si la fase móvil es un gas se le denomina cromatografía gas-líquido (CGL).

En CGL se elige una fase estacionaria cuya estructura sea análoga a la de los componentes a separar, (113). Para facilitar el reparto, se crea una película muy fina en la fase estacionaria líquida, la cual deberá poseer baja volatilidad sobre el soporte sólido, aumentando así la superficie interfacial entre gas y líquido. El soporte deberá poseer una gran superficie específica; además, su tamaño de partícula debe ser uniforme para obtener una mejor separación.

Cromatografía de adsorción.- La separación está basada en las diferencias de comportamiento, adsorción-desorción, de sustancias contenidas en la fase móvil sobre un sólido estacionario (adsorbente) y pueden ser sistemas líquido-líquido y gas sólido.

En el fenómeno de adsorción influyen tres variables: adsorbente, eluyente y soluto. La polaridad de estos tres componentes es importante, ya que influye en el comportamiento de una sustancia en disolución y en el poder adsorbente de la fase estacionaria. A mayor polaridad del soluto aumenta la adsorción. Generalmente se elige una polaridad del eluyente análoga a la de la muestra y en la mayoría de los casos, adsorbentes activos para sustancias no polares. Para sustancias polares se deben usar adsorbentes menos activos. El poder de un adsorbente disminuye al aumentar la cantidad de muestra.

En la cromatografía gas-sólido los adsorbentes más usados son alúmina, gel de sílice, carbón activado o mallas moleculares. Se realiza en columna. El material empleado como adsorbente debe ser químicamente inerte. Este método se utilizó para la separación de triglicéridos poli y monoinsaturados utilizando alúmino-silicatos de metales alcalino-térreos como adsorbente, obteniéndose una muy

buena selectividad, (114).

Existen otros mecanismos, como el de intercambio iónico y el de exclusión molecular, que se utilizan para otros tipos de cromatografía.

La cromatografía de gases es una técnica para separar sustancias volátiles por medio del paso de una corriente de gas inerte sobre la fase estacionaria, así los componentes a separar son llevados a través de la columna por el gas inerte, que también se le llama gas portador.

En estas condiciones la muestra se reparte entre el gas portador y el solvente no volátil, o sea la fase estacionaria. El solvente no volátil selectivamente retiene los componentes de la muestra de acuerdo a su coeficiente de distribución hasta que éstos formen bandas separadas en el gas portador, las cuales salen de la columna en la corriente del gas y se registran como función del tiempo por el detector; la inscripción así obtenida se denomina cromatograma, (111, 112).

La determinación cuantitativa se lleva a cabo sobre el cromatograma obtenido, calculando el área bajo la curva de los picos obtenidos la cual es directamente proporcional a la concentración de moléculas que están proporcionando ese pico, (115).

Las técnicas empleadas para la cuantificación de los componentes pueden clasificarse en manuales y automáticas.

Las primeras comprenden a las evaluaciones por altura de pico, triangulación, planimetría, así como corte y pesada del triángulo obtenido.

Dentro de los métodos automáticos se encuentra el integrador de

disco, el integrador electrónico, las computadoras y sistema de resultados de computación e impresión de resultados. (116).

Para la determinación analítica por cromatografía de gases es necesario esterificar las grasas. La metilación puede llevarse a cabo por diversos procedimientos, entre los cuales se encuentran los siguientes:

Con ácido sulfúrico y metanol.- Con esta solución se hierven a reflujo los ácidos grasos; y los ésteres formados se extraen con éter de petróleo. En experimentos recientes los ácidos grasos volátiles en queso ($C_2 - C_3$) fueron obtenidos directamente por acidificación de la muestra ($H_2 SO_4$). Alternativamente, las muestras de queso se mezclaron con $Na_2 SO_4$ anhidro y etanol, extrayéndose el éster formado con éter de petróleo. Las sales de sodio de los ácidos grasos se extrajeron y fueron secadas y reconvertidas a los ácidos grasos libres con diazometano en una solución metanol-éter, analizándose en un cromatógrafo de gases, (117).

Este método debe emplearse con extrema precaución ya que el diazometano es tóxico y explosivo.

Trifloruro de boro (BF_3) (10-14%) en metanol.- Los ésteres metílicos se extraen con éter de petróleo o pentano, (118).

Metóxido de sodio y benceno. Esta solución junto con la grasa se calienta en baño de vapor para después agregar éter etílico y agua. Cuando se separan las fases, la acuosa se deacha y la fase bencénica superior se lava y seca con sulfato de sodio anhidro. Esta solución se analiza directamente por CGL, (119).

La cromatografía de gases proporciona resultados reproducibles, siendo también una técnica efectiva para la cuantificación de ácidos

grasos. (120).

Esta técnica se ha utilizado para determinar los ácidos grasos de cadena corta y larga ($C_2 - C_{20}$) en productos lácteos como leche y queso. En el caso de la leche se adiciona etanol y en el caso del queso se muele con sulfato de sodio. Por último a ambos se les agrega ácido sulfúrico y la extracción se realiza con éter-heptano. Los ácidos grasos libres de $C_2 - C_8$ se determinan en la fase acuosa. El uso de una columna de aminopropilo utilizando Hecomo gas portador da mejores resultados. (121).

Mediante la cromatografía de gases se ha estudiado la composición de los ácidos grasos del calostro y de la leche de varios mamíferos (caballo, cerdo, venado, vaca, etc.), observándose notables diferencias entre las diferentes leches, las cuales se atribuyen a los factores dietéticos y diferencias individuales de cada especie. (122).

4.3.6 HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución).

La HPLC comparada con otras técnicas analíticas muestra una serie de ventajas entre las que se incluyen:

- a) La HPLC es el método a escoger para una variedad de compuestos térmicamente lábiles o de alto peso molecular.
- b) Se pueden analizar muestras acuosas o no acuosas sin o con pocos tratamientos previos.
- c) Existe gran disponibilidad de disolventes y materiales de empaque para columna, lo cual da un alto grado de selectividad para cualquier análisis específico.
- d) Los tiempos de separación son cortos, generalmente en pocos

minutos.

e) Los compuestos separados son fácilmente recuperados y aislados de la fase móvil para futuros análisis de caracterización.

El cromatógrafo para HPLC consiste básicamente de un almacén de disolvente, una bomba, un sistema de inyección, una columna y un detector unido a un graficador de carta, tal como se muestra en el esquema simplificado de la figura 4.1.

Existe una gran cantidad de detectores, pero de éstos sólo el detector de ultravioleta (U.V.), el de fluorescencia y el refractómetro diferencial son de uso común. En HPLC también se han usado otros detectores incluyendo aparatos electroquímicos y sistemas de transporte unidos a detectores de ionización de flama y más recientemente espectrómetros de masa.

Materiales de empaque.- La fase estacionaria comúnmente utilizada es sílice, donde el proceso cromatográfico es de adsorción, o sílice modificada por la unión de grupos funcionales con los grupos silanol, para dar un sistema de partición.

El análisis parcial de lípidos en los alimentos ha sido siempre problemático, las técnicas existentes de cromatografía de gases, capa fina o los métodos enzimáticos no son completamente satisfactorios en las determinaciones cuantitativas. La aplicación de la HPLC al análisis de lípidos, no ha sido bien aprovechada, debido principalmente a la falta de detectores apropiados; en los últimos años este problema se ha solucionado con el desarrollo de nuevos detectores y con las técnicas de derivación de compuestos no absorbentes de U.V. a unos que sí absorban.

La mayoría de los investigadores que han informado técnicas para

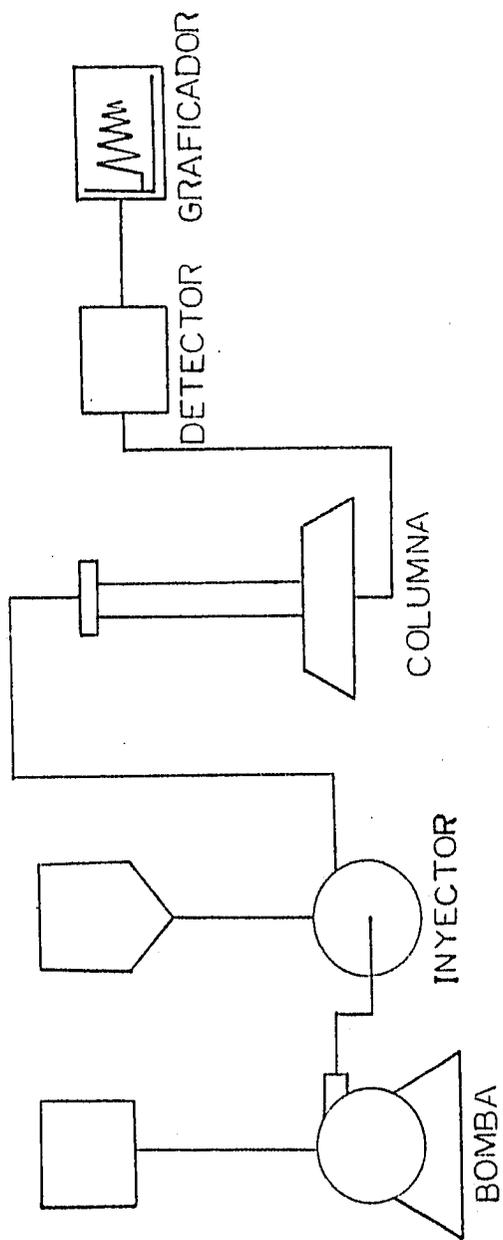


FIG.41 DIAGRAMA SIMPLIFICADO PARA HPLC

determinar lípidos, ha sido sobre mezclas de estos y no directamente en alimentos.

La determinación de colesterol en los alimentos ha tomado importancia, debido a los cuidados que en su consumo deben tener personas con problemas circulatorios. Para esta determinación se emplea el éster benzoato de colesterol. Las muestras extraídas se separan en una columna de fase inversa (u Bondapak C18); la fase móvil es metanol 100%, el detector es de U.V. fijo a 230 nm. El contenido de colesterol determinado por HPLC es similar al obtenido por cromatografía gas-líquido, (123).

La aplicación de la HPLC al análisis de vitaminas liposolubles ha aumentado considerablemente en los últimos años. Entre las técnicas más completas en relación con la cantidad de vitaminas determinadas simultáneamente, está la de Barnett et. al. (124), estos investigadores analizaron leche, productos lácteos y alimentos para infantes basados en soya; requiriéndose sólo de 50 minutos para separar las vitaminas A, D₂, D₃, E y K₁.

De cada 10 nuevas técnicas de cromatografía aplicadas a los alimentos, 8 son de HPLC.

Existen en México varios modelos para HPLC, pero su manejo, a pesar de no ser complicado, requiere de la participación de gente preparada para tener un mayor aprovechamiento y cuidado del equipo, ya que el costo de sus materiales y reactivos son altos.

La posible recuperación de muestras y eluyentes después del análisis, da una ventaja incomparable sobre técnicas tan empleadas como la cromatografía de gases, en la cual las muestras son descompuestas.

En recientes investigaciones los triglicéridos y ácidos grasos libres de leche de bovino y humana se separaron por HPLC, realizándose un análisis por cromatografía de gases de las fracciones aisladas. Se usó acetonitrilo-propionitrilo (a una temperatura que aumentó de 10-15°C hasta 60°C), obteniéndose una separación óptima de los triglicéridos en leche de bovino y leche humana. (125).

Mediante una extracción con un solo disolvente y análisis por HPLC, los ácidos grasos de leche y productos lácteos han sido separados en dos grupos de ácidos: de cadena corta (C_2-C_6) y de cadena larga (C_8-C_{22}).

Este método es simple, rápido y confiable. (126).

Mediante un análisis de HPLC y DGL (cromatografía gas-liquido) se realizaron experimentos que determinaron la composición de triglicéridos de la grasa de leche de bovino, ovino y caprino. Se identificaron 116 especies de triglicéridos. La composición cualitativa de la grasa de la leche fue similar en vaca, oveja y gato. En las tres leches en número de triglicéridos principales fue de 46. (127).

En leche pasteurizada fresca mediante la HPLC un análisis cromatográfico único permite la determinación de todos los ácidos grasos libres mayores (ácido mirístico, palmítico, esteárico y oleico). (128).

5 DISCUSSION

La composición de la leche determina su calidad nutritiva y su valor como materia prima para fabricar productos alimenticios. Los componentes principales agua, grasa, extracto seco magro, lactosa y proteínas, son los que se encuentran en mayor concentración, sin embargo no son necesariamente los más importantes ya que existen concentraciones pequeñas de vitaminas, minerales y enzimas que son importantes para el buen funcionamiento del organismo.

La industria debe ejercer un estricto control sobre la composición de la leche adquirida, dando especial énfasis al elemento que tenga más influencia en la fabricación de los productos predominantes en cada caso particular. Uno de los parámetros que más se toman en cuenta para determinar la calidad de la leche, es la calidad y cantidad de la grasa.

La grasa de la leche imparte a ésta ciertas características sensoriales, interviene directamente en la fijación del precio, nutrición y propiedades físicas.

El término lípido y grasa se utilizan como sinónimo pero esto es erróneo ya que la grasa se compone en gran parte de una mezcla de triglicéridos, mientras que el lípido no tiene por que presentar tal composición.

La grasa de la leche es una de las más complejas grasas naturales aparte de que su contenido varía por diversos factores como raza, edad, alimentación, etc. Algunas de las propiedades físicas de la leche resultan difíciles de precisar en forma definida pero a pesar de esto, la grasa de la leche pura tiene características lo suficientemente constantes como para distinguirse por ensayos químicos y físicos de otras grasas y

aceites.

La lipólisis y la oxidación son problemas de los más importantes en la tecnología lechera, ya que tiene como consecuencia la aparición de trascendentes anomalías en la leche y productos lácteos. Cuando se oxidan los ácidos grasos insaturados producen, entre otros compuestos, aldehídos y cetonas que dan origen a diferentes sabores y aromas que deterioran el producto. Las reacciones entre peróxidos y proteínas son muy importantes ya que reducen el valor nutritivo de la leche.

En la hidrólisis de la materia grasa se liberan ácidos grasos de fuerte olor, como el butírico que produce en la leche un sabor muy desagradable. Aunque se debe recordar que la lipólisis no siempre es perjudicial ya que en los quesos madurados es un proceso normal de las lipasas que influyen en el aroma.

La leche contiene naturalmente sustancias reductoras como el ácido ascórbico, los tocoferoles y la xantina oxidasa, que actúan como antioxidantes, por lo que en los productos lácteos que han sido debidamente manipulados, procesados y almacenados, éstos son innecesarios.

Para que el consumo de leche aumente y sea bien aceptada es necesario que los propios padres fomenten su consumo a sus hijos. La educación directa y la propaganda pueden dar buenos resultados, provocando el deseo intelectual de consumir leche; pero no pueden crear una apetencia especial. En general, la apetencia demostrada por otras bebidas y alimentos no existe para la leche, que hace segregarse una saliva espesa poco refrescante. El poder excitomotor de la leche sobre las secreciones gástricas y pancreáticas es relativamente escaso. Por ejemplo, la secreción

de pepsina es más fuerte para la carne y el pan que para la leche.

Se dice que las grasas son psicoestimulantes del apetito debido a que se digieren más rápidamente. Algunos productos lácteos que tienen una cantidad elevada de grasa, como la mantequilla y la crema, con frecuencia son mejor aceptados que la leche.

La digestión y absorción de los triglicéridos varían con la composición de ácidos grasos y con la disposición de los restos de ácidos grasos de la molécula. Entre las razones de la buena digestibilidad de la grasa de la leche se encuentra: el elevado contenido de ácido oleico, que es bien absorbido, y el contenido relativamente bajo en ácido esteárico, que es el que peor se absorbe; la proporción bastante elevada de ácidos grasos de cadena corta, que se asimilan más fácilmente que los de cadena larga ya que los ácidos grasos de bajo peso molecular van directamente al hígado por la vía porta, sin entrar en la circulación mayor; el punto de fusión de la materia grasa de la leche que es relativamente bajo (30°C) lo que contribuye a la buena digestibilidad.

A nivel nutricional la grasa de la leche es muy importante ya que contiene los ácidos grasos esenciales (linoléico, linolénico y araquidónico). Estos ácidos además de ser energéticos son reguladores del metabolismo en el sistema digestivo y sirven de transporte de las vitaminas liposolubles. Los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la grasa de la leche tienen efectos estructurales en la biomembrana, aseguran la integridad de hígado, corazón, cerebro. Los ácidos grasos saturados "cortos"

tienen un significado preponderantemente energético.

Existe una gran preocupación por el contenido de colesterol en la leche debido a que los altos niveles de colesterol en la sangre están asociados con la arterioesclerosis (endurecimiento de las arterias), pero esto no tiene fundamento ya que la leche como tal (no la grasa láctea) es hipocolesterémica. La grasa de la leche de vaca contiene 300 a 350 mg de colesterol por 100 g de grasa. Una medida que se lleva a cabo para reducir el colesterol es sustituir la grasa saturada por poliinsaturada.

La grasa juega un papel importante en la industria láctea. En el helado la materia grasa da al producto excelentes características de sabor y textura, sin embargo el exceso de grasa dificulta el batido. En el caso del queso debido a que la grasa mejora su viscosidad y textura, si no contiene la grasa suficiente suele secarse mucho y endurecerse excesivamente, teniendo poco sabor y no tener el aroma típico. En la mantequilla al aumentar el contenido de grasa mejora el proceso elaborador, pero si la calidad de ésta no es la adecuada se obtiene un producto con una calidad deficiente. En la leche en polvo al aumentar el porcentaje de grasa se dificulta la fabricación debido a la oxidación y el enranciamiento. La leche entera en polvo es difícil de dispersar debido a la hidrofobicidad de la grasa. En el caso del yoghurt la grasa mejora su viscosidad y textura.

El consumidor conoce los sustitutos de los productos lácteos cuando recibe clara e inequívocamente información veraz de lo que adquiere siempre que el etiquetado esté acorde con las disposiciones legislativas e incluyan la información

complementaria relacionada principalmente con la lista de ingredientes y forma de preparación.

La publicidad de los productos de imitación de la leche elaborados a base de sustituir materias grasas por ingredientes de origen no lácteo cuyo precio es inferior, es a menudo engañosa ya que se utilizan numerosos argumentos pseudocientíficos para la presentación y promoción de los mismos, aprovechándose de los términos e ilustraciones sonoras así como visuales, procedentes de la industria láctea (ej. mantequilla vegetal, leche de soya, imágenes de granjas, jarras de leche y el mugido de una vaca después de la imagen televisada de un producto de imitación). Además en los mercados, los productos de imitación se colocan junto a los productos verdaderos, lo que constituye una fuente suplementaria de confusión para el consumidor, a menudo el etiquetado es incompleto y no informa correctamente al consumidor de la ausencia de ciertos ingredientes esenciales del producto natural.

En el caso de la mantequilla y la margarina la situación sería correcta si la composición de la margarina se indicase claramente en los envases, las menciones habituales "emulsión de aceite vegetal" y de "cuerpo graso alimentario" están desprovistas de significado para el consumidor.

Entre los productos de sustitución se encuentra la leche de soya que fue producida a escala comercial para la alimentación de infantes alérgicos a la leche de vaca.

Un nivel de sustitución de hasta 25% de aceite de maíz del total de la grasa láctea en las cremas heladas, mejora su calidad nutricional al elevar su contenido de ácidos grasos esenciales.

Con el fin de obtener fórmulas de leches fortificadas con grasas vegetales para infantes se ha enriquecido la leche de vaca con ácido linoléico.

En la mantequilla sustituyendo 30-35% de grasa láctea por grasa vegetal se obtiene un aroma y sabor perfectamente admisibles. La mantequilla con 25% de grasa vegetal puede no ser diferenciada por expertos de la mantequilla con la composición tradicional.

En cuanto a la adulteración una de las más comunes es la de la mantequilla, la cual cuando se le ha agregado aceite de algodón hidrogenado y grasa de buey se caracteriza por contener una cantidad mayor de ácido palmítico, esteárico, oleico y ácidos grasos de cadena corta como son el cáprico, caprónico, caprílico y butírico. La presencia de sitosteroles indica adulteración de origen vegetal en la mantequilla al igual que una cantidad entre 300 a 600 mg de tocoferoles. La disminución de ácido palmítico junto con el aumento de ácidos insaturados denota el probable uso de algún aceite o grasa vegetal. La mantequilla con 25% de grasa vegetal puede no ser diferenciada por expertos de la mantequilla con la composición tradicional.

Existen ventajas y desventajas en los diferentes métodos para evaluar grasa, por ejemplo los métodos de Babcock y Gerber son muy rápidos requieren reactivos baratos y material común, tienen una aceptable exactitud y precisión pero no son satisfactorios para muestras homogenizadas.

Los métodos que utilizan éter para la extracción de grasa (Roese Gottlieb, Mojonnier y Soxhlet) tienen una gran precisión, pueden ser usados para muestras homogenizadas determinandose

todos los constituyentes grasos pero se lleva bastante tiempo para su determinación

La cromatografía de gases presenta una gran confiabilidad en la determinación de grasa ya que identifica y cuantifica los ácidos grasos presentes en la muestra, mientras que otros análisis solo datarminan algunos parámetros que se relacionan directamente con el contenido de ácidos grasos.

Los métodos instrumentales son más rápidos y se utiliza menos personal, estan basados en las propiedades que presentan los glóbulos grasos o trigliceridos de dispersar la energía luminosa, son relativamente simples de operar pero son instrumentos muy caros (HPLC, Darison, Milko Tester).

6 CONCLUSIONES

La grasa de la leche de vaca tiene gran importancia económica y nutricional en la industria alimentaria. Los triglicéridos constituyen más del 98% de las grasas y son los principales responsables de las propiedades de las mismas. Existen aproximadamente 250 diferentes ácidos en la grasa de la leche, sin embargo solo se han manejado y estudiado aproximadamente 20. De éstos el ácido oléico es el que existe en mayor cantidad (70%).

La lipólisis y la oxidación alteran las características de la grasa reflejándose en las características sensoriales de la leche o del producto lácteo.

En la dieta los ácidos grasos saturados deben ser restringidos por su relación con la arterioesclerosis, los monoinsaturados deben estar en equilibrio con las demás grasas y los poliinsaturados deben estar siempre presentes. Los ácidos grasos saturados de cadena larga aumentan los niveles de colesterol en la sangre y están asociados con la arterioesclerosis, mientras que los poliinsaturados disminuyen estos niveles.

Con el fin de tener ingredientes con un precio inferior para la fabricación de productos de imitación, existe adulteración de grasa de vaca con manteca de cerdo, aceite de algodón hidrogenado y grasa de buey.

Las cremas reciben diferentes denominaciones según su origen, composición, tratamiento higiénico y conservación.

El tratamiento térmico en la leche produce cambios reversibles o irreversibles en su contenido de grasa.

La grasa en los diversos productos lácteos (helados, queso,

leches fermentadas, mantequilla) influye en la textura, olor, sabor, rendimiento y algo en el color.

Dentro del proceso de reconstitución y reenvasado de la leche se adiciona grasa de origen vegetal en proporciones variadas, si se indica en su etiqueta esto es un acto legal que repercute en la calidad intrínseca, aspecto nutritivo y sensorial de la misma.

Debido a la aparición de enfermedades circulatorias y cardiovasculares, la grasa láctea se ha sustituido parcialmente por grasa vegetal en diversos productos lácteos como mantequilla, queso y helados.

Los productos con grasa vegetal muestran mayores contenidos de proteínas láctea, fosfolípidos, ácidos grasos poliinsaturados y otras sustancias de interés biológico que aumentan su valor dietético.

Se piensa que extraer la grasa butírica a la leche representa un fraude para el consumidor, sin embargo se contrapone el hecho de que al adicionar grasa de origen vegetal el producto es más digerible.

Para la cuantificación de grasa, el método espectrofotométrico se considera de gran precisión, y aunque implica una inversión inicial muy alta ésta se compensa ya que dentro de un laboratorio se puede usar para un sinfín de análisis con un mínimo de tiempo y personal.

La cromatografía de gases presenta una gran confiabilidad ya que cuantifica y además identifica los ácidos grasos presentes en la muestra, ayudando a determinar el origen de adulteraciones o sustituciones de la grasa en los diversos productos lácteos.

La cromatografía de líquidos de alta resolución a diferencia de la cromatografía de gases es no destructiva, es más rápida y simple y en algunos casos no requiere de operaciones preparativas. Su tendencia de aplicación en el campo de los alimentos es de las más altas y versátiles.

B I B L I O G R A F I A

- 1) Keating, P.I. y Gaona, R. H. Introducción a la lactología, 1a. Edición, Ed. Limusa, México (1986).
- 2) Walstra, P. y Jannes, R. Química y Física Lactológica, 1a. Edición, Ed. Acribia, Zaragoza España (1987).
- 3) Badui, D. S. Química de los alimentos. Segunda edición. Ed. Alhambra. México D.F. (1990).
- 4) Almudí, R. O., Ciencia y Tecnología de la leche 1a. Edición en español, Ed Acribia, Zaragoza, España (1990).
- 5) Warner, J. N., Principios de la tecnología de lácteos, 1a. Edición, Ed. Gagt, México (1989).

- 6) Fink, A. Characterization of changes in the emulsion stability of cream as a result of technological processing Ernaebrung, 11(6), 389(1987). C.A.108 4851z(1988).
- 7) Singh, S. Effect of heat on flavor and physicochemical characteristics of milk fat. Asian J. Dairy Res. 1(1), 21(1982). C.A.93, 159298y (1980).
- 8) Judkins, H. F. y Keener H. A., La leche, 9a. Edición. Compañía Editorial Continental, S.A. México (1981).

- 9) Harold E., y Ronald S.K. Análisis Químico de Alimentos de Pearson. Ed. CECSA, México D.F. (1988).
- 10) Lagodguk, P. Z. et al. Effect of growth hormone administered along with thyroxine on the milk production process in cows. Fiziol. Zh SSSR IM Sechenove 68(10), 1438(1982). C.A.98, 12135j (1983).

- 11) Itabashi H. et al. Effect of high temperature on long-chain fatty acid composition of milk fat of dairy cows. Nippon Chikusan Gakkai H. 53 (7), 499 (1982). C.A.97,213546x (1982).
- 12) Karijord, O. et al. Sources of variation in composition of milk fat. Z. Tierz Zuechtungsbiol. 99 (2), 81 (1982). C.A.97,89732p (1982).
- 13) Yoon, T. H. et al. Changes in composition of total lipids of human milk during lactation. Han guk Yonggyang Siklyong Hakhoechi. 11 (3) 35(1982).C.A.98, 123331q (1983).
- 14) Nesterov, V.N. and Tuerdokhle, G.V. Sea Sonal Changes in the fatty acid indexes of milk fat in different regions of the Ukraine Izv. Vi/ssh Uchebn. Zoved, Pishch Tekhnol. 1984 (2) 6. C.A.101, 22181r (1984).
- 15) Miller W. J. Nutrición y Alimentación del ganado vacuno lechero. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. (1988).
- 16) Marshall M. Alimentación práctica de la vaca lechera. 2a. edición, Aedos, Barcelona (1976).
- 17) Choukri, A. et al. A rapid and sensitive method for the determination of lipase activities in milk and dairy products. 5th. Agric. Food Chem. consum, Proc. Eur. Conf. Food Chem. 1989(2),714 C.A. 112 34481d (1990).

- 18) Sundheim O. and Bengtsson O. G. Hydrolysis of bovine and caprine milk fat globules by lipoprotein lipase. Effects of heparin and of skim milk on lipase distribution and on lipolysis. J. Dairy Sci. 70 (12), 2467 (1987). C.A.108, 166286q (1988).
- 19) Cartier P. et al. Lipase redistribution in cows milk during induced lipolysis. Activation by milk pH adjustment. J. Dairy Res 56(5), 711(1987). C.A.112, 34632d (1990).
- 20) Sundheim G. Spontaneous lipolysis in bovine milk; combined effects of cream, skim milk, and lipoprotein lipase activity J. Dairy Sc. 71(3) 620 (1988). C.A. 109, 53447b (1988).
- 21) Bhavadassan, M.K. et al. Influence of agitation on milk lipolysis and release of membrane bound xanthine oxidase. J. Dairy Sc. 65 (9), 1692 (1982). C.A. 97, 180490u (1982).
- 22) Shimizu M. et al. Inhibition of lipolysis by milk fat globule membrane materials in model milk fat emulsion. Agric. Biol. Chem. 46 (3), 795 (1982). C.A. 96, 179678j (1982).
- 23) Stem K. K. et al. Inhibition of lipolytic activity milk by polysaccharides. J. Dairy Sci. 71(1), 91 (1982). C.A. 108, 166288y (1988).
- 24) Nakazavia R. and Wada R. Oxidation of doublebonds in unsaturated fatty acid of milk fats. Kigo- Kyoritsu joshitanki Daigaku 29 97(1982). C.A. 96, 216254r (1982).

- 25) Allen J.C. and Wrieden, W.L. Influence of milk proteins on lipid oxidation in aqueous emulsion. I Casein, whey protein and alfa-lactalbumin. J. Dairy Res. 49 (2), 239 (1980). C.A. 97, 22309n (1982).
- 26) Timms R.E. and Roupas, P. The application of chemiluminescence to the study of the oxidation of oils and fats. Lebensm-Wiss Technol. 15 (6), 372 (1982). C.A. 98, 70563h (1983).
- 27) Amiot J. Ciencia y tecnología de la leche, Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España (1991).
- 28) Badui D. S. Diccionario de Tecnología de alimentos. Ed. Alhambra. México (1988).
- 29) Timmermann F. Tocopherols antioxidative effect on oils and fats. Fatt Wiss Technol 92 (5), 201 (1981). C.A. 113, 57712q (1990).
- 30) Pengraez G. Heat Stability of the tocopherols. Fatt Wiss Technol 90 (7), 247 (1988). C.A. 109, 127456c (1988).
- 31) Mares E. et al. Tocopherol concentrate as food additive and antioxidant. Czech Sc. 81 (4), 861 (1989). C.A. 108, 74036m (1988).
- 32) Michael F. et al. Antioxidant containing gamble for preservation of food and cosmetics. Chemic Industry 89 (9), 242 (1989). C.A. 112, 137352e (1990).

- 33) Pongracz G. et al. gamma-tocopherol as a natural antioxidant
Fette, Saifen, Anfriclm 86 (12), 455 (1989).
C.A.102, 111684v (1985).
- 34) Alais Ch. Ciencia de la leche. Cia Editorial Continental, S.A.
de C.V. México (1985).
- 35) Han D. et al. Antioxidative effect of ascorbic acid
solubilized in oils via reversed micelles
J. Food Sci. 55 (1), 247 (1990). C.A. 112,
177196a (1990).
- 36) Kouichi A. et al. Antioxidant effect and antimicrobial
activity of phenolic sulfides. J. Am. Oil Chem.
Soc. 66 (10), 1450 (1989). C.A.112, 34584q
(1990).
- 37) Gapor A. et al. Antioxidant activities of palm vitamin E with
special reference to tocotrienols Elaets 1 (1).
63 (1989). C.A.112, 156951c (1990).
- 38) Ochi T. et al. Effects of tocopherols on qualification stability
of cookies an influence of powdered milk and
egg. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 35 (4), 259
(1988). C.A.109, 148227u (1988).
- 39) Nath B. et al. Effect of copper and tocopherol the rates of
formation and breakdown of peroxides in milk
fats of buffalo and cow. Indian J. Dairy Sc. 40
(2), 292 (1987). C.A.112, 6337t (1990).
- 40) Norma Oficial Mexicana NOM-F-16-5-1979. Margarina para mesa.
Dirección general de normas Secretaria de
Patrimonio y Fomento Industrial.

- 41) Sree P. S. and Lat, D. Stability of butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) during clarification of butter into ghee and its subsequent storage J. Anim Sc. 60(1), 86 (1990). C.A.112, 234118c (1990).
- 42) Fujitsni, Tsuyoshi. Oxidative dimerization of terbutylated hydroxyanisole (BHA) during autoxidation of methyl linoleate and the effect of phospholipids and tri-n-octylamine on the dimerization. yaka gaku39(6),380(1990). C.A.113,150983p(1990).
- 43) Atsuru M. et al. Manufacture of antioxidants for food and feed. kokai tukkyo 4 (7), 88 (1990).
- 44) Akira M. and Ikuo K. Manufacture of microcapsules containing fat/oil. Jpn. kokai rokkyo kohojin 89 (5), 257 (1991). C.A.115, 113290f (1991).
- 45) Battna G. et al. Fat and Vitamin A Stability in the presence of Ronoxan A and other antioxidants. Int. J. Vitam Nuth Res. 52 (3), 241 (1982). C.A.98, 3663c (1983).
- 46) Al-Tahiri et al. Peroxide production during the storage of anhydrous milk fat with and without antioxidants. J. Dairy Sci. 51 (2), 193 (1987). C.A.109, 5448f (1988).
- 47) Skarka P. et al. Neox a new BHT-based antioxidant Biol. Chem. Zivocisno Ugrohy Vet. 24 (3), 245 (1988). C.A.112, 6428y (1990).

- 48) Ali M.N. and Taha, S.H. Use of some essential oils as natural preservatives for butter J. Am Oils Chem Soc. 67 (3), 18849 (1990). C.A.112, 234149p (1990).
- 49) Ibuki F. et al Soybean oligopeptides as antioxidants for food preservation. Jpn. Pat: 01, 126, 392(89,126,392) 18, May 1989. (Fuji Oil Co. Ltd) C.A.112, 6454d. (1990).
- 50) Chen Z.Y. and Nawar, W.W. The role of amino acids in the autoxidation of milk fat. J. Am. Oil Chem Soc. 68 (1), 47 (1991). C.A.114, 141744e (1991).
- 51) Komatso T. and Imove Y. Antioxidant film for food packaging. Eur. Pat: 367,390 (88 /223,571) 08, Sep 1988 (Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc) C.A.113, 190082a (1990).
- 52) Arrigo L. y Rondinone R. Lípidos en la nutrición. Alimentaria 1988 (06), 41.
- 53) Ortín L. y Sánchez-Algaba T. Composición media de leche y productos lácteos. VII Contenido calórico de la leche y derivados. Alimentaria 1990 (11), 29.
- 54) Veisseyre R. Lactología Técnica. Segunda edición. Ed. Acribia Zaragoza, España (1988).
- 55) Fessenden y Fessenden R.J. Química Orgánica. México. Grupo Editorial Iberoamérica. 1983.
- 56) Farag R.S. et al. Effect of milk processing on the unsaponifiables and phospholids of milk fractions. Grasas y Aceites 38 (1), 39 (1987).

- 57) Gacheu E. and Atanasoua N. Quantity of Cholesterol in a woman's milk. Sci. Works Higher Med. 4(1), 14 (1982). C.A.99, 210474c (1983).
- 58) Alimentaria Informa. Noticias del International lipid Information Bureau. Alimentaria 1988 (09), 115.
- 59) Nourooz Z.S. and Appelquist L.A. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: butter and cheese. JAACS, J. Am. Oil Chem Soc. 65 (10), 1635(1988). C.A. 109, 229046m (1988).
- 60) Keim N.L. et. al. Variability in cholesterolemic response of rats consuming skim milk. J. Food Prot. 45 (6), 541 (1982). C.A.97, 22604e (1982).
- 61) Alimentaria Informa. Noticias del International lipid Information Bureau. Alimentaria 1988 (12), 75.
- 62) Barros C. Los preparados lácteos, alimentos del presente y del futuro, sanos, inocuos, nutritivos y además legales. Alimentaria 1989 (04), 9.
- 63) El Khalafy H.M. et al. Adulterated Beef fat. Fatty acid composition. Revista Grasas y Aceites38 (2), 85 (1987).
- 64) El Khalafy H.M. et al. Adulterated Beef fat. The Structure of triglycerides and 2-Mono glycerides. Grasas y Aceites, 38 (3), 176 (1987).
- 65) Younes N.A. and Soliman M.A. Adulteration of butter fat: Sterol composition. Grasas y Aceites 38 (6), 372 (1987). C.A.109, 127484k (1988).
- 66) Porter J.W.G. Leches y productos lácteos. 1a. edición, Ed. Acribia Zaragoza, España (1981).

- 67) Hart D.L. Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza España. Ed. Acribia. 1977.
- 68) Merzametov M.M. and Antoshchenko L.S. Quantitative determination of nondairy fat in dairy products Eur. Pat: JU 1, 377, 721 10. Jul 1985. (Dagestan State University). C.A. 109, 36875x (1989).
- 69) Ortin L. y Sánchez T. Composición media de la leche y productos lácteos, diez años de control analítico: 1977-1987. VI Mantequilla y natas. Alimentaria 1990 (11), 25.
- 70) Esain E. J. Fabricación de productos lácteos. Traducción del alemán. Ed. Acribia, Zaragoza, España. (1980).
- 71) Murakami F. and Watanabo T. Manufacture of stabilized cream using quillaja saponina. Jpn. Pat:63, 109, 735 [88, 109, 735] 14 May 1988. (Maruzen Chemical Co., Ltd). C.A.109, 229187h (1989).
- 72) Lehmann H. R. Damatage to cream and lipid dropletas, Part I. Determination of free fatty acids. Dtsch. Milk-Ztg 109 (2), 634 (1988). C.A.109, 36819g (1989).
- 73) Scott K.J. and Bishop D.R. Nutrient content of milk and milk products: vitamins of the B complex and vitamin C in retail cream, ice creams and milk shakes. J. Sci. Food Agric 43 (2), 193 (1988). C.A.108, 220514f (1988).
- 74) Farag R.S. et.al. Use of some essential oils as natural preservatives for butter, J. Am. Oil chem. Soc. 67 (3), 188 (1990). C.A.112, 234149p (1990).

- 75) Bernardini E. Tecnología de aceites y grasas. 1a. Edición en español Ed. Alhambra, México, D.F. (1981).
- 76) Benavides G. Determinación por cromatografía de gases de los niveles de ácidos grasos en la leche en polvo comercial. Tesis, F.Q. UNAM (1986).
- 77) Idota T. et al. Powdered milk containing polyvalent unsaturated fatty acids for infant. Jpn. Pat: 8980,250 (27Mar 1989), C.A.111 22439n (1989).
- 78) Shimatani M. et al. Bacterial toxin-neutralizing powdered milk for infant and its preparation. Jpn. Pat: 91 49, 648 (4Mar 1991), C.A. 115 134634m (1991).
- 79) Scott R. Fabricación de queso. 2a. edición Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España (1991).
- 80) Dilanja S.C. Fundamentos de la elaboración de queso. 1a. edición en español. Editorial Acribia. Zaragoza, España (1984).
- 81) Spreer E. Lactología Industrial Ed. Acribia S.A. 2a. edición. Zaragoza, España (1991).
- 82) Schultz M.E. and Hingst G. The Chemistry of yoghurt. Milchwissenschaft, 1954, (9), 330-336.
- 83) Velázquez E. J. L. Estudio comparativo de las normas de higiene y sanidad de algunos países en los procesos de queso, crema, mantequilla y yoghurt. Tesis, F.Q. UNAM (1983).
- 84) Tamime A.Y. and Robinson R.K. Yoghurt ciencia y tecnología. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. (1991).

- 85) Formisano M. et. al. Proteolytic activity of Streptococcus Thermophilus and Lactobacillus Bulgaricus in yoghurt. Dairy Science, 35, 137 (1973). Industria Agraria 9 (12) 430 (1971).
- 86) Noeman, A.A. and Shalaby, S.O. A comparative study between zabady and acidophilus milk. II Fatty and amino acids. J. Food Sci. 1993 (20), 53. C.A. 121 33622z (1994).
- 87) Hartly, D.L. and Denariáz, G. The role of lactic acid bacteria in yogurt fermentation. Int. J. Immunother. 9 (1), 3, (1993). C.A. 119 137628f (1993).
- 88) Morichi, M. E. and Reiter, B. Esterases and other soluble proteins of some lactic acid bacteria. J. Gen. Microbiol. 1968, (53), 405.
- 89) Schmidt K.F. Elaboración artesanal de mantequilla, yoghurt y queso. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España (1988).
- 90) Ramírez J. y Arroyo P. Comercio Exterior. XXI, 1971, 675.
- 91) Rodríguez T. Utilización de grasa vegetal en cremas heladas. Alimentaria 1991 (12), 45.
- 92) Reyes B. J. F. Sustituto de leche de origen vegetal. Tesis Facultad de Química, UNAM (1973).
- 93) Christe W.W. and Clapperton J.L. Structures of the triglycerides of cow's milk fortified milks (including infant formulas), and human milk. J. Soc. Dairy Technol. 35 (1), 22 (1982).
- 94) Poyarkova G.S. et. al. Selection of fats of nondairy origin for whole milk substitute production. Molochn. Prom-st 1983 (2), 22. C.A. 98 159355q (1983).

- 95) Hayashi, M. and Iwasaki, T. Artificial milk compositions containing medium chain fatty acids for young livestock. Jpn. Pat: (90,261,350) 24 Oct. 1990. C.A. 114 120521q (1991).
- 96) Hayashi M. and Iwasaki T. Milk substitute compositions containing skim and/or soybean meal and fatty acids for young livestock Jpn. Pat: (90,261,349) 24 Oct 1990. C.A. 114 163007u (1991).
- 97) Athertam, H. V. Chemistry and testing of Dairy products. AUI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut 2nd. Ed. (1987).
- 98) Lynch, J.M. et al. Performance evaluation of the Babcock and ether extraction methods: 1989 through 1993. J. AOAC Inf. 77 (4), 976 (1994). C.A. 121 106810w (1994).
- 99) Fisher P. y Bender, A. Valor Nutritivo de los Alimentos. Ed. Limusa S.A. México. D.F. (1980).
- 100) Norma Oficial Mexicana. Leche evaporada. NOM F-51-5 (1980).
- 101) García Villanova R. y Lopez Martínez M.C. Método General de determinación de grasa por complejometria indirecta con Mg II. Análisis de Bromatología. Tomo XXIX No. 2 (1977).
- 102) Beitz M.E. et. al. A nephelometric procedure for determination of fat and protein in milk Jour. of Dairy Sci. 60(5), 701 (1977).
- 103) Kramer, A. and Twigg, B. Quality control for the food Industry. Aul Pub. Co. Inc. Westport Connecticut 3rd. Ed. (1970).

- 104) A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemist. Ed.
Washington D.C. (1980).
- 105) Biggs, D.A. Milk analysis with the infrared milk analyzer.
Jour. of Dairy Sci 50, 799 (1968).
- 106) Barnara, A.J. y Chayen, R. Métodos modernos de análisis
químicos. Ed. Urmo. España (1970).
- 107) Stookey, L.A. et. al. Automated Determination of Milk fat.
Jour. Dairy Sci 55, 403, (1972).
- 108) Sommer, H.H. Mixtures of milk fat with non- milk fat
determination of the milk fat content. Cherry
Burrel Circle 37 (7-8). 7 (1952).
- 109) Benitez R. S. Detección de adulterantes grasos lácteos por
cromatografía de gases. Tesis. Fac. de Química
UNAM, (1973).
- 110) Ramos C. S. R. Limitación de la Cromatografía de gases en la
Caracterización de grasas de leche. Tesis. Fac.
de Química UNAM (1983).
- 111) Storch de Gracia J.M. Fundamentos de la Cromatografía de gases
2a. Edición Ed. Alhambra. Zaragoza, España,
(1975).
- 112) Dabrio M. V. Cromatografía de gases Vol. I y II 1a. Edición,
Ed. Alhambra. Zaragoza, España (1971).
- 113) Zwig G. and Sherman J. Handbook of Chromatography Vol I-V II
CRS Press, Cleveland (1972).
- 114) Ou, J. D. Process for separation of poly-and monounsaturated
triglycerides and fatty acids U.S. Pat:4,961,881
09 Oct. 1990. Appl. 156,857. 1988 (02) 20.

- 115) Frecht, D. and Frede, E. Determination of the solid fat content in milk fat by Gas Chromatographic triglyceride analysis. Fett Wiss. Technol. 96, (9)324, (1994). Analytical Abstracts 57, 2H191, (1995).
- 116) Willard H.L. y Merrit, J. D. Métodos Instrumentales de Analisis. 1a. Edición. Compañía Editorial Continental S.A. México (1978).
- 117) Contarini, G. et. al. Gas Chromatographic and analytical methods for the determination of free fatty acids in dairy products. Riv. Ital. Sostanze Grasse 66, (10) 561, (1989). C.A. 112, 156831p (1990).
- 118) Ceccon, L. and Maraspin, M. Interference of acidic compounds in the gas Chromatography determination of free fatty acids in dairy products. Riv. Ital. Sostanze grasse 66, (8) 475, (1989). C.A. 112, 156820j (1990).
- 119) Gomez R. H. R. Método de Análisis de aceites vegetales comestibles. Tesis Fac. de Química, UNAM (1977).
- 120) Sukhija, P.S. and Painquist, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. J. Agric. Food Chem. 36, (6) 1202, (1988). C.A. 109 188878p (1988).

- 121) Molkenkin, J. and Precht, D. Comparison of packed and capillary columns for quantitative Gas Chromatographic of triglycerides in milk fat. Chromatographia 39 (5-6), 265 (1994).
Analytical Abstracts 57 2H190, (1995).
- 122) Sarra, C. Studies on the fatty acid composition of calostrum and milk from various mammals. Ann. Fac. Med. Vet Torino 1980 27,171. C.A. 96 159821x (1982).
- 123) Cont. L.S. et al. Analysis of fat used in bread manufacture. Application of capillary G.C. and HPLC. Riv. Ital Sostanze Grasse. 70 (8), 395 (1993). C.A. 120 29621k (1994).
- 124) Barnett, S.A. et al. High-performance liquid chromatography with electrochemical detection for the simultaneous determination of vitamin A, D3 (Cholecalciferol). Analytical Chemistry, 1980 (52), 610.
- 125) Weber, K. et al. HPLC separation of triglycerides in bovine and human milk and G.C. analysis of the isolated fractions. Fatt Wiss Technol 90 (9), 341 (1988).
- 126) Miwa, H. and Yamamoto, M. Liquid Chromatographic determination of free and total fatty acids in milk and milk products as their 2- nitrophenylhydrazides. J. Chromatographic 1990 . 523, 235.
- 127) Barron, L. et al. HPLC and GLC analysis for the triglyceride composition of bovine and caprine milk fat. J. Dairy Res 57 (4) 517, (1990).

128) Elliott, J.M. et al. An improved liquid chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk products. J.Dairy Sci. 72 (10), 2478, (1989).