

Rodríguez, Virginia

# Desarrollo de un proceso tecnológico para la obtención de un yogur deslactosado de leche de cabra

Tesis para la obtención del título de posgrado de  
Magíster en Tecnología de los Alimentos

Director: Cravero, Bautista Francisco Fermín

Documento disponible para su consulta y descarga en **Biblioteca Digital - Producción Académica**, repositorio institucional de la **Universidad Católica de Córdoba**, gestionado por el **Sistema de Bibliotecas de la UCC**.



Esta obra está bajo licencia 2.5 de Creative Commons Argentina.

Atribución-No comercial-Sin obras derivadas 2.5

---

# **DESARROLLO DE UN PROCESO TECNOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DE UN YOGUR DESLACTOSADO DE LECHE DE CABRA**

---

**VIRGINIA RODRIGUEZ**

Bioquímica

---

**DIRECTOR: Dr. Bautista Fermín Cravero**

Profesor Titular Cátedra de Producción de Leche  
Director del Laboratorio de Lactología  
Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNC

**CODIRECTOR: Dra. Armonía Alonso**

Profesora Adjunta  
Cátedra de Reproducción y Sanidad Animal  
Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNC

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
MAESTRIA EN TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS  
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CORDOBA**

**AÑO 2006**

---

*Virginia Rodriguez*

## AGRADECIMIENTOS

---

- A mi hija Maria, por respetar mis tiempos dedicados a la realización de este trabajo y por contribuir, con su creatividad y buena predisposición, en la elaboración de esquemas y figuras.
- A ellos, que con profundo y sincero afecto me ayudaron a crecer y aunque ya no estén presentes, me siguen acompañando y guiando en los momentos más difíciles.
- A los Profesores y amigos entrañables, Nía y Fermín, que con su cariño, responsabilidad y apoyo incondicional, me orientaron e hicieron posible la culminación de este desafío.
- A Beatriz, amiga y compañera, que con humor y paciencia, trabajó en la compaginación de este trabajo.
- A mis amigos y compañeros de trabajo, que de un modo u otro, me acompañaron y colaboraron.
- Al Laboratorio de Lactología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba, por brindarme el espacio y la disponibilidad del equipamiento necesario para el desarrollo de la parte experimental.

Capítulo 1

# INTRODUCCIÓN

---

## **ANTECEDENTES E IMPORTANCIA SOCIO-ECONÓMICA DE LA PRODUCCIÓN CAPRINA**

Las mayores existencias de ganado caprino se localizan en países con alto índice de pobreza, y su principal destino es el autoconsumo y la venta doméstica.

Desde los albores de la humanidad hasta nuestros días, la cabra ha constituido una de las especies domésticas más importantes para el hombre, como fuente de alimento (carne y leche) y vestimenta (pelos y pieles), así como productora de abono orgánico de alta calidad.

El advenimiento de la agricultura y con ello el sedentarismo, determinaron que la cabra fuera relegada a terrenos cada vez más pobres y/o inaccesibles, normalmente erosionados por la agricultura o por el sobrepastoreo de otras especies herbívoras, domésticas o salvajes.

Tales tierras esquiladas apenas le brindaban alimento al hombre, por lo que éste introduce a las cabras, único mamífero doméstico que puede sobrevivir en tan exiguas condiciones alimentarias. Su rusticidad, le permite adaptarse a ambientes que por sus características climáticas no ofrecen otro tipo de aprovechamiento, transformándose en el animal más valioso para miles de pequeños productores (Arias y Alonso, 2002).

Los principales productores de carne caprina son los países de Asia (China, India, Pakistán, Arabia Saudita y El Líbano), seguidos por los de Africa (Nigeria, Etiopía, Egipto), países relacionados con la tendencia creciente de la producción mundial en los últimos años, aunque su aporte sea sólo de un 6% de la producción total.

En Europa, los países con mayor tradición y producción caprina son Francia, Grecia, España, Italia, Albania y Suiza. Los cuatro primeros son reconocidos como los más grandes productores de leche y donde existen industrias lácteas organiza-

das. Poseen una fuerte actividad de producción, sostenida por un mercado nacional e internacional especializado en quesos artesanales e industriales de alta calidad. Holanda posee también una importante producción láctea con elaboración de quesos, en cambio Gran Bretaña, se destaca en la producción de yogur y leche fluida.

Cabe resaltar que a nivel mundial, la producción de leche de cabra, no representa más del 2% de la de bovinos, concentrándose en la región mediterránea (franja estrecha que se extiende desde el Peñón de Gibraltar hasta la Península Arábiga) cuya cantidad producida significa el 19% de la producción en el mundo.

En América Central el principal productor es México y en América del Sur se destacan Brasil, Venezuela, Argentina y Perú (FAO 1990; Rev. Pequeños rumiantes (Cabras & Ovejas), 2000; Boyazoglu and Morand-Fehr, 2001). El principal productor del MERCOSUR es Brasil donde el 97 % de las existencias caprinas se localiza en la región nordeste, en explotaciones de bajos recursos económicos y tecnológicos.

Con la apertura de rutas de acceso y la mejora en los sistemas de comunicación, muchos productores de carne vacuna del nordeste brasileño, con cierto grado de profesionalización, al no poder competir con los de otras zonas, se volcaron a la actividad caprina y ovina. Como resultado, la caprinocultura, se convirtió en el principal rubro de varios establecimientos que al incorporar técnicas de producción adecuadas lograron mayor rentabilidad que con la ganadería bovina. Los productores agrupados en una entidad de fomento, han encontrado numerosas ventajas en el aprovechamiento integral del animal.

En nuestro país, los productores caprinos también son, por lo general, familias de pocos recursos económicos y bajo nivel cultural; no tienen la propiedad de la tierra en la que se asientan y aunque sean propietarios, sus ingresos anuales son muy bajos (Maubecín, 1990).

La mayor concentración de ganado caprino la observamos en las provincias de la zona Central, Oeste, Cuyana y Norteña; aproximadamente un 69% comprende

el norte de la provincia de Córdoba, Santiago del Estero, La Rioja, Catamarca y San Luis.

Se lo utiliza para el autoconsumo y para la obtención de productos regionales típicos, como el cabrito y el quesillo de cabra elaborado con el excedente de leche que resta luego de destetar a los cabritos (Asad, 2000).

Si bien, las explotaciones estaban orientadas a la producción del cabrito como producto principal, los emprendimientos caprinos destinados a la producción de leche y elaboración de quesos artesanales han presentado un gran avance en los últimos años.

La actividad lechera caprina, como tal, data de mediados de la década del '80 con dos emprendimientos pioneros, uno en la provincia de Santiago del Estero y otro en la provincia de Río Negro. Actualmente perdura el primero, con la principal cuenca lechera caprina del país y donde se instaló una usina láctea de primer nivel que destina su producción a la fabricación artesanal de quesos de cabra de excelente calidad, producto novedoso para nuestro mercado interno. Desde allí, se establece una primera etapa de expansión en la zona noroeste del país, luego hacia la zona centro y finalmente, en los últimos siete años hacia el resto de las regiones.

Actualmente, se conoce que existen establecimientos caprinos lecheros de diversas dimensiones en 16 provincias como puede observarse en la Tabla 1. Puede afirmarse que en la gran mayoría de los casos se han iniciado en la actividad buscando una alternativa rentable para pequeñas y medianas superficies.

En muchas provincias, la actividad se ha promocionado ya sea desde los gobiernos nacionales, provinciales y municipales como desde instituciones oficiales y/u organizaciones no gubernamentales, por ser una alternativa productiva para los minifundios. Se intenta aumentar la rentabilidad del predio con diversas formas de asistencia como asesoramiento técnico, entrega de reproductores mejoradores de la aptitud lechera, capacitación, organización e incluso con instalación de la planta elabo-



radora y comercialización del producto. Por otro lado, los emprendimientos particulares pueden tener financiamiento privado o estatal (Ley de Diferimiento Impositivo y Programa de Dinamización Productiva Regional) (Cong. Latin. Prod. Anim., 2000).

Dado el creciente auge que está tomando la producción caprina en nuestra provincia y en el país y teniendo en cuenta que la leche de cabra brinda una ortante potencialidad alimenticia; promover su producción e industrialización tiene la posibilidad de resolver tanto problemas vinculados con la salud y la nutrición como también sociales y económicos.

Cabe mencionar que alrededor de ocho mil familias cordobesas viven de la producción de derivados caprinos los que mejoran la dieta familiar; generaran ingresos y también empleo.

La implementación del Programa Caprino de la Provincia de Córdoba, organizado y conducido por la Agencia Córdoba Ciencia S.E. (ACC), ha posibilitado la participación de numerosos pequeños productores de cabra cordobeses contribuyendo así al desarrollo económico y social de una extensa región del norte y noroeste provincial.

El mencionado Programa ha propiciado la creación y desarrollo de dos plantas lácteas caprinas de propiedad compartida entre productores, municipios y la propia Agencia. Ellas se hayan ubicadas en las localidades de Rayo Cortado (Departamento de Río Seco) y San José de Traslasierra (Departamento de San Javier). Los productos elaborados en ambas plantas son leche fluida esterilizada envasada en botellas de vidrio de 1 litro (procesadas en autoclaves) y distintas variedades de quesos semiduros. Las botellas de leche también se distribuyen en forma gratuita, a través de los programas del Ministerio de Salud, en los hospitales públicos provinciales a niños que padecen alergia a las proteínas de la leche bovina.

La creciente importancia social del caprino justifica la realización de trabajos de investigación que sustenten técnicamente los programas de asistencia y desarro-

llo como también el planteo de estrategias de gestión que orienten la diversificación y la explotación de subproductos para mejorar la rentabilidad y sustentabilidad de los sistemas caprinos (Arias y Alonso, 2002; Cong. Latin. Prod. Anim., 2000).

## **LECHE DE CABRA**

### **A. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

La leche de cabra, en comparación con otras usadas en la alimentación humana, tiene características especiales, como su alta digestibilidad y fácil asimilación, que le confieren un valor destacado en la nutrición. Su bajo potencial alergénico la convierte en un alimento apto para ser consumido por niños que presentan intolerancias alimentarias o son alérgicos a la leche de vaca. También es usada como sustituto lácteo en dietas de adultos que padecen trastornos digestivos y dermatológicos.

Las propiedades nutracéuticas e hipoalergénicas, han hecho que la leche caprina y sus derivados reciban en los últimos años mayor atención mundial y nacional. Actualmente es consumida por más del 50 % de la población mundial (Gilbere y Hom, 2002; Chacón Villalobos, 2005; Páez y Maggio 2002).

En la Tabla 2 se muestra la composición general promedio de la leche de cabra comparada con la de vaca, que es la que más conocemos y con la humana como punto de referencia nutricional. Varios son los factores que afectan la producción y composición de la leche. Entre los principales se pueden mencionar la alimentación, la raza, el potencial genético, sistema de producción, la estación del año, la etapa de lactancia y la sanidad. Por tal razón, pueden hallarse valores diferentes de concentración, para los principales componentes, grasa y proteínas, cuando se consultan distintas fuentes bibliográficas.

En nuestro país, se han realizado diversos estudios sobre la composición química de la leche caprina, con el objetivo de aumentar los conocimientos que ayu-

den a mejorar su calidad y definir el destino industrial de la misma (Misiunas et. al 1999; Cravero et. al 2004) o bien caracterizar la leche de la raza Criolla (Oliszewski et al., 2002; Dayenoff et al., 2002). La Tabla 3 muestra los valores promedio de los principales parámetros cuantificados en estos trabajos. Las diferencias observadas podrían explicarse por la influencia de diferentes factores, raciales, ambientales y/o de manejo, como ya se ha mencionado.

Cabe señalar que la mayoría de los establecimientos caprinos en Argentina son mixtos, es decir que producen carne y leche. En general no cuentan con razas lecheras puras sino con animales criollos o cruza de doble propósito.

## B. ASPECTOS NUTRICIONALES

### 1. Proteínas

Si bien, la concentración proteica total puede ser similar a la de la vaca, la diferencia fundamental radica en la composición porcentual de las distintas fracciones casearias (Tabla 4) y en el tamaño de las micelas.

Las cantidades y composición de las caseínas determina el tamaño de las micelas, debido principalmente a los tipos de aminoácidos y los locus que ocupan en las cadenas polipeptídicas, como también a la presencia de diferentes cantidades de grupos fosforados (Vega y León et al., 2005). Esta estructura molecular hace que varíen las cargas eléctricas, el peso molecular y la hidrofobicidad de las distintas caseínas, lo que causa cambios en las propiedades físicas y químicas. Por todo lo anterior, el tamaño micelar promedio de la leche de cabra es más pequeño (50 nm) en comparación con el de la leche de vaca (75 nm) (Alais, 1985; Vega y León et al., 2005; Haenlein, 2004).

En cuanto a la composición, los valores de  $\alpha$ s1-caseína en la leche caprina, son muy bajos y en algunos casos esta fracción está ausente, dependiendo del tipo genético (Jenness, 1980; Haenlein, 1998), lo que hace que la  $\beta$ -caseína sea cuantitativamente la proteína principal.

El bajo contenido o ausencia de  $\alpha$ s1-caseína, como sucede en leche humana, es lo que explica que un infante intolerante a la leche de vaca pueda responder bien a la leche de cabra ya que esta fracción es una de las principales responsables de la hipersensibilidad asociada al consumo de leche bovina (Maree, 1978; Grezesiak, 1989; Capra 2004). Por otra parte, la tensión del cuajo está relacionada con la cantidad de esta fracción en la leche, dado que bajas cantidades de la misma tienden a generar una estructura altamente hidratada, más abierta y menos firme. Esto está directamente relacionado con una mejor digestibilidad de la leche de cabra, ya que la cuajada formada a nivel gástrico es más fina, suave y friable.

La consistencia del coágulo, a nivel gástrico, no sólo se caracteriza por su alta suavidad, sino también porque se presenta en forma de pequeñas hojuelas (hecho favorecido por el reducido tamaño micelar), lo que implica la formación de grumos pequeños fáciles de digerir que experimentan un menor tiempo de tránsito gástrico (Haenlein, 2002; Vega y León et al., 2005). Esta disminución en el tiempo de digestión, deja menos residuos sin digerir que pueden ser presa de fermentaciones indeseables a nivel del colon causando síntomas muy molestos, sobre todo en adultos que padecen desórdenes gastrointestinales y úlceras. También es la razón por la que la lactosa de la leche de cabra causa menos problemas de intolerancia al no haber tiempo suficiente para su acentuada fermentación en el colon (Richardson, 2004; Boyazoglu and Morand-Fehr, 2001; Haenlein, 2002).

## 2. Grasa

La composición básica de la grasa de la leche de cabra también difiere de la de vaca, como puede observarse en la Tabla 5.

Una característica de la leche de cabra es el pequeño tamaño de los glóbulos grasos. En igualdad de concentración de grasa, la leche de cabra tiene un número de glóbulos grasos dos veces mayor que la de leche de vaca, con un diámetro medio de 2 micras, mientras que el de esta última es de 5 micras. Dicha situación es de interés en el campo de la nutrición, ya que se conoce que si el tamaño del glóbulo

graso es pequeño, su tiempo de residencia en el tracto gastrointestinal es menor y con ello se favorece su absorción hacia el torrente circulatorio (Haenlein, 1995; Jandal, 1996; Vega y León et al., 2005).

El tamaño de los glóbulos y la ausencia de aglutinina (proteína cuya función es agrupar los glóbulos grasos para formar estructuras de mayor tamaño que facilitan su separación), son las razones por las cuales la leche de cabra se encuentra naturalmente homogeneizada y de una manera muy superior a la que se logra por efecto mecánico, como el que se aplica a la leche de vaca (Alais, 1985; Haggag et al., 1987)

En cuanto a su composición, el 35% de sus ácidos grasos están dentro de la categoría de ácidos de cadena corta y media (C6:0 - C14:0) comparado con el 17% de la leche de vaca (Tabla 5). Los ácidos caproico (C6:0), caprilico (C8:0) y cáprico (C10:0), que son los que le imparten a los productos de leche de cabra como el queso, un sabor único, constituyen un total del 15% contra un 5% en la de vaca (Haggag et al. 1987; Chacón Villalobos, 2005).

Cabe aclarar que la leche de cabra no debería presentar problemas de rechazo en el consumidor debido a su olor, usualmente atribuido a los ácidos grasos de cadena mediana. Normalmente estos ácidos se encuentran encapsulados dentro del glóbulo graso, por lo cual la leche adecuadamente manipulada es difícil de distinguir de la leche de vaca por el olfato. Los problemas se dan cuando la membrana del glóbulo graso se rompe y la lipasa presente en la leche cruda o mal pasteurizada, hidroliza a los triglicéridos liberando estos ácidos grasos. Esta membrana es más sensible en la leche caprina que en la bovina.

Los ácidos grasos al ingresar a nuestro organismo, toman diferentes rutas metabólicas según el largo de su cadena. Las uniones éster de los ácidos de cadena corta y media son preferidas por las lipasas por lo que son fácilmente oxidados para la obtención de energía y no pasan a formar parte del tejido adiposo como preferentemente lo hacen los de cadena larga. De esta manera no contribuyen a la obesidad

ni se relacionan con los problemas cardiovasculares. Si además se tiene en cuenta, que el pequeño tamaño de los glóbulos ofrece una mayor área superficial para el ataque enzimático, se puede concluir que la digestibilidad será mayor para la leche caprina (Jenness, 1980; Haenlein, 1980, 2002, 2004).

En las últimas décadas, estos ácidos han tomado un considerable interés para la profesión médica por sus beneficios únicos en muchas de las enfermedades metabólicas humanas. Ellos han sido usados para el tratamiento de síndromes de mala absorción, enfermedades coronarias, nutrición de niños prematuros, fibrosis quística, hiperlipoproteinemias y problemas de cálculos biliares. También se demostró que baja el colesterol sérico inhibiendo y limitando su depósito en tejidos. Lo que se acaba de exponer se contradice con el miedo de consumir grasa con la dieta ya que la que proviene de la leche de cabra tendría ventajas especiales para la salud.

La leche de cabra y productos derivados, principalmente quesos y yogur, están cobrando gran importancia, tanto en la alimentación como en la medicina humana, ya sea para tratar desórdenes gastrointestinales como aliviar las intolerancias a la leche de vaca (Babayan, 1981; Nutting et al. 1991; White et al. 1991; Haenlein, 1992).

### 3. Minerales y Vitaminas

El contenido mineral es superior en la leche de cabra que en la de vaca, en especial en la cantidad de cloruros, fósforo y potasio (Tabla 2). El contenido elevado de cloro suele asociarse con las propiedades laxantes de la leche caprina (Richardson 2004). Sin embargo, es pobre en algunas vitaminas, como B-12, B-6 y ácido fólico.

La mayor concentración de vitamina A, se debe a que la cabra convierte más eficientemente el  $\beta$ -caroteno proveniente de la dieta, de ahí que la proporción de este precursor en la leche sea menor y por lo tanto el color de la misma sea intensamente blanco.

Es importante notar que los valores absolutos comparados, no dan una información nutricional adecuada ya que debería indicarse también la biodisponibilidad. Muchos estudios han demostrado que si bien la leche materna posee un bajo contenido mineral, la biodisponibilidad de los mismos, comparada con otras leches, es elevada ya que otros nutrientes presentes en la composición, facilitan la absorción, metabolismo y excreción de los mismos. Por ejemplo, las concentraciones de hierro tanto en leche humana como en la vacuna son similares, sin embargo la absorción del hierro aportado por la leche materna es cinco veces mayor, proceso facilitado por la presencia de lactosa y vitamina C (Reinert do Nascimento y Issler, 2003).

Es ampliamente reconocido que ciertas diferencias fisiológicas y anatómicas, entre cabras y vacas, se trasladan a las diferencias composicionales de la leche y sus productos.(Haenlein, 1992, 1996, 2001). De ahí que, la leche de cabra como sustituto de la tradicional leche de vaca ha comenzado a merecer la atención de gobiernos y entidades privadas.

El interés radica en la potencialidad que tienen estos productos, ya que pueden ser consumidos por grupos que presentan intolerancia a los lácteos de origen bovino. La creciente demanda en el mercado de productos de origen caprino, sustenta la posibilidad de que la producción e industrialización de la leche se vea proyectada como un nicho esencial dentro del sector de la industria lechera internacional y nacional.

Esto ha determinado que organismos de gobierno que regulan la industria lechera a nivel internacional establezcan patrones diferentes para la leche y sus productos, de ambas especies; lo cual tiende a asegurar regulaciones equitativas de control de calidad para la comercialización de los mismos, como así también al establecimiento de pautas productivas para los productores de leche caprina (Haenlein, 2004).

## LA LECHE COMO ALIMENTO

La leche más adecuada es la de la propia especie, ya que cada una nace con diferente grado de desarrollo, con diferentes necesidades de protección y en muchos casos utiliza para ello distintos mecanismos. En consecuencia, la mejor leche para un niño en sus primeros meses de vida es la leche de su madre y así lo recomiendan todos los expertos.

La leche materna es un alimento complejo y aún cuando fuese posible imitar artificialmente o biotecnológicamente todos sus componentes, sería muy difícil lograr que la interacción entre ellos fuese igual que la natural, de modo que tampoco se podrían conseguir los mismos efectos que los naturales producen en el organismo.

A pesar de los beneficios nutricionales e inmunológicos que otorga la leche materna, se ha observado a nivel mundial una disminución en el tiempo de amamantamiento.

Esto comenzó con la Revolución Industrial, al final del siglo XIX y se intensificó luego de la Segunda Guerra Mundial.

Las razones de esta declinación han sido atribuidas a los procesos de urbanización e industrialización que llevaron a la mujer a desempeñar otros roles en la sociedad moderna (Jelliffe y Jelliffe, 1979; Coates, 1993). A esto se le suma la exagerada propaganda de suplementos de leche maternizada, propia de la sociedad de consumo, que estimuló el dejar de amamantar en forma temprana.

Las leches “artificiales”, elaboradas a partir de leche de vaca, necesitan modificar muchos parámetros de su composición, para equiparar la significancia nutricional y funcionalidad de la leche materna. Dentro de las principales modificaciones se encuentran la reducción del contenido de sales minerales, el cambio de las proporciones de las diferentes proteínas, la sustitución de la grasa por otra más insaturada y el agregado de algunas vitaminas.



La leche de vaca contiene las primeras proteínas extrañas introducidas en la dieta porque, como se describió anteriormente, son estructural y cuantitativamente diferentes de las proteínas de la leche humana.

Estos componentes proteicos, completos o parcialmente hidrolizados, bajo ciertas condiciones fisiopatológicas en el primer año de vida (reducción en la secreción de interferón, inmadurez del enterocito) pueden penetrar la barrera intestinal y actuar como antígenos provocando respuestas inmunológicas perjudiciales conocidas como Alergia a las Proteínas de la Leche de Vaca (Martín Esteban et al. 1998; Sanz Ortega et al. 2001)

La sensibilización y respuesta inmune a los antígenos presentes en la la leche de vaca se produce dentro de los primeros días en que el bebé está siendo alimentado con una leche artificial y el objetivo fundamental cuando esto ocurre es evitar las proteínas lácteas de origen bovino y encontrar una adecuada sustitución.

Las reacciones de alergia a las proteínas de la leche de vaca era una patología rara hasta 1950. A partir de la siguiente década, sobre todo en los países desarrollados, se observó un incremento de éstas, probablemente por la disminución de la lactancia materna (Merret et al. 1988; Harris et al. 1989; Host et al. 1995).

Estudios realizados demostraron que la prevalencia de manifestaciones atópicas, incluyendo eczemas y alergias respiratorias, es más alta en el grupo de infantes que no fueron amamantados o que el período en el cual recibieron leche materna, fue muy corto (Merret et al. 1988; Saarinen y Kajosaari, 1995).

Una problemática aún mayor que se da por el consumo de leche de vaca, es la mala digestión de su principal hidrato de carbono, la lactosa.

La mala digestión de la lactosa, a partir de 1960, ha sido intensamente investigada desde el punto de vista bioquímico, genético y desde la biología molecular (Suarez y Savaiano, 1997). Se produce por la carencia o bajos niveles de lactasa,

enzima encargada de desdoblar la lactosa a nivel intestinal, en glucosa y galactosa para su asimilación.

La lactosa no hidrolizada pasa a la parte inferior del intestino donde es fermentada por distintas bacterias. El efecto hiperosmótico provocado por su acumulación en la luz intestinal, conduce a intensas diarreas líquidas y su fermentación produce gases que generan distensión y fuertes dolores abdominales. Toda esta sintomatología se conoce con el nombre de Intolerancia a la Lactosa. Su impacto en la salud humana es grande ya que aproximadamente el 75% de la población adulta en el mundo la padece (Peuhkuri, 2000; Vesa et al. 2000; Veith, 2004).

## **ALERGIA A LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE**

La alergia alimentaria es principalmente un problema de la infancia. Generalmente se desarrolla en el mismo orden en que se introducen los alimentos en la dieta.

Muchos alimentos son capaces de causar síntomas de alergia, sin embargo la causante mayor, es la leche de vaca por ser el primer alimento utilizado en la nutrición infantil y por contener las primeras proteínas extrañas introducidas con la dieta (Host et al., 1988; Kleinman et al., 1991).

Los síntomas se desarrollan entre las 2 y 4 semanas de edad y casi siempre aparecen dentro de los primeros 6 meses de vida (Deamer et al. 1979; Robertson et al., 1982). Se ha determinado que entre un 0.5% y 10% de niños menores de un año, desarrollan alergia a las proteínas de la leche de vaca. En el 90 % de los casos suele desaparecer al año de vida, pero en el 10 % restante puede tener una duración superior a los 5 años (Host et al. 1995; Kamel maz et al. 1999)

Si bien sus mecanismos etiológicos no están del todo claros, existe un aumento de la permeabilidad del epitelio intestinal que favorece el pasaje de macromoléculas proteicas que estimulan al sistema inmune. En un proceso normal de digestión,

las proteínas son hidrolizadas por la pepsina estomacal, enzimas pancreáticas y peptidasas intestinales, transformandose en amino ácidos y pequeños péptidos que son absorbidos activamente por los enterocitos.

Específicos e inespecíficos sistemas de barrera limitan el ingreso de proteínas intactas y decrecen la exposición de ellas al sistema inmunológico, pero muchas logran atravesar la barrera de la mucosa intestinal provocando una respuesta de hipersensibilidad mediada por anticuerpos específicos IgE . Generalmente son proteínas o polipéptidos de peso molecular comprendido entre 18000 y 40000 daltons que son resistentes al calor y estables en medio ácido, de ahí que no sean fáciles de digerir (Metcalf et al., 1985). La magnitud de la respuesta inmune depende tanto del estado fisiopatológico y antecedentes genéticos del niño como de la cantidad de antígenos absorbidos (Heyman et al., 1992).

La *alergia a la leche de vaca*, es un tema muy complejo ya que en su composición proteica existen alrededor de 18 proteínas capaces de producir péptidos reactivos (Nestle, 1987; Businco y Bellanti, 1993; Lopez, 2000; Crittenden y Bennett, 2005).

Las caseínas,  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, principales componentes proteicos de la leche, parecen ser los principales alergenicos (Baldo et al., 1984; Taylor et al., 1986). En un comienzo se creyó que la  $\beta$ -lactoglobulina era la responsable ya que no existe en la leche humana; pero estudios comparativos con las caseínas no encontraron diferencias significativas (Haenlein, 2004).

Las  $\alpha$ -lactoalbúminas y  $\beta$ -lactoblobulinas que son proteínas que se encuentran en la fracción acuosa de la leche (el suero) son menos problemáticas para la producción de reacciones alérgicas ya que son alterables por la acción del calor (termosensibles) y por lo tanto su poder alergénico se inactiva en productos tratados térmicamente como las leches en polvo o de larga vida tipo UAT (Buergin-Wolff, 1980; CAPRA, 2004). Por el contrario, las caseínas, fracción proteica mayoritaria de la le-

che, son termoestables y por lo tanto mantendrán su capacidad antigénica aunque hayan sido tratadas térmicamente.

Ha sido demostrado que alrededor del 40% de los niños alérgicos presentan alergia a las  $\alpha$ s<sub>1</sub>-caseína y a algún tipo de  $\beta$ -caseína (Chacón Villalobos, 2005). La alergia se caracteriza por presentar reacciones adversas principalmente en el tracto gastrointestinal, aparato respiratorio y piel, manifestándose a través de vómitos, diarreas, colitis, problemas de malabsorción, eczemas, urticaria, rinitis, asma, bronquitis (McClenathan and Walker, 1982, Husby et al., 1990).

Anormalidades como aclorhidria, fibrosis quística, deficiencia de IgA, inmadurez del sistema gastrointestinal, entre otras, pueden incrementar el pasaje de proteínas alimentarias a través del epitelio intestinal. Para el desarrollo de la alergia es necesario que los antígenos puedan penetrar a través de la barrera intestinal y en segundo lugar, que los antígenos absorbidos puedan causar respuestas inmunológicas perjudiciales.

Una reducción en la secreción de interferón, un hallazgo constante observado en estos pacientes, puede explicar el aberrante transporte de antígenos en estos casos. La capacidad de producción de este interferón, unida a la madurez del enterocito, sobre el año de vida, sería la explicación de la tolerancia de los antígenos, en cambio una menor producción en determinados casos explicaría el retraso de la tolerancia y una prolongación del proceso.

La terapia comunmente aplicada por los pediatras es el cambio a una fórmula basada en proteínas de soja, sin embargo entre un 20% y 50% de todos los niños intolerantes a la leche de vaca reaccionan también adversamente contra estas proteínas; por el contrario un 40% tolera perfectamente la leche de cabra (Brenneman, 1978; Zeman, 1982; Isolauri, 1995).

La leche de cabra y sus productos como el queso y el yogur, están cobrando gran impacto por sus beneficios sobre la salud humana, sobre todo en lo relacionado a la alergia a las proteínas.

La composición proteica particular de esta leche y su mayor digestibilidad, como se describió anteriormente, ha permitido que en los últimos años se haya transformado en un recurso alimenticio con muy buena respuesta en niños sensibilizados contra las proteínas de la leche de vaca.

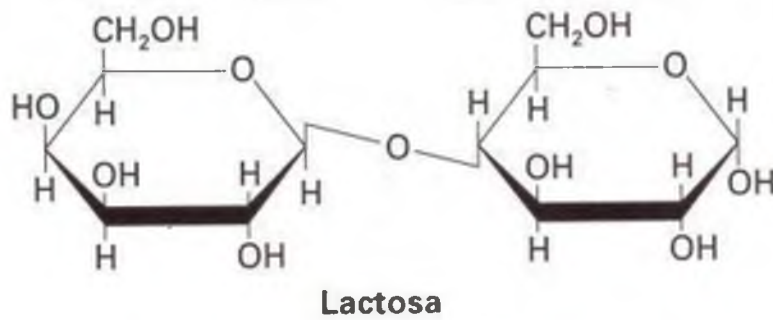
Su uso como alimento hipoalergénico en niños o como sustituto lácteo en dietas de adultos que padecían eczema, asma, úlcera gástrica y dolores abdominales debido a la leche de vaca, ha sido reportado en numerosa bibliografía, lo que argumenta el beneficio de incorporarla en la dieta, además de sus otras propiedades nutricionales (Park, 1994; Haenlein, 2004).

## **INTOLERANCIA A LA LACTOSA**

Desde el punto de vista nutricional, la intolerancia a la lactosa priva la ingesta de varios productos lácteos que son una excelente fuente de calcio y proteínas de alta calidad, como así también de otros minerales y vitaminas.

Es de destacar que la alergenicidad a las proteínas de la leche de vaca es sinérgicamente aumentada por la intolerancia a la lactosa (Cuevas Fernandez, 2000).

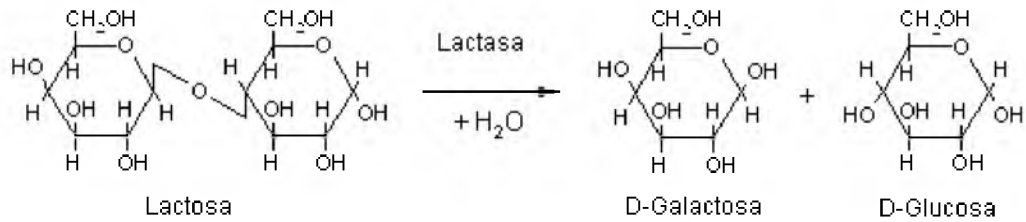
La lactosa o azúcar de la leche, es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa que se encuentra en leche y otros productos lácteos:



Su concentración en leche de vaca, cabra y oveja es muy constante y su valor se encuentra cerca del 5%. Dado que la estructura de este disacárido es la misma en todas las especies, los problemas de mala digestión e intolerancia se presentan por igual independientemente de su procedencia.

La hidrólisis de la lactosa en leche y otros productos lácteos por la enzima  $\beta$ -Galactosidasa (E.C.3.2.1.23), tradicionalmente conocida como lactasa, es de considerable interés en la industria láctea ya que más del 70% de la población mundial sufre de mala digestión o de intolerancia a la lactosa (Suarez y Savaiano, 1995; Tuu-la et al. 2000; De Vrese et al., 2001)

La habilidad para digerir la lactosa depende de la presencia de la enzima lactasa localizada en el borde de las microvellosidades del intestino delgado. Esta enzima produce la hidrólisis de la lactosa y los monosacáridos obtenidos, glucosa y galactosa (Figura 1), son fácilmente absorbidos por transporte activo.



**Figura 1:** Representación de la hidrólisis enzimática de la lactosa

La actividad de la lactasa incrementa en el período prenatal, última etapa de la gestación, y permanece en niveles altos durante la primera parte de la niñez; luego declina a valores muy bajos en la adultez (Sahi et al., 1978; Flatz, 1987; Peuhkuri, 2000). La caída de la actividad de la lactasa, desde la niñez a la adultez, es un patrón fisiológico normal en el 75%-90% de la población adulta mundial (Sahi, 1994; Renner, 1997).

Después de los 3-5 años de edad, la mayoría de la población mundial experimenta un 90-95% de pérdida de la actividad lactásica y estaría gobernada por un gen recesivo por lo que no debe considerarse una enfermedad (Gilat et al. 1972; Suarez et al., 1997; Scrimshaw and Murray, 1988)

Si la actividad de la lactasa es baja en relación a la cantidad de lactosa ingerida, ésta no puede ser totalmente hidrolizada en sus componentes y una cantidad incrementada de lactosa no hidrolizada, llega al colon.

La presencia de lactosa no digerida aumenta la presión osmótica con la consecuente secreción de agua y electrolitos al lumen intestinal, el peristaltismo se ve incrementado y se producen intensas diarreas (Banai, 1984). Por otra parte, la fermentación de la lactosa por las bacterias del colon producen gases tales como el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), hidrógeno (H<sub>2</sub>) y metano (CH<sub>4</sub>). Esta producción de gases en forma excesiva causa distensión abdominal, dolor, borborigmos y flatulencias, sintomatología comunmente referida como intolerancia a la lactosa. También pueden difundir al torrente circulatorio y ser eliminados por los pulmones a través de la respiración.

*Mala digestión o mala absorción de lactosa* son términos que describen una pobre capacidad de hidrólisis; en cambio el término *intolerancia a la lactosa* debería ser usado solamente para casos con síntomas clínicos persistentes, como los descritos anteriormente, ya que existen personas con baja actividad enzimática y que no presentan síntomas después de una dosis oral de lactosa (Rosado et al., 1987; Carraccio et al., 1998; Scrimshaw and Murray, 1988; Teuri et al., 1999; Peuhkuri, 2000; Peuhkuri et al., 2000).

El Test de Hidrógeno en el Aliento (BHT, siglas en inglés), que consiste en medir la cantidad de hidrógeno exhalado en la respiración luego de una dosis oral de lactosa correspondiente a 240 ml de leche (lo que equivale a 12 g de lactosa), es usado como un indicador sensible para detectar personas que padezcan una inadecuada absorción de lactosa. Por lo general, si la cantidad de hidrógeno en el aire expirado es igual o mayor a 20 ppm, por encima del valor basal, se considera un mal digestor de lactosa (Barillas y Solomons, 1987; Arola, 1994).

Las causas de la mala digestión de lactosa pueden ser clasificadas como: alactasia (pérdida casi total de lactasa por causas genéticas) e hipolactasia (restricción de lactasa, lactasa no persistente) que significa que hay baja actividad lactásica en la mucosa yeyunal. Puede ser primaria, es decir genéticamente programada o secundaria si es debida a injurias reversibles del tracto gastrointestinal (Savaiano et al., 1985; Brummer et al., 1993; Sahi, 1994; Peuhkuri, 2000). El término opuesto, normolactasia (lactasa persistente), es aplicado para aquellas personas quienes poseen una actividad moderada o normal.

La hipolactasia secundaria como ya fue mencionado, es consecuencia de otras enfermedades que dañan el epitelio intestinal. Pueden citarse las gastroenteritis infecciosas causadas por virus (rotavirus), parásitos (giardiasis) o bacterias. También enfermedades de carácter inmunológico como la sensibilidad al gluten (Enfermedad Celíaca) y el Síndrome de Inmunodeficiencia (HIV) (Ushijima et al., 1995; Gudmand-Høyer and Skovbjerg, 1996).



La disminución de la actividad de la lactasa en estos casos es generalmente temporaria y puede ocurrir a cualquier edad, aunque esta enzima es una de las más lenta de recuperar (Lentze et al., 1991).

La mínima dosis de lactosa necesaria para causar problemas gastrointestinales notables difiere entre individuos. La mayoría de los que padecían mala absorción, fueron capaces de tolerar 12 g de lactosa, dosis fisiológica que se usa en el test de tolerancia y que equivalen aproximadamente a 250 ml de leche (Suarez et al., 1995; Vesa et al., 1996; Renner, 1997).

Si la leche se ingiere con alimentos sólidos, los problemas gastrointestinales se reducen hasta un 50%, debido posiblemente a la caída de la velocidad de vaciamiento gástrico y del tránsito intestinal. Esto permite mejorar la acción hidrolítica de la lactasa y que la microflora del colon pueda metabolizar más eficientemente a la lactosa (Renner, 1997; Suarez et al., 1997).

El desarrollo de síntomas parece depender, en síntesis, de varios factores como la cantidad de lactosa consumida, vaciado gástrico, tiempo de tránsito gástrico-colon y vehículo de la lactosa (agua, leche, leche más otro alimento sólido).

Sin embargo, se observó que la población con un alto índice de deficiencia de lactasa que consumía leches fermentadas reducía la sintomatología.

En 1970 se sugirió que el yogur podría ayudar a mejorar la intolerancia a la lactosa y hoy en día se ha establecido perfectamente que mejora tanto la *mala digestión* como la *intolerancia* en la deficiencia de lactasa primaria y secundaria (Baer, 1970; Gilliland y Kim, 1984; Kolars et al., 1984; Martini et al., 1987; Pochart et al., 1989; Gendrel et al., 1990; Marteau, 1990; De Vrese et al., 1992; Shermak et al., 1995; Kuhn et al., 1996; Tuula et al., 2000)

# YOGUR

## A. HISTORIA

Desde la antigüedad, en diversas leyendas, proverbios populares, así como en textos literarios y religiosos se le han atribuido propiedades beneficiosas a las leches fermentadas. En el libro del Génesis se atribuye la longevidad de Abraham al consumo de leche acidificada.

El yogur sería originario del Asia Menor, de la zona del Cáucaso y el nombre proviene del término “jugurt” que es de origen turco y significa “ leche espesa, dulce”. Sin embargo, en otras partes del mundo es conocido bajo otros nombres. El *koumis* se menciona ya en Rusia, en el siglo IV a.C y el *leben* aparece en un texto médico árabe del año 633 a.C. Según otros historiadores, el yogur propiamente dicho tiene su origen en la leche ácida denominada *prokish*, preparada en Tracia, una región de los Balcanes.

En los comienzos, el yogur fue probablemente una fermentación espontánea llevada a cabo por las bacterias que residían en las bolsas de cuero de animales, que se usaban para el transporte de leche; debido a que los antiguos pueblos caucásicos, constituidos por pastores nómades, preservaban la leche de vacas, cabras u ovejas, en contenedores hechos del cuero o estómagos de estos animales.

En los comienzos del siglo XX, a partir del desarrollo de la microbiología, un biólogo ruso llamado Ilya Ilyich Mechnikoff, que era investigador del Instituto Pasteur de Paris, comenzó a estudiar los secretos del yogur de una manera científica, obteniendo por estos estudios el premio Nobel en 1908.

En su “teoría de la longevidad” sostenía que en el colon, parte del tracto final del intestino, se desarrollaban en gran cantidad bacterias dañinas capaces de producir serias enfermedades que dramáticamente acortaban la vida del hombre. En sus investigaciones, logró aislar de una muestra de yogur proveniente de un pueblo

búlgaro famoso por su longevidad, el bacilo responsable de su fermentación. Desde entonces este microorganismo ha sido llamado *Lactobacillus bulgaricus*.

Convencido de sus ideas y basándose en el alargamiento de la vida que tenían los campesinos búlgaros, estableció que el consumo regular de yogur u otras leches ácidas podrían mantener al intestino en condiciones saludables y de esta manera vivir muchos años más. Si bien, en su teoría exageró el valor del yogur, él influyó significativamente la difusión de este producto en muchos países de Europa y promovió la continuación de futuras investigaciones.

En 1919 un empresario español, Isaac Carasso, construye en Barcelona la primera planta industrial de yogur, conocida comercialmente con el nombre de "Dannon", por Daniel el nombre de su primer hijo. Luego de la Segunda Guerra Mundial, el hijo de Carasso desarrolla la industria del yogur en EEUU, quien a partir de entonces será más conocido como "Dannon" (Ortega et al., 2002; 'Yogurt Forever' 2002).

Actualmente a nivel mundial, los productos lácteos fermentados, constituyen una substancial proporción de los alimentos consumidos diariamente, ya que los consumidores han focalizado su interés en alimentos agradables, sanos y naturales que promuevan el bienestar general.

## B. PRODUCCIÓN Y CONSUMO

Es interesante destacar que en los primeros cinco años de la década del 90, mientras la producción de los principales países (Alemania, EEUU, España, Francia, Reino Unido) crecía en un promedio del 10% Argentina lo hacía en un 70%, valor acompañado de un crecimiento muy marcado del consumo interno como consecuencia de la fuerte recuperación del poder adquisitivo, de activas campañas de promoción y de cambios en los hábitos de los consumidores (Rev.Alim.Arg.Nº2,1997).

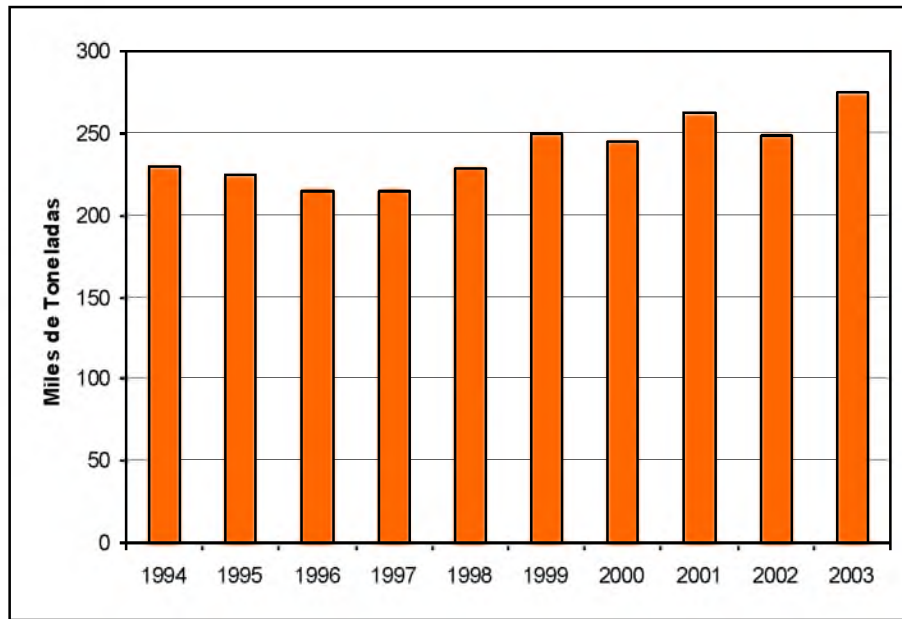
En la década 1994-2003 la producción de yogur y leche cultivada en nuestro país continúa creciendo aunque con algunos altibajos, presentando una expansión

del 1,8% anual (Figura 2). En el 2004 la producción de yogur logra el record de un 30% más con respecto al año anterior (Rev.Alim.Arg.Nº27, 2005).

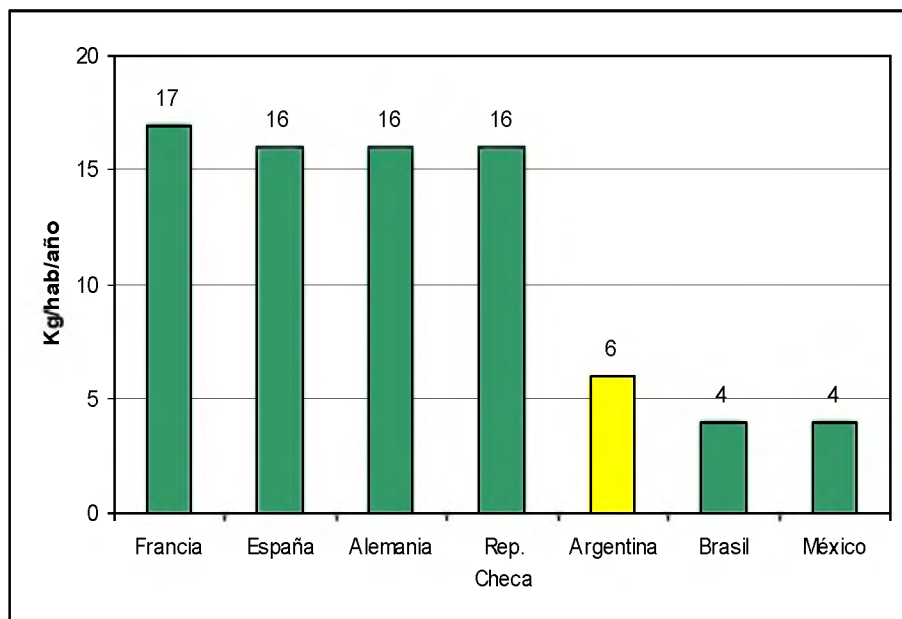
En el mercado mundial, aumenta la demanda de productos fermentados como resultado de la tendencia a incorporar en la dieta alimentos naturales, frescos y sanos.

En el año 2003, el consumo per capita argentino, particularmente de yogur, supera en un 50% a Brasil y México, los dos países latinoamericanos que le siguen en importancia, pero representa tan sólo un tercio del promedio del grupo de las principales naciones consumidoras a nivel mundial, lo que marca el gran potencial de crecimiento de nuestro mercado interno (Figura 3).

El mercado de yogur es uno de los más dinámicos del sector lácteo y la estrategia es la diferenciación constante con fuertes inversiones en investigación y desarrollo, innovación tecnológica y publicidad.



**Figura 2:** Producción anual de yogur y leche cultivada en Argentina



**Figura 3:** Consumo per capita de yogur en Argentina y otros países (Año 2003).

El permanente lanzamiento de nuevos productos desencadenan una intensa competencia para cubrir las necesidades de segmentos de consumidores cada vez más específicos como niños, jóvenes, deportistas, mujeres, adultos mayores, celíacos.

De esta manera, las principales empresas de nuestro país (Danone, SanCor, Manfrey, Parmalat, Nestlé Argentina) elaboran nuevos yogures que se diferencian por su consistencia (firmes, batidos y bebibles), por su contenido graso (con crema, enteros, parcialmente descremados o descremados) y por su sabor (naturales o saborizados). A estas presentaciones hay que sumar una diversa gama de agregados: trozos o pulpa de fruta, cereales, crema, miel, organismos probióticos, sulfato ferroso, calcio y vitaminas, entre otros. (Rev. Alim. Arg. N°27, 2005 y N°32, 2006).

Sin embargo, no es común encontrar yogures deslactosados en el mercado lácteo.

Actualmente, en algunos países de Latinoamérica como Costa Rica, Colombia y México, existen empresas lácteas que además de producir "leche deslactosada" han ampliado el uso de la enzima lactasa a productos fermentados y tienen en el mercado una línea de "yogur deslactosado" (Mundo Lácteo y Cárnico-Julio/Agosto-2005)

### C. DEFINICIÓN

El yogur es un tipo de leche fermentada obtenida por coagulación y disminución del pH de la leche por fermentación láctica, mediante la acción de cultivos de microorganismos específicos.

El Código Alimentario Argentino en su Capítulo VIII- Art. 576.(1.1.1) define al Yogur como *"la leche fermentada cuya fermentación se realiza con cultivos protosimbóticos de Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus y Streptococcus salivarius subsp.termophilus a los que en forma complementaria pueden acompañar otras bac-*

*terias ácido-lácticas que, por su actividad, contribuyen a la determinación de las características del producto terminado".*

#### D. ELABORACIÓN

Para la elaboración del yogur puede utilizarse leche de diferentes especies de animales como vaca, cabra, oveja y búfala, entre otras. En nuestro país sólo se utiliza a nivel industrial leche de vaca, que puede ser entera, parcialmente descremada y descremada.

El proceso de elaboración cuenta con varias etapas previas a la fermentación como la estandarización, homogeneización y tratamiento térmico de la leche y una posterior, el enfriamiento; que son indispensables para lograr un producto con adecuadas viscosidad y características organolépticas.

Con la finalidad de modificar sus propiedades, mejorar su conservación y lograr un alimento atractivo para el consumidor, se agregan usualmente los aditivos.

- ◆ **Estandarización de la leche:** Se recomienda concentrar previamente la leche o más sencillamente añadir antes de la pasteurización una cantidad apropiada de leche en polvo descremada (1- 2%), con el objeto que la cantidad de sólidos totales alcance un valor entre un 12 o 14% aproximadamente. Este incremento le confiere al yogur una mejor consistencia, minimizando el desuerado.
- ◆ **Homogeneización:** es importante porque evita la separación de la grasa durante la incubación. La ruptura de los glóbulos grasos a tamaños más pequeños influencia la consistencia y viscosidad del yogur, principalmente porque permite la incorporación de glóbulos finamente divididos en la estructura del coágulo generando una textura suave (Rasic y Kurmann, 1978).
- ◆ **Tratamiento térmico de la leche antes de la fermentación:** la pasteurización de la leche, se puede realizar a 90°C durante 3-5 minutos si es en forma continua o a 85°C durante 20 minutos si es discontinua. Un calentamiento de esta natura-

leza permite la eliminación de microorganismos que puedan competir con el fermento e inactiva sustancias que puedan inhibirlo. Además, contribuye a la desnaturalización de las proteínas solubles, lo que produce un coágulo de textura consistente, suave y viscosa. La coagulación incide favorablemente en las propiedades hidrofílicas de estas proteínas y por consiguiente, en las características reológicas del coágulo (Veisseyre, 1988). Desde un punto de vista nutricional la desnaturalización, mejora la digestión de estas proteínas ya que la destrucción de la estructura espacial ordenada y los enlaces rotos, favorecen el acceso de las proteasas (Alais, 1985).

- ◆ **Enfriamiento:** Luego de la incubación, el enfriamiento es un paso importante para frenar la fermentación láctica y la postacidificación. Un pH entre 4.6-4.0 y una acidez titulable de 90°D -95°D (grados Dornic) al final de la fermentación, son condiciones óptimas para que el yogur no desuere y tenga una buena consistencia.
- ◆ **Agregado de Aditivos:** Los saborizantes, colorantes y estabilizantes son aditivos que se añaden intencionalmente al yogur con la finalidad de contribuir a su preparación y conservación, como así también potenciar la aceptación por el consumidor.

Los saborizantes son esencias o extractos derivados de frutas y de origen sintético, siendo los extractos naturales menos concentrados en sustancias aromáticas que estos últimos. Hay que tener en cuenta que el sabor del yogur fresco es menos pronunciado que el que tiene luego de 24 hs de almacenamiento, por lo que se debe tener precaución con la dosis agregada.

El color es muy importante para la aceptación del producto, ya que debe ser atractivo para el consumidor. Tan es así, que cada sabor debe ir acompañado de un color estandar que lo relacione. Generalmente los yogures saborizados con colores pálidos son rechazados, por lucir artificiales.



Los estabilizadores, hidrocoloides de origen animal (gelatina) o vegetal (pectinas, goma guar, alginatos, carragenatos), son los que modifican la textura y proveen de cuerpo y palatabilidad al yogur. Impiden la separación de la grasa y disminuyen la sinéresis durante el almacenamiento, manteniendo un gel constante con viscosidad y firmezas adecuadas hasta su consumo.

Los aditivos, en el proceso de elaboración, se agregan antes o después del tratamiento térmico, dependiendo si son termoestables o termolábiles, respectivamente.

Para ilustrar el procedimiento de elaboración de los distintos tipos de yogures que se comercializan en el país, en la Figura 4 se presenta un diagrama de flujo.

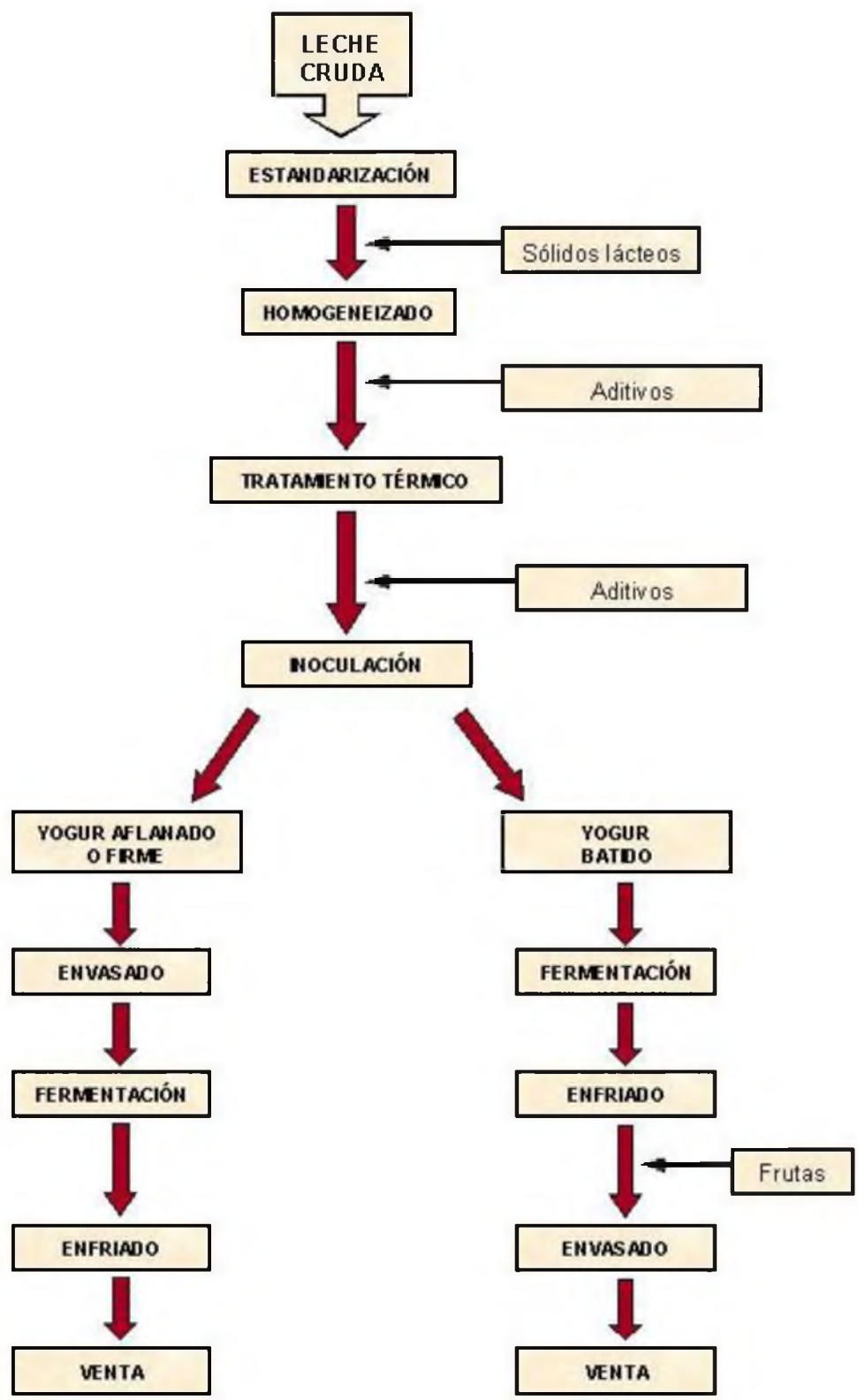


Figura 4: Elaboración de yogur. (Diagrama de flujo).

## E. VALOR NUTRICIONAL- FISIOLÓGICO

El contenido de nutrientes del yogur depende de la composición de la leche de la cual deriva, la cual es afectada por muchos factores como la genética, alimentación, estado de lactación, la estación y época del año.

La composición nutricional también es afectada por la especie y cepas de bacterias usadas en la fermentación, la fuente de sólidos que pueden ser agregados antes de la fermentación y la temperatura y duración del proceso fermentativo.

Si bien, la fermentación ácido láctica es la parte esencial en la preparación del yogur, además del ácido láctico se obtienen otros productos que influyen fuertemente las propiedades organolépticas y dietéticas del producto final; muchos de ellos son consecuencia de las hidrólisis de la grasa y proteínas. Por lo tanto, el valor nutricional-fisiológico del yogur, depende de los cambios que sufren los principales constituyentes de la leche, proteínas, grasa y lactosa, durante el proceso fermentativo.

### 1. Proteínas

Dentro de las proteínas de la leche se pueden distinguir dos grandes grupos, la caseína entera y las proteínas del lactosuero o proteínas solubles.

La caseína es un complejo de proteínas fosforadas y es característica de la leche, es decir que no existe una sustancia parecida ni en la sangre ni en otros tejidos de los mamíferos. Se encuentra en forma de pequeñas partículas llamadas micelas, que por el contenido de calcio y fósforo en su estructura, se conoce como complejo fosfocaseinato cálcico . Estas micelas exhiben una gran estabilidad en la fase líquida de la leche, no obstante, son sensiblemente afectadas por cambios en la concentración salina y en el pH.

Durante la acidificación inducida por el crecimiento de las bacterias lácticas, se produce una remoción gradual del calcio y fósforo que afecta la estructura y esta-

bilidad micelar. A un pH cercano a 5 se inicia la precipitación de la caseína, la que se completa a pH 4.6 (punto isoeléctrico), formando el característico gel láctico del yogur.

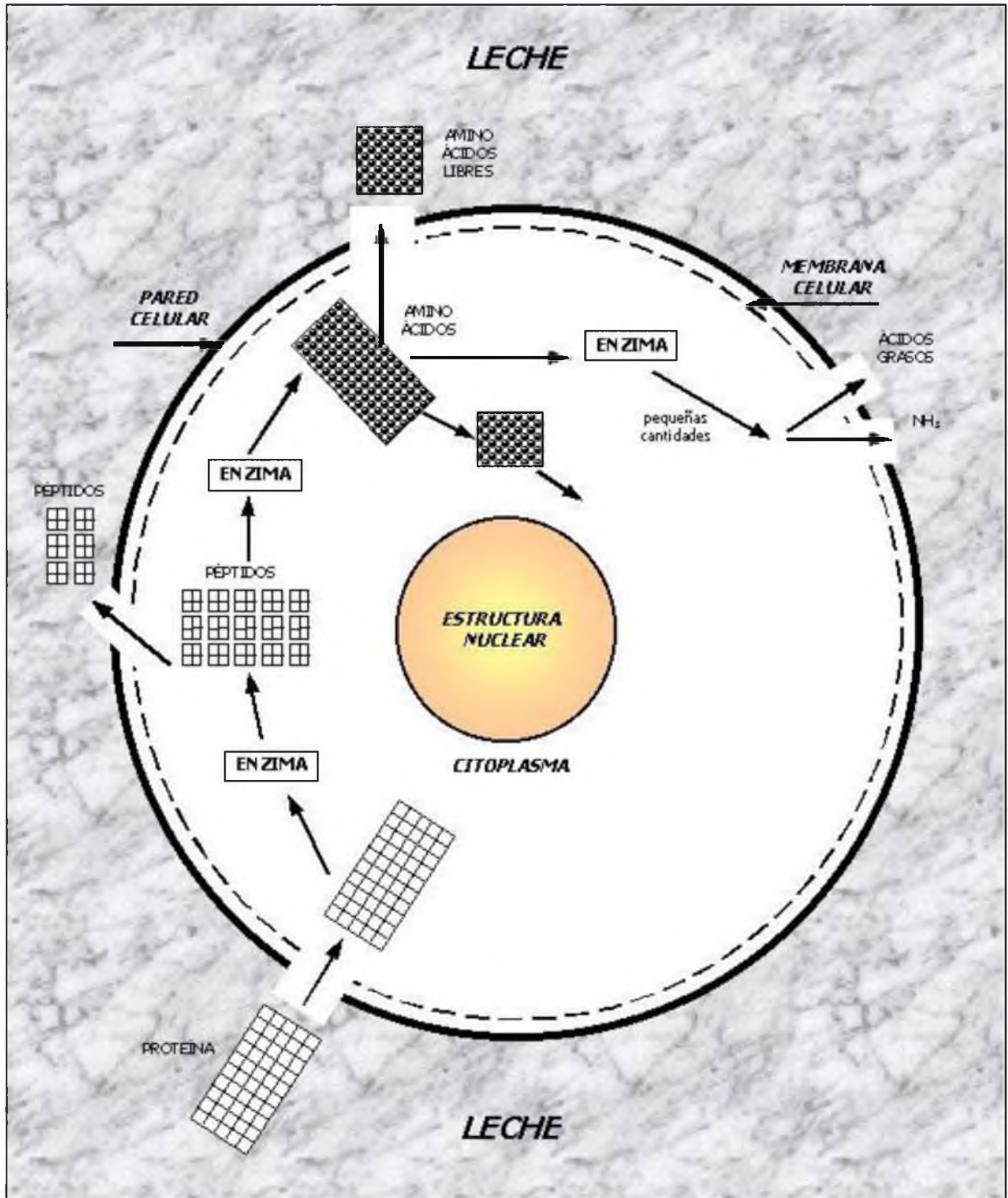
En contraste con la caseína, las proteínas del suero en su estado nativo, no son muy sensibles al cambio de pH, pero sí son afectadas considerablemente por los tratamientos térmicos, debido a que la mayoría de ellas tienen las propiedades de las albúminas y las globulinas ( $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina).

La pasteurización de la leche, previa a la fermentación, genera en este tipo de proteínas una significativa desnaturalización que hace que decrezca la solubilidad de las mismas en la zona del pH de coagulación de las caseínas. De esta manera se produce una coprecipitación, hecho importante para la estructura del coágulo del yogur (Rasic y Kurmann, 1978; Alais, 1985).

Cuando se compara con la leche, las proteínas del yogur son mejor digeridas. La acidificación láctica induce a la precipitación de las caseínas en forma de finas partículas, lo que incrementa su digestión por las enzimas del tracto digestivo.

Por otra parte, las enzimas proteolíticas del cultivo producen una predigestión de las mismas. Las proteinasas y peptidasas microbianas degradan las proteínas liberando péptidos de bajo peso molecular y amino ácidos (Figura 5). Estas enzimas no sólo actúan durante la elaboración sino también en el período de almacenamiento (Shahani, 1979; Hewitt, 1985; Loones, 1989; Beshkova, 1998)

Lo que evidencia esta actividad proteolítica, es el elevado contenido de amino ácidos libres en el yogur. Existe un considerable incremento en prolina seguido por el de serina, alanina, valina leucina e histidina durante la elaboración del yogur, mientras que el aumento es ligero durante el almacenamiento en frío.



Fuente: Rasic y Kurmann, 1978.

**Figura 5:** Representación del proceso proteolítico dentro de la célula bacteriana

Es de interés destacar que, la cantidad de amino ácidos libres encontrados en yogur, difiere significativamente según la especie animal de la que provenga la leche utilizada. La leche de cabra presentó mayor contenido que la de vaca, predominando la glicina y la prolina (Rasic y Kurmann, 1978; Adolfsson et al., 2004)

De esta manera, las caseínas y proteínas del lactosuero, que son ricas en amino ácidos esenciales y por lo tanto de alto valor biológico, son fácilmente digeridas luego de la ingestión de yogur.

## 2. Grasa

La grasa o lípidos de la leche también sufre cambios por la actividad biológica de las bacterias del yogur.

La hidrólisis enzimática de la grasa, llevada a cabo por las lipasas microbianas, produce su descomposición en ácidos grasos libres y glicerol facilitando de esta manera, la asimilación a nivel intestinal.

La cantidad relativa de ácidos grasos encontrados, depende de la especie animal de la cual procede la leche, es por ello que las cantidades de ácido caprílico (C8:0), láurico (C12:0) y mirístico (C14:0) son más altas en yogur elaborado con leche de cabra (Rasic y Kurmann, 1978). Cabe recordar que los triglicéridos de ácidos grasos de cadena mediana (C6-C14), cuyos contenidos son mayores en la leche caprina, si se la compara con la vacuna (Tabla 5), tienen un efecto beneficioso sobre la salud humana especialmente para aquellas personas que padecen problemas cardiovasculares.

La actividad de la lipasa se ve beneficiada por el tamaño de los glóbulos grasos; cuando son más pequeños el área superficial es mayor y facilita la acción enzimática.

Por lo tanto, el yogur elaborado con leche de cabra, comparado con el de vaca, presentaría una actividad lipolítica mucho más grande y como resultado de ello,

un incremento en la digestión de la grasa. Esta enzima mantiene su actividad durante el almacenamiento, influenciando las características organolépticas y dietéticas del yogur.

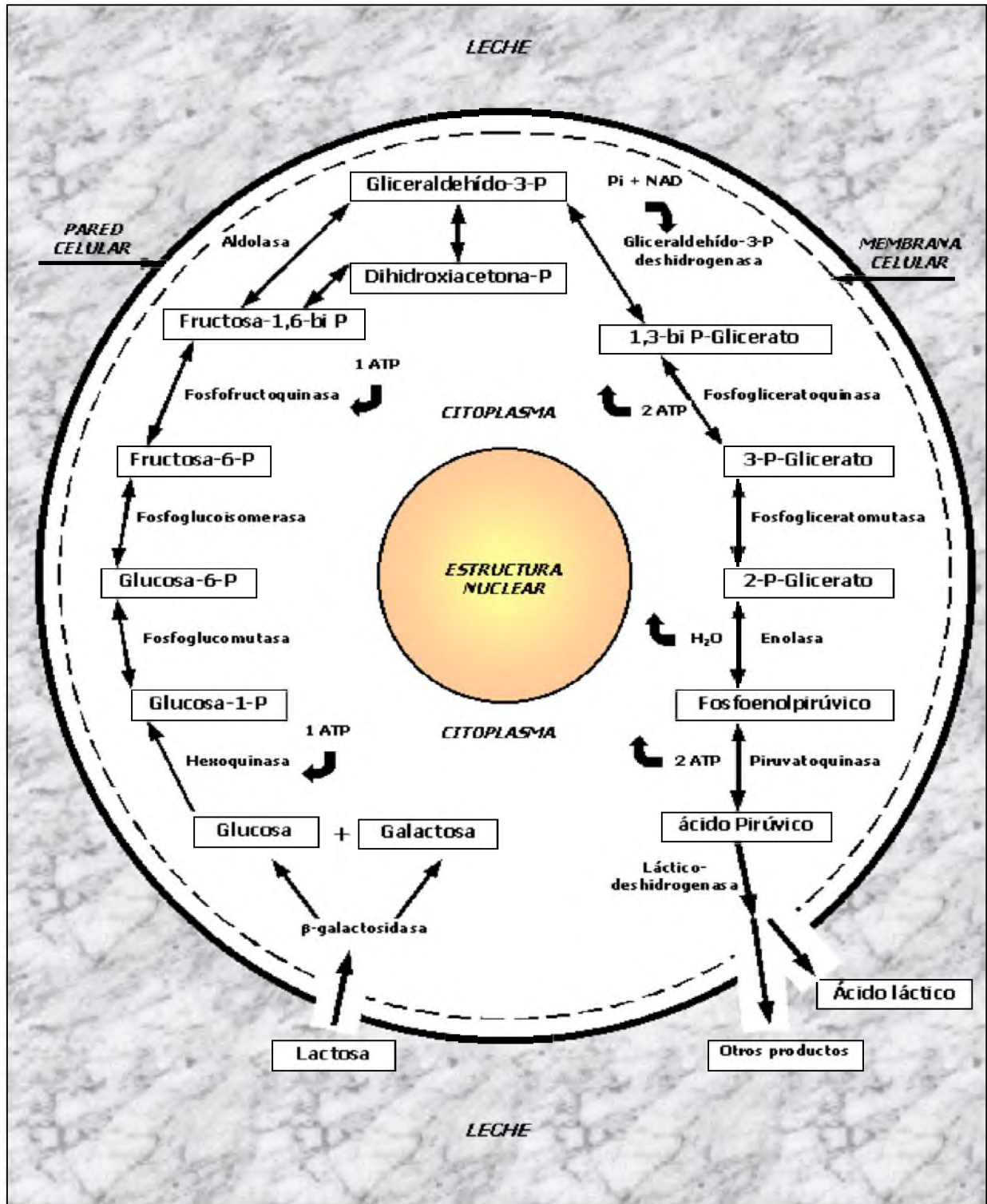
Existen otras fuentes de producción de ácidos grasos de bajo peso molecular (volátiles). La transformación de la lactosa, además de producir ácido láctico, provee pequeñas cantidades de estos ácidos. También en ciertos casos, las bacterias transforman algunos amino ácidos en ácidos grasos volátiles (Rasic y Kurmann, 1978; Chandan, 1993; Adolfsson et al., 2004).

### 3. Lactosa

Las bacterias ácido lácticas utilizan la lactosa como fuente principal de energía. Sin embargo no es utilizada directamente en el proceso fermentativo, sino que es previamente hidrolizada en glucosa y galactosa por la enzima lactasa o  $\beta$ -galactosidasa. Como es una endo enzima, la lactosa debe entrar dentro de la célula microbiana para ser posteriormente degradada.

La glucosa es catabolizada en forma anaeróbica por varias enzimas bacterianas, siguiendo la “ *Vía de Embden-Meyerhof* ”, obteniéndose como producto final entre un 85% y 98% de ácido láctico ya que son bacterias homofermentativas (Rasic y Kurmann, 1978) (Figura 6).

La galactosa no sería metabolizada. A las bacterias del yogur les falta las enzimas necesarias para epimerizarla a glucosa (Walstra y Jennes, 1984) y por otra parte, trabajos realizados demostraron que tanto el *S. Thermophilus* como el *L. Bulgaricus* no utilizan la galactosa libre porque tienen glucosa disponible. Esto estaría relacionado con el fenómeno de inhibición por catabolito (Lee et al., 1973; Bag, 1974; Turner and Martley, 1983).



Fuente: Rasic y Kurmann, 1978 (modificado)

**Figura 6:** Representación del proceso fermentativo en el interior de la célula bacteriana (Vía de Embden – Meyerhof)



La transformación de la lactosa durante la fermentación no es completa ( sólo un 20% o 30%), ya que a medida que incrementa la cantidad de ácido láctico se afecta adversamente a las bacterias del yogur. El *S.thermophilus* tolera hasta 0.8% mientras que el *L.bulgaricus* soporta hasta 1.7%, por encima de esos niveles se inhibe el crecimiento (Rasic y Kurmann, 1978).

Sin embargo los microorganismos patógenos son mucho menos tolerantes a la acidez; de ahí que el ácido láctico en el intestino, ejerce un efecto antagónico sobre el crecimiento de aquellos.

El yogur usualmente contiene 0.85-0.95 % (85-95°D) de ácido láctico cuando es suave y 0.95-1.20% (95-120°D) cuando es más ácido. Estas concentraciones son mucho más bajas que los límites de tolerancia expresados para el lactobacilo, por lo que es importante el enfriado del yogur inmediatamente terminada la fermentación, para impedir que siga desarrollándose y aumentando la acidez láctica del yogur; teniendo en cuenta que una acidez demasiado elevada no es aceptada por los consumidores.

Es muy importante resaltar que, si bien en el yogur el nivel de lactosa puede llegar a ser mayor que en la leche de origen (por enriquecimiento con sólidos lácteos antes de la fermentación) su consumo, como se explicará más adelante, alivia la mala digestión de este azúcar y es una excelente alternativa para el tratamiento de la intolerancia a la lactosa

## F. EFECTOS SOBRE LA SALUD HUMANA: ALIMENTO FUNCIONAL PROBIÓTICO

El valor del yogur no solamente esta basado en en sus propiedades nutritivas sino en el efecto benéfico que tiene sobre el ecosistema gastroentérico y sobre la salud en general.

Su ingesta determina la permanencia y/o colonización, aunque más no sea en forma subdominante, de una flora láctica acidificante. Esta flora, además de ejercer

una acción protectora contra el desarrollo de microorganismos enteropatógenos, modifica y/o elabora compuestos útiles para el desarrollo de bacterias beneficiosas (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Eubacterium* spp.)

Se ha demostrado que el *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus* (*Lb.bulgaricus*) y el *Streptococcus salivarius subsp.termophilus* (*Str. Thermophilus*) tienen la capacidad de superar la barrera gástrica, de adherirse a las microvellosidades del epitelio intestinal y dar lugar a mecanismos metabólicos y de defensa, que promueven el mejoramiento de la salud intestinal y por lo tanto del individuo en general (Bianchi Salvadori, 1986; Conway et al., 1987; Bianchi Salvadori et al., 1994)

El sistema inmune linfático del tejido gastrointestinal, juega un importante rol como la primera línea de defensa contra microbios patógenos ingeridos.

La interacción de las bacterias lácticas con la mucosa intestinal como también con las células linfoides residentes en el intestino, han sido sugeridos como los principales mecanismos por los cuales la ingesta de yogur mejoraría la función inmune del intestino y ejercería una acción antimicrobiana. Estas bacterias, operan sobre el sistema inmunitario inespecífico, es decir, sobre los macrófagos, aumentando su actividad. Ellos son los vigilantes que el organismo tiene para eliminar los gérmenes extraños. También tienen su acción sobre los linfocitos T (inmunidad específica), porque aumentan en estos linfocitos la producción de inmunoglobulina A secretoria, que es la que protege toda la mucosa. De ésta forma, se crea una barrera a nivel del intestino para evitar que los gérmenes patógenos puedan hacer daño. Esto es muy importante, porque además de actuar sobre la mucosa intestinal, lo hace también sobre la mucosa respiratoria. De esta manera, se pueden evitar tanto problemas intestinales como respiratorios (Aguirre y Collins, 1993; Guarner et al., 1993; Amster et al., 1994; Perdigon et al., 1995; Puri et al., 1996)

Existen evidencias epidemiológicas que demuestran que el yogur también tendría un efecto protector contra la formación de tumores en el colon ya que se encontró una correlación negativa entre la incidencia de ciertos cánceres, entre ellos el

de colon, y la ingesta de leches fermentadas (Ayebo et al., 1981; Shackelford et al., 1983; Peters et al., 1992; Wollowski et al., 1999).

Estas propiedades son entre otras las que definen al yogur como un *alimento funcional probiótico*.

*Alimento funcional*, porque es un producto alimenticio que además de su valor nutritivo intrínseco, tiene un efecto terapéutico o preventivo que ayuda a mantener el estado de salud general del organismo.

*Probiótico*, porque contiene microorganismos vivos que ejercen un efecto benéfico sobre el hospedador cuando son ingeridos en número suficiente. Cabe resaltar, que el concepto de *alimento funcional probiótico* comprende la estrecha relación existente entre alimento, salud y reguladores biológicos, dentro de los cuales las bacterias lácticas juegan un rol protagónico (Guarner et al., 1998; Sanders, 2000; Holzapfel y Schillinger, 2002; Bottazzi, 2004)

Algunos efectos probióticos atribuidos a las bacterias lácticas requieren mayores estudios in vitro y en modelos experimentales para poder confirmar el modo de acción, sin embargo otros, como el efecto sobre la disminución de la intolerancia a la lactosa, están muy documentados (Taranto et al. 2005)

## G. REDUCCIÓN DE LA INTOLERANCIA A LA LACTOSA

Uno de los efectos probióticos más consistentes y reproducibles del yogur, es la disminución de los síntomas asociados con la mala digestión de la lactosa.

Las personas que tienen problemas para digerir la lactosa digieren y toleran la lactosa contenida en yogur. Los problemas gastrointestinales son reducidos de 3 a 4 veces cuando se compara la ingesta de la misma cantidad de lactosa en leche y yogur (Savaiano et al., 1987; De Vrese et al., 2001; Adolfsson et al., 2004).

Como se destacó anteriormente, la leche utilizada para la producción de un yogur comercial es enriquecida en el contenido de sólidos no grasos (lactosa, proteí-

nas, cenizas) lo que determina que el nivel de lactosa en el producto final no es necesariamente menor al encontrado en leche; sin embargo la tolerancia es mucho mejor.

Existen al menos dos razones posibles por las cuales el consumo de yogur mejora la digestión de la lactosa.

La primera de ellas, es la liberación de la lactasa contenida en las células del fermento cuando éstas llegan al intestino (Kolars et al., 1984; Savaiano et al. 1984; Rosado, 1992). Las bacterias lácticas sobreviven en su pasaje a través del estómago, por lo tanto la estructura celular ayuda a proteger a esta endoenzima de la acidez gástrica y de las proteasas digestivas. Al llegar al intestino, las células son lisadas por las sales biliares y liberan la lactasa al lumen intestinal, facilitando de esta manera la hidrólisis de la lactosa residual (Kilara and Shahani, 1976; Gilliland and Kim, 1984). Sin embargo, en otros trabajos se demostró, que las bacterias lácticas del yogur no necesitan estar viables, sólo es importante que las células permanezcan íntegras durante el pasaje gastrointestinal, es decir que conserven su pared celular intacta, para que ésta pueda actuar como protección mecánica de la enzima (Martini et al., 1987; Montes et al., 1995; Barth et al., 1996).

Comparado con otras leches fermentadas o leches adicionadas con cultivos, el yogur tradicional tiene un efecto superior en la mala digestión de la lactosa. La explicación es, que el *Lac. bulgaricus* y el *Str. thermophilus* tendrían más alta concentración de lactasa con respecto a otras cepas de fermentos lácticos y serían más sensibles a la lisis por sales biliares (Onwulata et al., 1989; Sanders, 1993, Hove et al., 1994). Con respecto a esto último, cuando se compararon cepas de *Lactobacillus acidophilus* con las de *Lactobacillus bulgaricus* se encontró que las primeras tenían menor efecto sobre la intolerancia pese a tener la misma actividad de  $\beta$ -galactosidasa, diferencia que se adjudicó a una mayor dureza de la pared celular que impediría la fácil liberación de la endoenzima a nivel intestinal. (Lin et al., 1998; Saltzman et al., 1999).

La segunda razón, por la cual el yogur mejora la absorción de la lactosa, es que por su viscosidad y bajo pH, disminuiría la velocidad del tránsito gastrointestinal permitiendo que la lactasa disponga de un tiempo mayor para la hidrólisis.

Finalmente, se puede decir que el consumo de yogur provoca cambios adaptativos en las funciones del colon (motilidad, tránsito, pH) y en la flora colónica, que mejoran la tolerancia a la lactosa y alivian también síntomas de otros desórdenes gastrointestinales (De Vrese et al., 2001).

No obstante, el hallazgo de importantes incrementos en la concentración de hidrógeno en el aliento de individuos intolerantes, luego de consumir yogur, indicaron que la cantidad de  $\beta$ -galactosidasa del cultivo no siempre era suficiente para paliar los síntomas de la mala digestión (Kolars et al., 1984; Dewit et al., 1988; Marteau et al., 1990)

Por lo tanto, la producción de un yogur con alto grado de hidrólisis de lactosa mediante el agregado de lactasa exógena, estaría totalmente justificado porque reduciría significativamente los problemas gastrointestinales que provoca la intolerancia.

Según la búsqueda bibliográfica realizada, los yogures deslactosados son elaborados con leche de vaca a la que previamente se le ha hidrolizado la lactosa tratándola con lactasas comerciales, provenientes generalmente de levaduras como los *Kluyveromyces lactics* y *fragilis* (Richmond et al., 1981; Smith et al., 1982).

Con la aplicación de este procedimiento, no sólo se obtiene un producto con menor contenido de lactosa sino también una disminución del tiempo de fermentación debido a que las bacterias catabolizan de una manera más rápida y eficiente la glucosa disponible con respecto a la lactosa (Rasic y Kurman, 1978; O'Leary y Woychik, 1976).

Sin embargo, su desventaja es la inversión de tiempo para hidrolizar previamente la lactosa de la leche. El procedimiento de deslactosado, consiste en colocar la leche pasteurizada con la enzima en silos de almacenamiento, a una temperatura entre 6°C–10°C para contrarrestar el desarrollo de la flora residual. Como este rango de temperatura se encuentra lejos del óptimo correspondiente a la  $\beta$ -galactosidasa del *Kluyveromyces* (35°C–40°C), el proceso insume entre 15 y 20 horas para lograr aproximadamente un 85% de hidrólisis (Maxilact-Boletín Técnico).

Además de la desventaja del tiempo, está la calidad microbiológica de la leche, ya que un eventual crecimiento microbiano durante el proceso de deslactosado, puede competir con los fermentos específicos del yogur, logrando disminuir su eficacia.

## HIPÓTESIS

En este trabajo se plantea la siguiente hipótesis: Es posible obtener un yogur con un porcentaje de deslactosado similar al que se obtiene pre hidrolizando la leche de partida, realizando en forma simultánea la fermentación y la hidrólisis de lactosa.

## OBJETIVOS

### A. GENERALES

- ◆ Elaborar un yogur deslactosado de leche de cabra, que por sus características incremente sus atributos de alimento funcional.
- ◆ Realizar en una sola etapa y en forma simultánea la hidrólisis de la lactosa y la fermentación a efectos de reducir sensiblemente el tiempo de elaboración y el equipamiento necesario.

## B. ESPECÍFICOS

- ◆ Evaluar el efecto de la dosis de  $\beta$ -galactosidasa sobre la velocidad de fermentación.
- ◆ Identificar la dosis óptima de  $\beta$ -galactosidasa para obtener un mayor **porcentaje de deslactosado**.
- ◆ Comparar los porcentajes de hidrólisis logrados con las distintas dosis de enzima y sin ella.
- ◆ Determinar las concentraciones de lactosa, galactosa y glucosa, como así también el pH y acidez titulable, en el yogur obtenido con distintas dosis de  $\beta$ -galactosidasa y sin el agregado de la misma.
- ◆ Analizar la relación florística del fermento al finalizar cada una de las fermentaciones realizadas.

# MATERIALES Y MÉTODOS

---



## LECHE

Se utilizó leche de cabras cruce anglo-nubian x criolla proveniente de un tambo ubicado en la zona de Malagueño, provincia de Córdoba, Argentina.

De la leche mezcla de tanque, se extrajo una cantidad suficiente para cubrir los ensayos de laboratorio previstos durante la etapa experimental. Se estandarizó el contenido graso de la leche a 3% y se fraccionó el volumen obtenido en alícuotas de 150 ml que se conservaron a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Este procedimiento se efectuó para que la calidad composicional de la leche fuese la misma durante todo el desarrollo del trabajo.

## FERMENTO

Se utilizó un fermento liofilizado DVS ("Direct Vat Set"). Estos son cultivos concentrados y normalizados para inoculación directa en la leche. No **requieren re-siembra** ni otra forma de premaduración antes de ser utilizados.

El cultivo usado fue el Yo-flex YC-180 de Chr. Hansen. Este cultivo láctico termófilo, está constituido por una mezcla definida de cepas que contiene: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii* subesp. *bulgaricus* y *Lactobacillus delbruekii* subesp. *lactis*.

## ENZIMA

La enzima utilizada para la hidrólisis fue la  $\beta$ -galactosidasa de origen fúngico proveniente del *Aspergillus oryzae* (Lab.Sigma), cuyas características comerciales son: actividad de 9.400 Unidades/gramo de enzima comercial, a un pH 4.5 y  $30^{\circ}\text{C}$ , usando como sustrato a la lactosa.

## PROCEDIMIENTO

Las muestras de leche estandarizadas para la elaboración del yogur, se pasteurizaron a 90°C durante 5 minutos y se enfriaron a 38°C. Luego en forma simultánea se disolvieron, mediante agitación mecánica suave, el fermento y la enzima.

La cantidad de fermento sólido utilizado fue equivalente a un 2% de inoculación de fermento industrial activo y se utilizaron tres dosis de  $\beta$ -galactosidasa: 20 mg, 40 mg y 60 mg en 150 ml de leche, teniendo siempre como referencia una muestra sin agregado de lactasa externa. Dichas cantidades corresponden a 1253, 2506 y 3759 Unidades/litro (U/l) respectivamente.

Las muestras se incubaron en reposo a 38°C durante 5 horas en baño de agua termostatzado y se almacenaron en cámara frigorífica a 4°C durante 24 hs.

El tiempo y temperatura para la fermentación fueron seleccionados para optimizar el proceso de elaboración, teniendo en cuenta las condiciones requeridas para el desarrollo de las cepas del fermento, la acción hidrolítica de la enzima, la textura y características organolépticas del yogur.

## DETERMINACIONES

Se determinó la velocidad de acidificación en las muestras sin enzima y con el agregado de 1253 y 2506 U/l de enzima. Para ello, se tomaron muestras a intervalos de una hora y se midieron el pH y la acidez titulable en grados Dornic (°D).

Al cabo de las 24 hs de almacenamiento, se tomaron dos muestras de cada uno de los yogures, previamente homogeneizados. En una se midieron pH y acidez titulable y en la otra, previa inactivación de la enzima mediante ebullición y el agregado de ácido tricloroacético, se determinaron las concentraciones de glucosa (glucosa oxidasa-Wiener lab), galactosa y lactosa (método UV-Boehringer Mannheim / R-Biopharm).

Luego de la fermentación y antes del almacenamiento, se tomaron muestras y se realizaron extendidos para determinar la relación *Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus delbruekii*, mediante observación microscópica (1000 X) de un extendido con tinción de azul de metileno de Löffler.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos obtenidos de pH y acidez titulable, en las curvas de acidificación, se analizaron mediante análisis de varianza (ANAVA) de medidas repetidas en el tiempo. Luego del ANAVA se realizó un test de comparaciones múltiples (LSD) para analizar las diferencias significativas.

Para las muestras de los distintos yogures, se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Los tratamientos aplicados fueron: Sin enzima y con el agregado de 1253, 2506 y 3759 U/litro.

Los contenidos de lactosa, galactosa y glucosa como así también los datos obtenidos de acidez titulable, fueron analizados mediante un ANAVA. Cuando el ANAVA arrojó diferencias significativas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de cada una de las variables, para los diferentes tratamientos, se usó el test de LSD para evaluarlas.

La variable pH se analizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

## Capítulo 3

# RESULTADOS

---

## MATERIA PRIMA

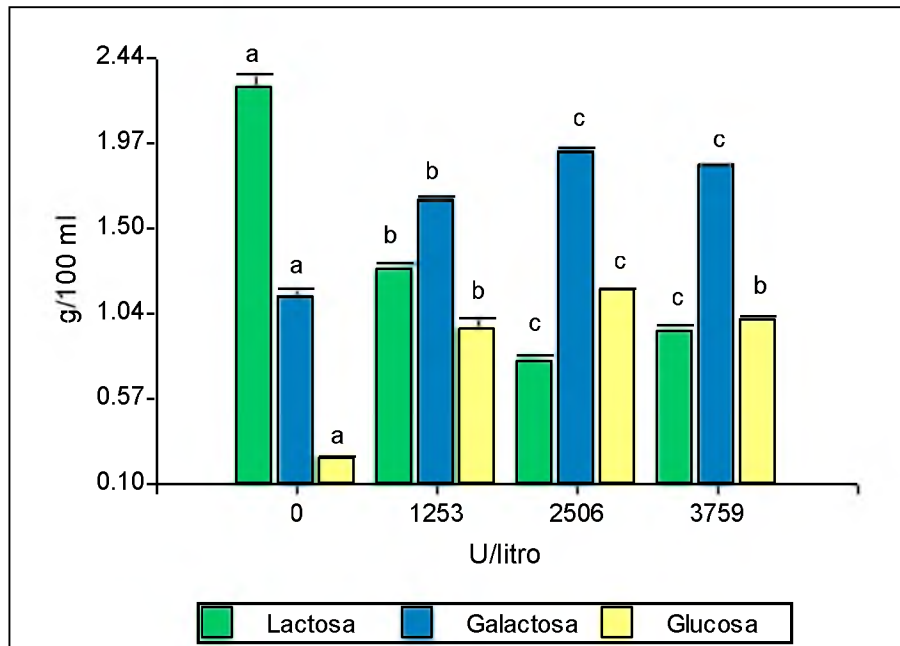
La caracterización de leche de cabra utilizada en la elaboración de yogur se indica en la Tabla 6. Cabe aclarar que la leche contenía inicialmente 4.6 g/100 ml de grasa, pero se descremó para lograr un tenor graso del 3.00%. El propósito de estandarizar este parámetro fue lograr un índice proteína/grasa mayor a uno, condición que mejora notablemente las características reológicas del coágulo. Por otra parte, la fijación del contenido graso en este valor permitió que el producto obtenido poseyera un perfil nutricional balanceado para la gama de consumidores que demanda este tipo de alimentos, además de establecer un patrón para lograr un yogur de composición homogénea a lo largo del año. El contenido de grasa está sujeto a variaciones, por ser sensiblemente afectado principalmente por la alimentación y etapa de la lactancia.

## CURVAS DE ACIDIFICACIÓN

Las curvas representan el efecto de las distintas dosis de enzima sobre la velocidad de fermentación del yogur. Las curvas de acidificación, en unidades de pH y acidez titulable (°D), de las muestras con el agregado de enzima (1253 y 2506 U/l de  $\beta$ -galactosidasa) y sin enzima, se muestran en las Figuras 7 y 8.

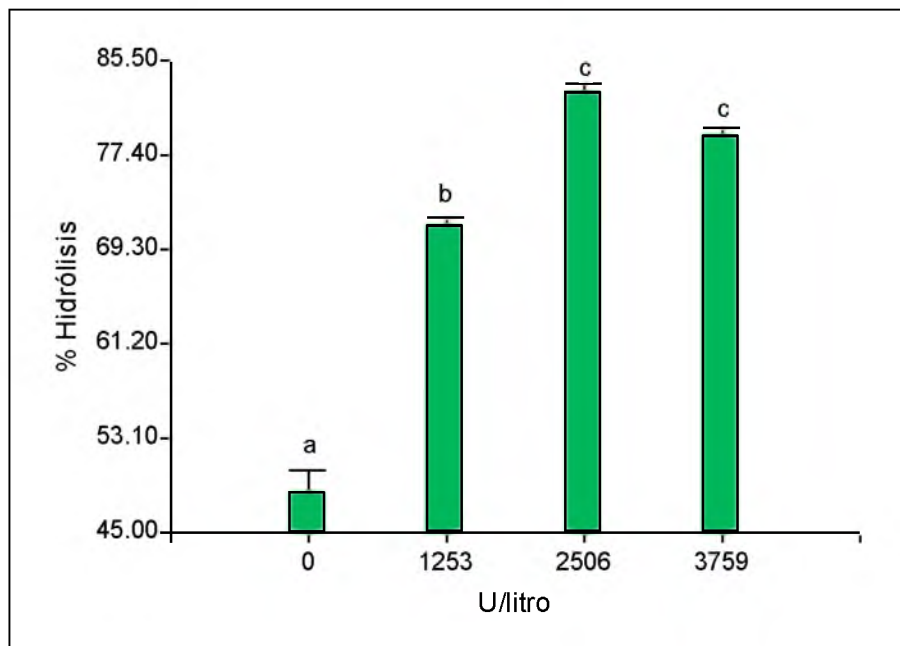
## CARACTERIZACIÓN DEL YOGUR TERMINADO

Posterior al almacenamiento en cámara frigorífica durante 24 hs, se determinó la calidad del yogur elaborado con tres dosis de  $\beta$ -galactosidasa : 1253, 2506 y 3759 U/l y sin agregado de la misma. Dicha calidad se estableció en función de las concentraciones de lactosa, galactosa y glucosa (Figura 9), como así también del porcentaje de hidrólisis total (Figura 10), pH y acidez titulable (Figuras 11 y 12) encontrados en cada una de ellos.



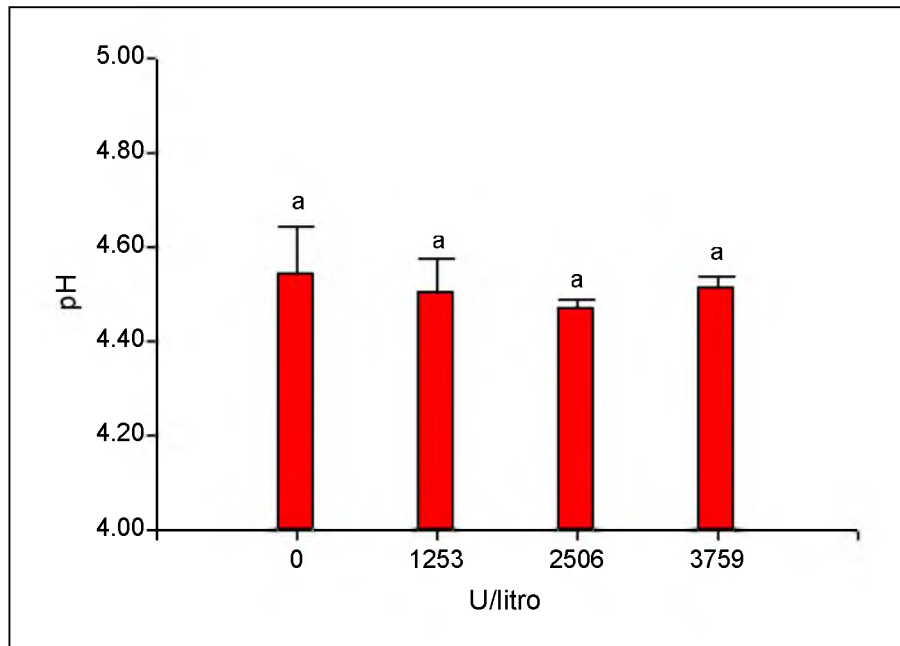
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Figura 9:** Concentraciones de lactosa, galactosa y glucosa (g /100 ml) en yogures con distintas dosis de  $\beta$ -galactosidasa (0, 1253, 2506 y 3759 U/litro).



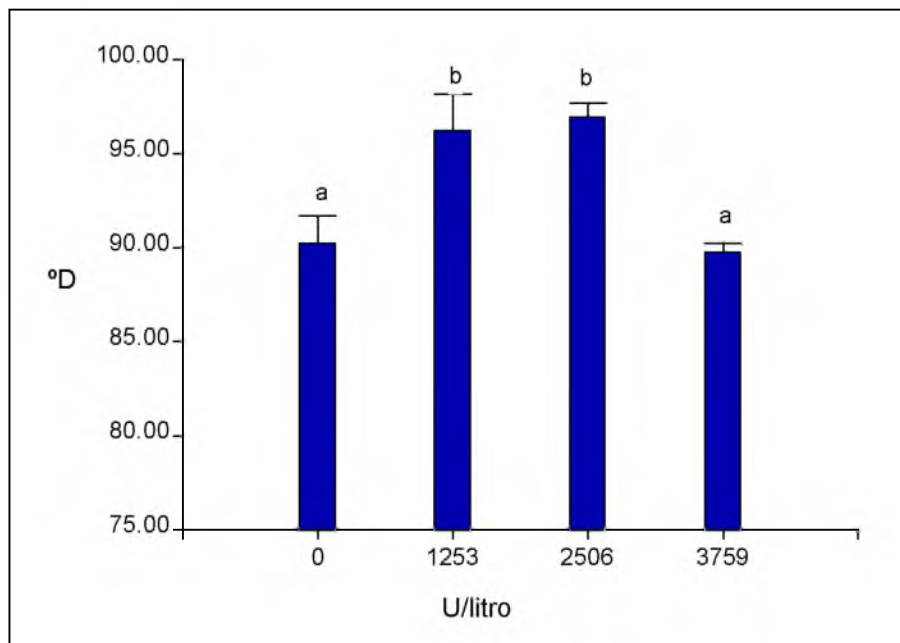
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Figura 10:** Porcentaje de hidrólisis de lactosa en yogures con distintas dosis de  $\beta$ -galactosidasa (0, 1253, 2506 y 3759 U/litro).



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Figura 11:** Valores de pH en yogures con diferentes dosis de  $\beta$ -galactosidasa (0, 1253, 2506 y 3759 U/litro)



Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

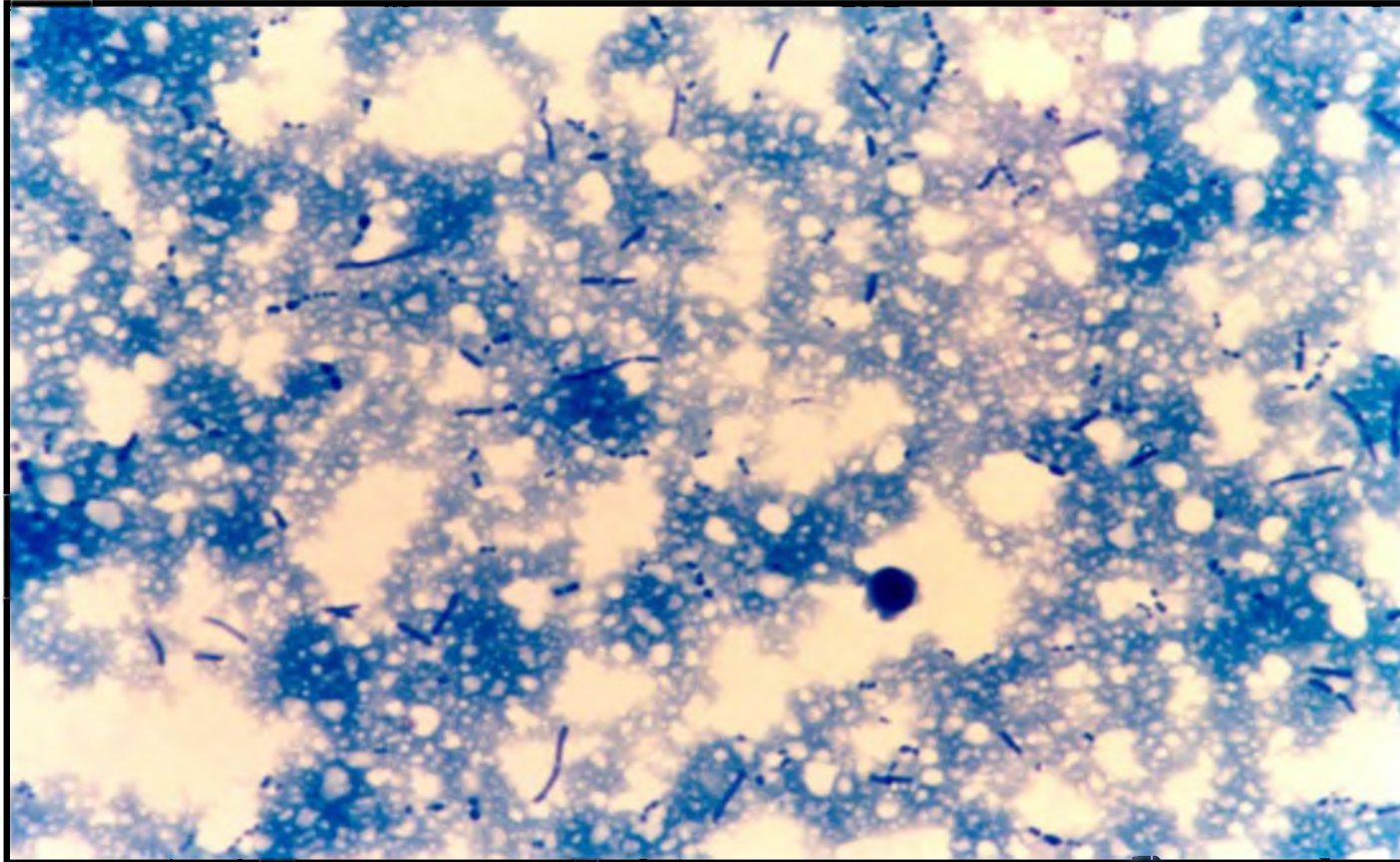
**Figura 12:** Valores de acidez titulable en yogures con diferentes dosis de  $\beta$ -galactosidasa (0, 1253, 2506 y 3759 U/litro).

## FERMENTO

Mediante la observación microscópica de los extendidos, teñidos con azul de metileno de Löffler, se encontró una relación *Streptococcus* /*Lactobacillus* de 2-2.5:1, que caracterizó de manera indistinta a cada uno de los yogures analizados.

En la Figura 13 se muestra la fotomicrografía (1000x) de un extendido donde puede observarse la relación explicitada.





**Figura 13:** Fotomicrografía (1000x) de la microflora del yogur, con tinción azul de metileno de Löffler  
Relación *Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus delbrueckii* 2-2.5 : 1

Capítulo 4

## DISCUSIÓN

---

## SELECCIÓN DE LA $\beta$ -GALACTOSIDASA

La elaboración de alimentos deslactosados, se consideró económicamente factible cuando a partir de 1970 se pudo obtener la  $\beta$ -galactosidasa de fuentes microbianas (Holsinger and Kligerman, 1991). **Levaduras, bacterias y hongos** son fuentes de interés tecnológico ya que son capaces de producir grandes cantidades de enzima de fácil extracción (Palmer, 1985). Entre las primeras se encuentran los *Kluyveromyces fragilis* y *lactis*, dentro de las segundas, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y dentro de los hongos, los *Aspergillus oryzae* y *niger*. La lactasa proveniente de cualquiera de estas fuentes, es considerada GRAS (generalmente reconocida como segura) por numerosos trabajos realizados (Gekas y López-Leiva, 1985), por lo que pueden ser usadas en alimentos sin riesgos de toxicidad.

La temperatura y pH óptimos de la  $\beta$ -galactosidasa varía según su origen, aunque la especificidad es esencialmente la misma. Es por ello que las  $\beta$ -galactosidasas de uso comercial se encuentran dentro de dos grupos: "ácidas" y "neutras". Las "ácidas" presentan una actividad óptima a un pH entre 3 y 5 y una temperatura entre 46°C y 55 °C, mientras que las condiciones para las "neutras" son un rango de pH de 6.5 - 7.3 y una temperatura entre 35°C y 40°C. Generalmente las enzimas producidas por levaduras son consideradas neutras y las obtenidas a partir de hongos, ácidas.

El *Kluyveromyces lactis* es la levadura que produce la lactasa más ampliamente usada para hidrolizar la lactosa de la leche, mientras que los *Aspergillus oryzae* y *niger*, producen una lactasa ácida, con un pH óptimo de 5 y 3.5, respectivamente, que es más utilizada en la industria para deslactosar al suero de queso (Zadow, 1984; Holsinger and Kligerman, 1991; Jelen, 1993).

Debido a que el pH de la  $\beta$ -galactosidasa producida por el *Aspergillus oryzae* se ajusta más a las condiciones de acidez del proceso fermentativo, **se eligió esta** enzima para desarrollar el yogur deslactosado propuesto en nuestro trabajo.

Las curvas de acidificación se realizaron para observar el comportamiento del cultivo frente al agregado de diferentes dosis de enzima y determinar si la velocidad del proceso podía ser sensiblemente afectada por ellas.

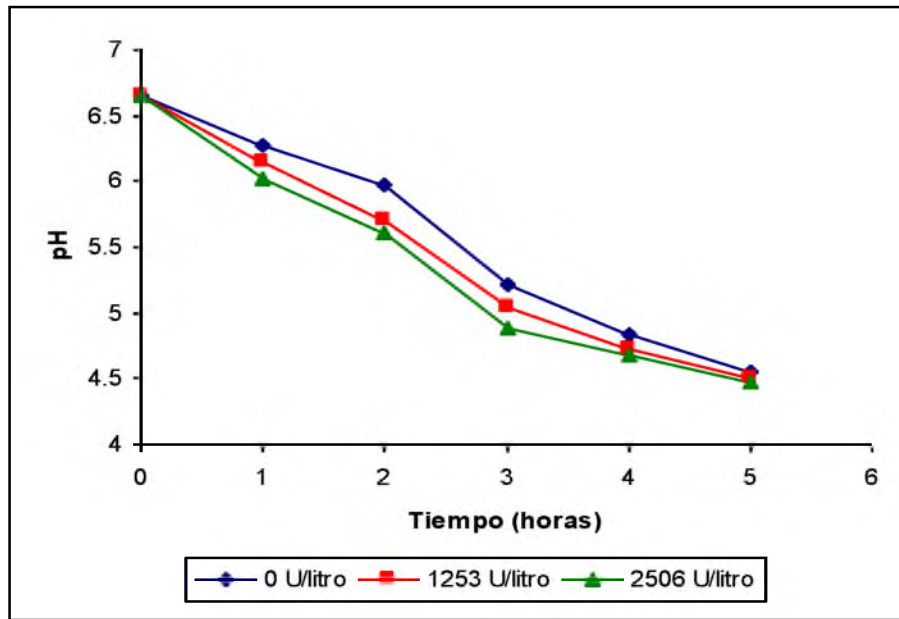
## **CURVAS DE ACIDIFICACIÓN**

Lo que habitualmente se conoce como acidez de la leche u otro producto lácteo, es el resultado de una valoración química con una solución de hidróxido de sodio y utilizando fenolftaleína como indicador.

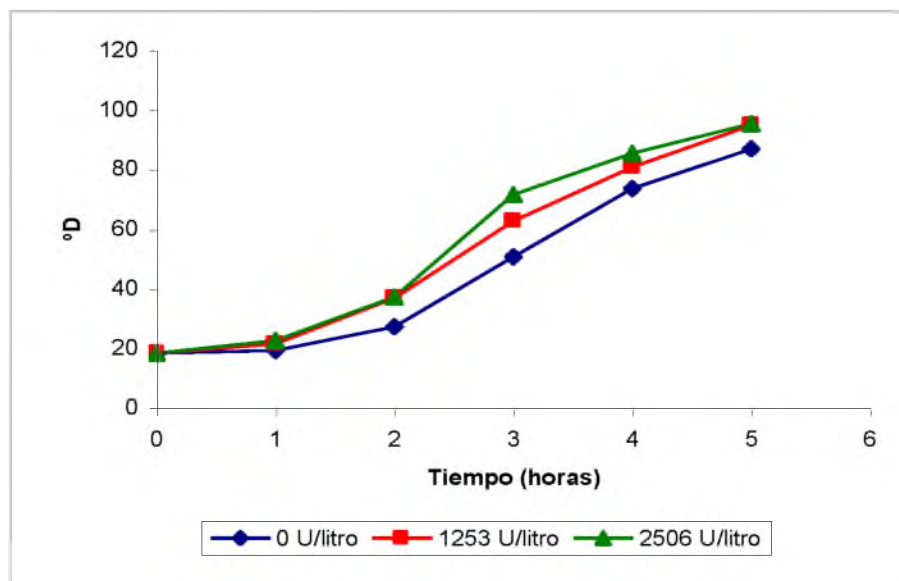
La acidez titulable entonces, es consecuencia de varias reacciones químicas entre las que se encuentran la acidez de sustancias minerales y ácidos orgánicos, reacciones secundarias debidas a los fosfatos, la que corresponde al ácido láctico formado y a otros ácidos orgánicos procedentes de la degradación de la lactosa.

Sin embargo, los ácidos y bases débiles presentes ejercen un efecto tampón que frena las variaciones de pH. De ahí que se puede tener el mismo pH y mostrar acideces sensiblemente diferentes (Alais, 1985).

Este fundamento químico es lo que explica la escasa variación del pH comparada con la de la acidez titulable (Figuras 7 y 8). Los **valores fueron** significativamente menores ( $p < 0.05$ ) para las muestras con enzima sólo en las tres primeras horas, no existiendo diferencias entre las dosis agregadas.



**Figura 7:** Efecto de la dosis de  $\beta$ -galactosidasa (1253 y 2506 U/litro) sobre la velocidad de fermentación, expresada en unidades de pH.



**Figura 8:** Efecto de la dosis de  $\beta$ -galactosidasa (1253 y 2506 U/litro) sobre la velocidad de fermentación, expresada en acidez titulable ( $^{\circ}$ D).

Por otra parte, la acidez **titulable fue** afectada significativamente ( $p < 0.05$ ) por el agregado de  $\beta$ -galactosidasa, durante todo el proceso fermentativo salvo en la primera hora. Además, también **fue** influenciada por la dosis de enzima aplicada, como puede observarse en la tercera y cuarta hora, donde la dosis mayor generó mayor acidez ( $p < 0.05$ ). Es importante destacar, que esta marcada diferencia entre dosis y con la muestra sin enzima, **se logró** cuando el pH de la fermentación (Figura 7) **se acercó** al pH óptimo de la enzima fúngica, que es alrededor de 5.

De los datos obtenidos se puede inferir que un aumento de la cantidad de  $\beta$ -galactosidasa, tan importante como el doble de la primera dosis ensayada, no produjo una mejora en la velocidad de fermentación, tal que **justificara** detener el proceso de elaboración antes de las cinco horas.

Si **bien** es cierto, que el tiempo empleado para el proceso fermentativo **fue** significativamente mayor comparado con el que se utiliza en la industria ( 3-3.5 hs), la característica nutracéutica o funcional del presente yogur, por su deslactosado, justifica los parámetros, temperatura y tiempo, **seleccionados. Sin embargo, la simultaneidad de la fermentación con la hidrólisis de la lactosa, implica un ahorro del tiempo total** en relación a los sistemas tradicionales, que realizan el tratamiento de la leche con la  $\beta$ -galactosidasa antes de la etapa de elaboración. El deslactosado previo ( 85%) de la leche generalmente realizado a una temperatura por debajo de los 10°C, para evitar el desarrollo de bacterias contaminantes que **pudiera** contener la leche de origen, insume entre 15 y 20 hs. Por lo tanto el procedimiento llevado a cabo en este trabajo, no sólo reduce la cantidad de tiempo global **sino** que logra un mejor mantenimiento del estándar de calidad microbiológica de la leche de origen, por competencia del cultivo específico del yogur con la eventual flora remanente.

La caracterización de los yogures elaborados, a través de las determinaciones de las concentraciones de azúcares (lactosa, galactosa y glucosa), pH y acidez titulable, constituye la parte sustancial de este trabajo. Con la finalidad de definir la concentración óptima de enzima, para la obtención del máximo porcentaje de hidrólisis

durante el proceso fermentativo, se practicaron ensayos con tres dosis. Dos de ellas fueron las usadas para evaluar el efecto de la cantidad de enzima sobre la velocidad de acidificación (1253 y 2506 U/litro) y la otra utilizada fue de 3759 U/litro. Esta última dosis permitió definir la concentración óptima para obtener el máximo porcentaje posible de hidrólisis durante la fermentación.

## CARACTERIZACIÓN DE LOS YOGURES ELABORADOS

Los yogures elaborados con y sin enzima se almacenaron, luego de la fermentación, a 4°C durante 24 hs, para evitar una sobreacidificación y para poder comparar sus texturas y características organolépticas. Cabe aclarar que entre 24 y 48 hs, es el período de estacionamiento en cámara frigorífica que se utiliza habitualmente en la industria, antes de que el producto fermentado salga a la venta. Bajo estas condiciones se mejora la producción de aromas, consistencia y textura.

Como puede observarse en las Figuras 9 y 10, el agregado de 2506 U/litro **mejoró** significativamente ( $p < 0.05$ ) el deslactosado, lográndose el máximo porcentaje de hidrólisis. Si se establece una comparación entre el contenido de lactosa residual ( 0.77 g/100 ml) obtenido con esta dosis y el que tenía inicialmente la leche (4.42 g/100 ml), se obtiene un 82.6 % de deslactosado; mientras que el logrado sin el agregado de enzima fue de 48.5%. Aumentando la cantidad de enzima a 3759 U/litro no se produjo una mejora en la eficiencia hidrolítica, ya que el 79% de disminución que se **logró**, no **difirió** significativamente del obtenido con 2506 U/litro, por lo que esta última dosis sería la óptima para alcanzar el mayor grado de conversión posible de la lactosa.

Uno de los factores más **importantes, que limitan** el rendimiento de la  $\beta$ -galactosidasa, es la *inhibición competitiva* que ejercen los productos de reacción, glucosa y galactosa (Deschavanne et al., 1978; Boon et al., 2000; Matioli et al., 2003)

Los inhibidores competitivos son sustancias que compiten con el sustrato por ocupar los mismos sitios de unión en la superficie de la enzima, por poseer una configuración molecular semejante.

El complejo Enzima-Inhibidor que se forma, inhabilita a la enzima para actuar sobre el sustrato, sin embargo esta inhibición puede ser revertida aumentando la concentración de sustrato, ya que al predominar en la mezcla, desplaza al inhibidor de su unión con la enzima. De ahí que, por ser un tipo de inhibición reversible, la actividad enzimática será mayor o menor según la concentración relativa de ambos (Blanco, 1993).

Durante el proceso de fermentación, los productos glucosa y galactosa, en especial esta última, van incrementando, mientras que el sustrato lactosa va decreciendo, lo que no sólo favorece sino que acentúa el efecto inhibitorio citado.

Entre los monosacáridos, la galactosa es el inhibidor más importante para la  $\beta$ -galactosidasa (Deschavanne et al., 1978), aunque la fuerza del poder inhibitorio depende del origen de la enzima. La  $\beta$ -galactosidasa del *Aspergillus oryzae* es más inhibida por este monosacárido que las provenientes del *Kluyveromyces spp.* (Boon et al., 2000).

En la Figura 9, se puede observar que la galactosa duplica la concentración de lactosa, para las dos dosis mayores de enzima, al final de la fermentación. Si bien, estas son las concentraciones finales, no cabe duda que durante el proceso fermentativo la concentración relativa se va haciendo cada vez más favorable para la galactosa con respecto a los otros dos azúcares. Como consecuencia de ello, ocuparía competitivamente el sitio activo de la  $\beta$ -galactosidasa provocando la disminución de su actividad.

Otros trabajos realizados con suero de leche (Carminatti, 2001) y con leche en polvo reconstituída con diferentes concentraciones de lactosa (Matioli et al., 2003), utilizando en ambos casos tres dosis de enzima, llegaron a resultados similares a las



del presente trabajo, en cuanto al porcentaje de hidrólisis logrado y al efecto del poder inhibitorio de los productos.

Carminatti (2001) comparó el porcentaje de hidrólisis logrado en suero de leche usando  $\beta$ -galactosidasa del *Kluyveromyces lactis* (Maxilact L-5000), en un reactor con y sin membrana. La membrana permitía el permeado continuo de los productos de hidrólisis, mientras que de la otra manera la enzima permanecía conjuntamente con ellos. Cuando los productos eran retirados, se logró un 92% de hidrólisis, mientras que la presencia de ellos limitó el proceso a un 82%. Esto le permitió sugerir que la existencia de glucosa y galactosa dentro del reactor, disminuía la velocidad de conversión de la lactosa. Por otra parte, de las tres dosis de enzima ensayadas, 400, 1250 y 2000 mg/litro los porcentajes de hidrólisis obtenidos con 1250 y 2000 mg/litro fueron prácticamente idénticos y superiores en un 100% al obtenido con la menor dosis. El bajo rendimiento con los 400 mg/litro se debería a que una menor cantidad de enzima representa un menor número de sitios activos disponibles para la hidrólisis. Consideró como dosis óptima a la de 1250 mg/litro, ya que la cantidad superior a ésta no mejoraba la tasa de conversión y sólo disminuía en quince minutos el tiempo necesario para lograr el máximo rendimiento.

Varios son los trabajos que utilizan la ecuación de Michaelis-Menten como modelo para determinar los parámetros cinéticos de la hidrólisis enzimática de la lactosa, con diversos mecanismos de inhibición (Sorensen et al., 1996; Ladero et al., 2000; Matioli et al., 2003). Si bien, la inhibición por producto tiene un efecto gravitacional sobre la actividad de la enzima, existirían otros factores como reversibilidad de la reacción, inhibición por constituyentes de la leche, transgalactosidación, que contribuirían a modificar la cinética (Matioli et al. 2003).

Otro aspecto que modificaría negativamente la eficiencia hidrolítica de la enzima, es que en la elaboración de nuestro producto deslactosado, no se realiza una agitación permanente como la que normalmente se aplica en los procesos de hidrólisis.

sis, tanto de leche como de suero, para asegurar una adecuada mezcla de la enzima y mantener la homogeneidad del sistema.

En el desarrollo de nuestro yogur la incubación se realiza en el envase, obteniéndose un producto más firme, conocido como yogur tradicional por su textura, donde el coágulo se mantiene íntegro.

También se podría haber hecho un yogur batido, el cual se obtiene por rotura del gel luego de la fermentación, generando una textura menos firme que la anterior. Esta rotura del coágulo se realiza por lo general luego del enfriado, imprimiéndole un aspecto cremoso, mientras que si se hace en caliente la consistencia es más líquida. Independientemente del tipo de yogur que se elabore, firme o batido, la incubación se realiza en total estado de reposo.

La falta de agitación durante la fermentación y la viscosidad del producto desarrollado, impiden una buena dispersión de la  $\beta$ -galactosidasa, lo que imposibilita que a través del tiempo se encuentre con nuevas cantidades de sustrato (lactosa) que compitan y excluyan a los productos (galactosa) de reacción que se van concentrando en su entorno limitando su actividad.

El pH es otro factor que afecta sensiblemente a la actividad de la enzima. Los cambios de pH del medio afectan el estado de ionización de ciertos grupos funcionales tanto en la molécula de la enzima como en la del sustrato. Para que se forme el complejo Enzima-Sustrato es necesaria una adecuada distribución de cargas eléctricas en ambas moléculas. Por otra parte pH extremos provocan la desnaturalización de la molécula enzimática con la consiguiente inactivación (Blanco, 1993).

Jurado y colaboradores (2004), plantearon modelos cinéticos para determinar cómo algunos factores, entre ellos el pH, afectaban a la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa. Para ello, utilizaron dos  $\beta$ -galactosidasas neutras, las del *Kluyveromyces fragilis* y *Kluyveromyces lactis*, determinándose que un pH inferior a 6.5 deca-

ía en alto grado la actividad de ambas enzimas, mientras que la mayor actividad estaba comprendida en un estrecho rango de 6.5 y 7.

A una similar conclusión llegó Carminatti (2001) trabajando con la  $\beta$ -galactosidasa del *Kluyveromyces lactis*. A través de sus ensayos observó que a pH ácidos inferiores a 6 ocurría una significativa baja del rendimiento, tanto así como haber obtenido sólo un 1% de hidrólisis cuando el pH llegaba a un valor de 5, quedando la enzima prácticamente inactivada a pH 4. A valores de pH ente 6 y 7 se lograba el máximo porcentaje de hidrólisis ( 90%) por ser éste el rango óptimo para la actividad de esta enzima.

Estos trabajos sustentan la elección de la  $\beta$ -galactosidasa del *Aspergillus oryzae* para el desarrollo de nuestro yogur. Si se observa la curva de acidificación (Figura 7), en la segunda hora de la fermentación, el pH comienza a acercarse al óptimo de esta enzima (4.5-5), haciéndose prácticamente igual a partir de ella y hasta el final del proceso (Figura 11). Por consiguiente, la actividad enzimática se encuentra favorecida por el pH durante la mayor parte del tiempo que insume la fermentación.

Dado que la variación de un grado en la escala de acidez, resulta en valores acentuadamente diferentes de actividad enzimática (Carminatti, 2001), en nuestro ensayo, la coincidencia del valor del pH de la fermentación con el óptimo de la  $\beta$ -galactosidasa empleada, durante la casi totalidad del proceso de elaboración, sería otro de los factores desencadenantes, del significativo porcentaje de hidrólisis hallado en el yogur desarrollado.

El deslactosado logrado estaría comprendido dentro de valores considerados, en la bibliografía, como satisfactorios para las personas que padecen intolerancia a la lactosa (Hernandez y Asenjo, 1982; Prenosil, 1987).

Resulta importante consignar que debido al mayor poder edulcorante de los productos de hidrólisis, se puede realizar una importante disminución del uso de sacarosa en la elaboración de yogures nutricionalmente endulzados.



**CONCLUSIONES**

---

La elaboración de un yogur deslactosado de leche de cabra, permite obtener un producto que por su bajo contenido en lactosa se convierte en un alimento de características funcionales, de gran utilidad y protagonismo para aquellas personas que padecen el síndrome de intolerancia a la lactosa. La utilización de leche de cabra le otorga al yogur desarrollado, un valor agregado extra, porque además de tener las propiedades profilácticas, terapéuticas y de biodisponibilidad de nutrientes que lo caracterizan como un probiótico, reúne las características hipoalergénicas y nutricionales propias de la leche de cabra, transformándose en un alimento funcional de importancia gravitacional en la nutrición especialmente de niños y adultos mayores, que puedan presentar otras intolerancias alimentarias.

Comparado con los sistemas tradicionales de elaboración, que realizan el pre hidrolizado de la leche, el método propuesto en este trabajo, al realizar simultáneamente la fermentación con la hidrólisis, reduce sustancialmente el tiempo total empleado en el desarrollo del producto y contribuye al aseguramiento de su inocuidad por competencia entre el cultivo seleccionado y los eventuales agentes microbianos contaminantes que puedan provenir de la leche de origen.

Finalmente, al evitarse la hidrólisis previa de la leche, se reduce el equipamiento y simplifica el procedimiento de obtención del producto. Esto facilitaría el desarrollo de micro emprendimientos de baja inversión que resultarían ser una opción para **diversificar** la producción caprina, **y dinamizar economías regionales en** vastas zonas de nuestro país.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Adolfsson, O., Meydani, S.N., Russell, R.M. 2004. Yogurt and gut function. *American Journal of Clinical Nutrition*. 80 (2): 245-256.
- Aguirre, M., Collins, M.D. 1993. Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl. Bacteriol*. 75: 95–107.
- Alais, Ch. 1985. *Ciencia de la leche*. Reverté, Barcelona, 883 pp.
- Amster, H., Rochat, F., Saudan, K.Y., Mignot, O., Aeschlimann, J.M. 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intakes. *Immunol Med Microbiol* 10: 55–64.
- Arias, M., Alonso, A. 2002. Estudio sobre sistemas caprinos del norte de la provincia de Córdoba, Argentina. *Arch. Zootec*. 51: 341-349
- Arola H. 1994. Diagnosis of hypolactasia and lactose malabsorption. *Scand J Gastroenterol* 29 (Suppl 202): 26-35.
- Asad, Alejandra. 2000. Informe sobre carne de cabra: Para topar el mercado. E-campo.com [en línea]. Disponible en: <http://www.ecampo.com/media/news/nl/qanovinos16.htm>
- Ayebo, A.D., Shahani, K.M., Dam, R. 1981. Antitumor components of yogurt: fractionation. *J Dairy Sci*. 64: 2318–2323.
- Babayan, V.K. 1981. Medium chain length fatty acid esters and their medical and nutritional applications. *J. Amer. Oil Chem. Soc*. 59:49-50
- Baer, D. 1970. Lactase deficiency and yogurt. *Social Biol*. 12: 143.
- Bag, J. 1974. Glucose inhibition of the transport and phosphoenolpyruvate-dependent phosphorylation of galactose and fructose in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol*. 118: 764-767.
- Baldo, B.A. 1984. Milk allergies. *Austral J. Dairy Technol*. 39:120-128.
- Banai, J., Surjan, L., Szanto, I., Szatlocky, E., Kun, M. 1984. Jejunoscopy lactose provocation. *Gastroenterol Japonica*. 19:127-130
- Barillas, C., Solomons, N.W. 1987. Effective reduction de lactose maldigestion in preschool children by direct addition of  $\beta$ -galactosidase to milk at mealtime. *Pediatrics* 79 (5): 776-772.



- Barth, C.A., Kuhn, C., Titze, A, Lorenz, A., de Vrese, M. 1996 -Lactose intolerance-importance of viability of lactobacilli in fermented milk products. In "Proc. Of Symp. Dairy Microorganism as Probiotics". Potsdam, Germany
- Bassalik-Chabielska, L. 1989. Chloride in milk, metabolic disorders and susceptibility to mastitis. International Dairy Federation Special Issue No. 8901:130-137.
- Benot López, S. 2000. Alergia a las proteínas de la leche de vaca. In: AETSA: Informe noviembre de 2000. Sevilla-España. Disponible en: [http://www.iuntadeandalucia.es/salud/orqdep/AETSA/pdf/AlergiaProt\\_leche.pdf](http://www.iuntadeandalucia.es/salud/orqdep/AETSA/pdf/AlergiaProt_leche.pdf)
- Beshkova, D.M., Simova, E.D., Frengova, G.I., Simov, Z.I., Adilov, E.F. 1998. Production of amino acids by yogurt bacteria. Biotechnol Prog. 14: 963–965.
- Bianchi Salvadori, B. 1986. Intestinal Microflora: The role of yogurt in the equilibrium of the gut ecosystem. Int.J.Immunotherapy Supp.II: 9-18.
- Bianchi Salvadori, B., Camaschella, P., Cislighi, S. 1994. Las bacterias lácticas en el yoghurt y en la nutrición. En: Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos. Pág. 288. Ed.Diagrama.Santa Fe.Rep.Argentina.
- Blanco, A. 1993. Química Biológica. El Ateneo. Buenos Aires. 677 pp.
- Boon, M.A., Janssen, A.E.M., van't Riet, K. 2000. Effect of temperature and enzyme origen on the enzymatic synthesis of oligosaccharides. Enzyme and Microbial Technology 26: 271-281.
- Bottazzi, V. 2004. Latte-fermentati funzionali probiotici-Nuove oportunita per il benessere dell'uomo-Inst. e Centro Recerche Biotecnologiche-Elite Communication Srl.Milán [en línea]. Disponible en: [http://italia.danoneinstitute.com/comunicazione/altre\\_publicazioni.php](http://italia.danoneinstitute.com/comunicazione/altre_publicazioni.php)
- Bourlioux, P., Pochart, P.1988. Nutritional and health properties of yogurt. World Rev Nutr Diet 56: 217–258.
- Boyazoglu, J., Morand-Fehr, P. 2001. Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review. Small. Rum. Res. 40: 1-11.
- Brenneman, J.C. 1978. Basics of Food Allergy. Charles C. Thomas Publ., Springfield, IL, USA.pp. 170-174.
- Bretzlaff, K., Haenlein, G. F. W and Huston, E. 1991. The goat industry: Feeding for optimal production; Common nutritional problems, feeding the sick goat. In: Large Animal Nutrition, J. M. Naylor and S. L. Ralston, ed., Mosby Book Publ., St. Louis, 339-355.

- Brummer, R.M.J., Karibe, M., Stockbrugger, R.W. 1993. Lactose malabsorption: Optimization of investigational methods. *Scand. J. Gastroenterol.* 28 (Suppl. 200): 65-66
- Buergin-Wolff, A., Signer, E., Friess, H.M., Berger, R., Birbaumer, A., Just, M. 1980. The diagnostic significance of antibodies to various cow's milk proteins. *Eur. J. Pediatr.* 133: 17-24.
- Businco, L., Bellanti, J. 1993. Food allergy in childhood. Hypersensitivity to cow's milk allergens. *Clin. Exp. Allergy* 23: 481-483.
- CAPRA. 2004. La composición de la leche de cabra y su papel en la alimentación humana. [en línea]. [consultado 16 nov 2004]. Disponible en: <<http://www.iespana.es/CAPRA/HOMBRE/HOMBRE>. HTM>
- Carminatti, C.A. 2001. Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando  $\beta$ -galactosidase *Kluyveromyces lactis*-Tesis-Universidad Federal de Santa Catarina-Centro Tecnológico-Dpto. de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Florianópolis. [en línea] Disponible en: <<http://150.162.90.250/teses/PENQ0120.pdf>>
- Carraccio, A., Montalto, G., Cavera, G., Notarbatolo, A., and the Lactase Deficiency Study Group. 1998. Lactose intolerance and self-reported milk intolerance: Relationship with lactose maldigestion and nutrient intake. *J. Am. Coll. Nutr.* 17:631-636
- Chacón Villalobos, A. 2005. Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*capra hircus*) y sus variaciones en el proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana* 16 (2): 239-252.
- Coates, M.M. 1993. Tides in breastfeeding practices. In: Riordan, J., Auerbach, K.G. *Breastfeeding and human lactation*. Jones and Bartlett Pub., Boston. pp. 3-26.
- Congreso Latinoamericano de Producción Animal: Situación actual y perspectivas de la producción láctea de rumiantes menores en la Argentina- Marzo del año 2000.
- Conway, P.L., Gorbach, S.L., Goldin, B.R. 1987. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J Dairy Sci.* 70: 1-12.
- Cravero, B.F., Rodríguez, V.A., Aimar, M.V., Misiunas, S.B., Mina, R., Buthet, M.G. 2004. Efecto del suero líquido de queso sobre el ambiente ruminal, la producción y composición química de la leche de cabra. [en línea]. *REDVET Dic.* 2004. Disponible en: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>>

- Crittenden, R.G., Bennett, L. 2005. Cow's Milk Allergy: A Complex Disorder  
Journal American College of Nutrition 24(90006): 582S-591S
- Cuevas Fernández, O. 2000. El equilibrio a través de la alimentación. 2º Ed. Editorial Sorles, S.L. León (España).
- Dayenoff, P., Cáceres Diaz, R., Bolaño, M. 2002. Producción de leche de cabra Criolla. Disponible en :  
[http://www.inta.gov.ar/ramacaida/info/documentos/caprinos/res\\_pr-1.htm](http://www.inta.gov.ar/ramacaida/info/documentos/caprinos/res_pr-1.htm)
- De Vrese, A., Stegelmann, B. Richter, S. Fenselau, Laue, C. and Schrezenmeir, J. 2001. Probiotics—compensation for lactose insufficiency.  
American Journal of Clinical Nutrition 73: 421S–429S.
- De Vrese, M., Keller, B., Barth, C.A. 1992. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial b-galactosidase (EC 3.2.1.23) of kefir.  
Brit. J. Nutr. 67: 67-75.
- Deamer, W.C., Gerrard, J.W. and Speer, F. 1979. Cow's milk allergy: A critical review. J. Fam. Pract., 9: 223-232
- Deschavanne, P.J., Viratelle, O.M., Yon, J.M. 1978. Conformational adaptability of the active site of  $\beta$ -galactosidase. J.Biol.Chem. 253 (3): 833-837.
- Dewit, O., Pochart, P., Desleux, J.F. 1988. Breath hydrogen concentration after lactose, milk, fresh or heated yogurt ingestion by healthy young adults with or without lactose malabsorption. J. Nutr. 4: 131.
- FAO 1990. Animal genetic resources. A global programme for sustainable development. Proc.FAO. Expert Consultations. Roma.
- Flatz, G. 1987. Genetics of lactose digestion in humans. Adv Hum Genet. 16:1-77.
- Flora, Roberto. 2002. 'Yogurt Forever' – 3.0 version. [en línea]. Disponible en:  
<<http://www.yogurtforever.org>>
- Gekas, V., López-Leiva, M.H. 1985. Hydrolysis of lactose-A literature review-  
Process Biochemistry. 20 (1): 2-12.
- Gendrel, D., Richard-Lenoble, D., Dupont, C.; Genrel, C., Nardou, M., Chaussain, M. 1990. Utilisation d'un lait fermenté en poudre chez l'enfant malnutri ou intolerant au lactose. Presse Méd. 19: 700-704.
- Gilat, T., Russo, S., Gelman-Malachi, E., Aldor, T.A. 1972. Lactose in man: A non adaptable enzyme. Gastroenterology 62: 1125-7

- Gilbere, G., Hom, D.A. 2002. The magic of goat milk. [en línea]. [consultado 16 nov. 2004]. Disponible en:  
<[http://freedompressonline/FPO\\_featuredArticles\\_carpa.htm](http://freedompressonline/FPO_featuredArticles_carpa.htm)>
- Gilliland, S.E., Kim, H.S. 1984. Effect of viable starter culture bacteria on lactose utilization in humans. *J. Dairy Sci.* 67: 1-6
- Gilliland, S.E., Kim, H.S. 1984. Effect of viable starter culture bacteria in yogurt on lactose utilization in humans. *J. Dairy Sci.* 67: 1-6.
- Grezesiak, T. 1989. Prescription of goat milk in pediatrics revolutionary?  
*Le Concours Medical* 111:3059-3064.
- Guarner, F., Schaafsma, G. J. 1998. Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 39: 237-238.
- Gudmand-Høyer, E., Skovbjerg, H. 1996. Disaccharide digestion and maldigestion. *Scand J. Gastroenterol.* 31 (Suppl 216):111-121.
- Haenlein, G. F. W. 1991. Goat milk in human nutrition.  
*Intern. J. Animal Sci. (India)* 6:13.
- Haenlein, G.F.W, 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Rum. Res.* 51:155–163
- Haenlein, G.F.W. 1980. Goats: Are they physiologically different from other domestic food animals? *Intern. Goat and Sheep Res.* 1:173-175.
- Haenlein, G.F.W. 1992. Role of goat meat and milk in human nutrition. *Proc. Vth Intern. Conf. Goats, New Delhi, India, ICAR, II(2):* 575-580.
- Haenlein, G.F.W. 1995. Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. *Proceedings, 2<sup>nd</sup>. IDF Seminar, Production and Utilization of Ewes and Goats Milk, Limin Hersonissos, Crete, Greece.* Oct.19-21
- Haenlein, G.F.W. 1998. The value of goat and sheep to sustain mountain farmers.  
*Int. J. Anim. Sci.* 13: 187-194
- Haenlein, G.F.W. 2002. Lipids and proteins in milk, particularly goat milk. [en línea]. [consultado 28 oct. 2002]. Disponible en:  
<<http://aq.udel.edu/extension/information/goatmgt/qm-08.htm>>
- Haenlein, G.F.W. 2002. Milk and Meat Products. [en línea]. [consultado 31 oct. 2004]. Disponible en:  
<[http://goatconnection.com/articles/publish/article\\_73.shtml](http://goatconnection.com/articles/publish/article_73.shtml)>
- Haenlein, G.F.W., 1996. Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk. In: *Proceedings of the IDF/CIRVAL Seminar Production and Utilization of Ewe*

and Goat Milk, vol. 9603. Crete, Greece, Internat. Dairy Fed. Publ., Brussels, Belgium, pp. 159–178.

- Haenlein, G.F.W., 2001. Past, present, and future perspectives of small ruminant research. *J. Dairy Sci.* 84, 2097–2115.
- Haggag, H.F.; Hamzawi, L.F.; Shahin, Y. 1987. Fatty acid composition of globule core lipids from Egyptian cow, buffalo and goat's milk. *Egypt. J. Dairy Sci.* 15 (1): 25-30
- Harris, M.C., Kolski, G.B., Campbell, D.E. 1989. Ontogeny of the antibody response to cow milk proteins. *Ann Allergy* 63:439-442
- Hernandez, R., Asenjo, J. 1982. Production and characterization of an enzymatic hydrolysate of skim milk lactose and proteins. *J. Food Sci.* 47: 1895-1898
- Hewitt, D., Bancroft, H.J. 1985. Nutritional value of yogurt. *J Dairy Res.* 52: 197–207.
- Heyman, M., Desjeux, J.F. 1992. Significance of intestinal food protein transport. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 15: 48-57
- Holsinger, V.H., Kligerman, A.E. 1991. Applications of lactase in dairy foods and other foods containing lactose. *Food Technol.* 45 (1): 93-95.
- Holzapfel, W., Schillinger, U. 2002. Introduction to pre-probiotics. *Food Res Internat.* 35 (2-3) :109-116
- Host, A., Husby, S. and Osterballe, O. 1988. A prospective study of cow's milk allergy in exclusively breast-fed infants. *Acta Paediatr. Scand.* 77: 663-670
- Host, A., Jacobsen, H.P., Halken, S., Holmenlund, D. 1995. The natural history of cow's milk protein allergy/intolerance. *Eur J Clin. Nutr.* 49 (Suppl 1): S13-S18.
- Hove, H., Nordgaard-Andersen, I., Mortensen, P.B., 1994. Effect of lactic acid bacteria on the intestinal production of lactate and short-chain fatty acids and the absorption of lactose. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 74-79.
- Husby, S., Hist, A., Teisner, B. and Suehag, S.E. 1990. Infants and children with cow milk allergy/intolerance. Investigation of the uptake of cow milk protein and activation of the complement system. *Allergy* 45: 547-551
- Isolauro E. 1995. The treatment of cow's milk allergy. *Eur J Clin. Nutr.* 49: 549-55.
- Jandal, J.M. 1996. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Rum. Res.* 22: 177-185

- Jelen, P. 1993. Lactose hydrolysis using sonicated dairy cultures. Bulletin of the IDF 289: 54-56. International Dairy Federation. Munich, Germany.
- Jelliffe, D.B., Jelliffe, E.F.P. 1979. Human milk in the modern world. 2<sup>nd</sup> ed., Oxford University Press, New York.
- Jenness, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. J. Dairy Sci. 63: 1605-1630.
- Juárez, M. 1986. Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk, en: Production and utilization of Ewe's and Goat's Milk. International Dairy Federation, Bulletin 202.
- Jurado, E., Camacho, F., Luzón, G., Vicaria, J.M. 2004. Kinetic models of activity for  $\beta$ -galactosidases: influencia of pH, ionic concentration and temperature. Enzyme and Microbial Technology 34: 33-40
- Kamelmaz, I., Elitsur, Y. 1999. Cow's milk allergy in infants. W V Med J 95: 265-267.
- Kilara, A. And Shahani, K.M. 1976. Lactase activity of cultured and acidified dairy products. J. Dairy Sci. 59: 2031-2035
- Kisza, J., Zbikowski, Z. 1975. Composition of human colostrum and milk. *Pediatrics Polska* 50 (3): 333-340.
- Kleinman, R.E., Bahna, S., Powell, G.F., and Sampson, H.A. 1991. Use of infant formulas in infants with cow milk allergy. A review and recommendations. *Pediatr. Allergy Immunol.* 4: 146-155.
- Kolars, J.C., Levitt, M.D., Aouji, M., Savaiano, D.A. 1984. Yogurt an autodigesting source of lactose. *N. Engl. J. Med.* 310:1-3.
- Kuhn, C., Titze, A., Lorenz, A., Barth, C.A., de Vrese, M. 1996. Are viable microorganisms essential for the enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by the Beta-galactosidase of fermented milk products? In Probiotics 96, June 20-22, DVG, DGHM Symposium, Berlin Dahlem, Abstract
- Ladero, M., Santos, A., García-Ochoa, F. 2000. Kinetic modeling of lactose hydrolysis with an immobilized  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology.* 27 (8): 583-592.
- Lee, R., Molakness, T., Sandine, W.E., Elliker, P.R. 1973. Carbohydrate metabolism in lactic streptococci: fate of galactose supplied in free or disaccharide form. *Appl. Microbiol.* 26: 951-958.

- Lentze, M.J., Naim, H.Y., Sterchi, E.E. 1991. . Biophysical aspects of enzyme regulation with particular reference to defects in sugar digestion. Nestle Nutrition Workshop Series, Vol. 25. Nestle Ltd., Vevey/Raven Press, Ltd., New York 103-110.
- Lin, M.Y, Yen, C.L, Chen, S.H. 1998. Management of lactose maldigestion by consuming milk containing lactobacilli. *Dig Dis Sci.* 43: 133–137.
- Loones, A. 1989. Transformation of milk components during yogurt fermentation. In: Chandan RC, ed. *Yogurt: nutritional and health properties*. McLean, VA: National Yogurt Association. 95–114.
- Maree, H.P. 1978. Goat milk an its use as hypo-allergenic infant food. *Dairy Goat Journal* 43: 363-365.
- Marteau, P., Flourie, B., Chastang, J.F., Desleux, J.F., Rambad, J.C. 1990. Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans. *Brit. J. Nutr.* 64 (1):71-79.
- Martín Esteban, M., Boné Calvo, J., Martorell Aragonés, A., Nevot Falcó, S., Plaza Martín, A.M. 1998. Adverse reactions to cow's milk proteins. *Allergol Immunopathol* 26: 171-194
- Martini, M.C., Bollweg, G.L., Levitt, M.D., Savaiano, D.A. 1987. Lactose digestion by yogurt b-galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 432-436.
- Matak, K. E. 1999. Lactose Hydrolysis By Yeast Lactase: Influence On Freezing Point And Dipping Characteristics Of Ice Cream. Mather's Thesis-[en línea] Disponible en: <http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-011999135521/unrestricted/edt2.pdf>
- Matioli, G., Faria de Moraes, F., Zanin, G. 2003. Operational stability and kinetics of hydrolysis by  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Acta Scientiarum. Health Sciences.* 25 (1) : 7-12.
- Maubecín, R. 1990. Producción caprina. Ed. R. Maubecín. Córdoba. Argentina.
- McClenathan, D.T. and Walker, W.A. 1982. Food allergy. Cow milk and other common culprits. *Postgrad. Med.* 72: 233-239.
- McGinnis, J.F., Paigen, K. 1974. Site of catabolite inhibition of carbohydrate metabolism. *J. Bacteriol.* 114: 885-887.

- Mehala, M.A., Al-Kahnai, M.A.. 1989. Studies on carnel and goat milk proteins, nitrogen, distribution and amino acid composition. *Nutrition-Reports-international* 39 (2): 351-357.
- Merret, T.C., Burr, M.L., Butland, B.1988. Infant feeding and allergy: twelve-month prospective study of 500 babies born in allergic families. *Ann Allergy* 61:13-20.
- Metcalf, D.D. 1985. Food allergens. *Clin.Rec.Allergy* 3: 331-349.
- Misiunas, S.B.; Cravero, B.F.; Rodriguez, V.A.; Aymar, M.V. 1999 .Utilización de opuntia ficus-indica (tuna) en la alimentación de cabras lecheras: efecto sobre el ambiente ruminal, rendimiento y composición química de la leche. *Therios* Vol. 28 (149): 209-215.
- Montes, R.G., Saavedra, J.M., Perman, J.A.1995. Effect of milks inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or a yogurt starter culture in lactose-maldigesting children. *J Dairy Sci.* 78: 1657-1664.
- Mundo Lácteo y Cárnico-Julio/Agosto 2005.[en línea] Disponible en: <http://www.alimentariaonline.com>
- Nestle, W., 1987. Allergy to cow milk proteins. *Med. Enfance* 9:163–166.
- Nutting, C.W., Islam, S., Daugirdas, J.T. 1991. Vasorelaxant effects of short chain fatty acid salts in rat caudal artery. *Amer. J. Physiol.* 261: 561-567.
- O'Leary, V.S., Woychik, J.H., 1976. Utilization of lactose, glucose and galactose by a mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in milk treated with lactase enzyme. *Appl. Env.Microbiol.*32 (1): 89-93.
- Oliszewski, R., Rabasa, A.E., Fernández, J.L., Poli, A.M., Núñez de Kairúz, M.S. 2002. Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Criolla Serrana del noroeste argentino. *Zootecnia Trop.* 20 (2) p.179-189.
- Onwulata, C.I. , Rao, D.R., Vankineni, P., 1989. Relative efficiency of yogurt, sweet acidophilus milk, hydrolyzed-lactose milk and a commercial lactase tablet in alleviating lactose maldigestion. *Am.J.Clin.Nutr.* 49, 1233-1237.
- Ortega, R.M., Marcos, A., Aranceta, J., Mateos, J.A., Requejo, A.M., Serra, L. 2002. *Alimentos funcionales probióticos*. Ed.Méd.Panamericana



- Páez, R., Maggio, M. 1997. Leche de cabra, historia y características. Infortambo. Julio 2005. Buenos Aires. [en línea]. Disponible en: <http://www.infortambo.com.ar>
- Palmer, T. 1985. Understanding Enzymes. 2nd ed. Ellis Horwood Publishers, Australia.
- Park, Y.W. 1994. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. Small. Rum. Res.14: 151-159.
- Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G., Gobbato, N.J. 1995. Immune system stimulation by probiotics. J Dairy Sci. 78: 1597-1606.
- Peters, R.K., Pike, M.C., Garabrant, D., Mack, T.M. 1992. Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. Cancer Causes Control 3: 457-473.
- Peuhkuri, K., Teuri, U., Vapaatalo, H., Korpela, R. 2000. Lactose intolerance - a confusing clinical diagnosis. Am J Clin Nutr. 71: 600-602.
- Peuhkuri, Katri. 2000. Lactose, lactase, and bowel disorders. June 2nd 2000 Academic dissertation - Finland. ISBN 951-45-9178-X <http://ethesis.helsinki.fi>
- Pochart, P., Dewit, O., Desjeux, J.F., Bourlioux, P. 1989. Viable starter culture, B-galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans. Am. J. Clin.Nutr. 49: 828-831.
- Prenosil, J.E. 1987. Formation of oligosaccharides during enzymatic lactose. Part I: state of art. Biotechnol. Bioeng. 30: 1019-1025
- Puri, P., Rattan, A., Bijlani, R.L., Mahapatra, S.C., Nath, I. 1996. Splenic and intestinal lymphocyte proliferation response in mice fed milk or yogurt and challenged with Salmonella typhimurium. Int. J Food Sci. Nutr. 47: 391-398.
- Rasic, J.L., Kurmann, J.A. (Eds.). 1978. Yoghurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Copenhagen Technical Dairy Publishing House. Vol. 1.
- Reinert do Nascimento, M.B., Issler, H. 2003. Aleitamento materno: fazendo a diferença no desenvolvimento, saúde e nutrição dos recém-nascidos de termo e pré-termo. Rev. Hosp. Clin. 58 (1). São Paulo.
- Renner, E. 1997. Efectos de la dieta sobre la digestión de lactosa. Food Sci. and Tech. International 3 (2): 71-79
- Revista Alimentos Argentinos. 1997-Nº2. Cadenas Alimentarias: Yogur. Publicación Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos-SAGPyA-República

Argentina-ISSN: 0328-9168-[en línea]. Disponible en:  
<<http://www.sagpya.gov.ar/alimentos>>-

Revista Alimentos Argentinos.2005-Nº27. Cadenas Alimentarias: Yogur y leche cultivada. Publicación Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos-SAGPyA-República Argentina-ISSN: 0328-9168-[en línea]. Disponible en:  
<<http://www.sagpya.gov.ar/alimentos>>-

Revista Alimentos Argentinos.2006-Nº32. Cadenas Alimentarias: Productos lácteos. Publicación Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos-SAGPyA-República Argentina-ISSN: 0328-9168-[en línea]. Disponible en:  
<<http://www.sagpya.gov.ar/alimentos>>

Revista Pequeños Rumiantes – Cabras & Ovejas – Año 1-Nº1-2000-

Richardson, C.W. 2004. Let's learn about dairy goats and goat's milk. Oklahoma Cooperative Extensión Service.Oklahoma State University. Boletín Nº 424.

Richmond, M.L., Gray, J.I., Stiné, C.M. 1981. Beta-Galactosidase: Review of recent research related to technological application, nutritional concerns and immobilization. J. Dairy Sci. 64: 1759-1771.

Robertson, D.M., Paganelli, R., Dinwiddie, R., Levinsky, R.J. 1982. Milk antigen absorption in the preterm and term neonate. Arch. Dis.Child. 57: 369-72

Rodden, D. 2004. Dairy goat composition. [en línea]. [consultado 16 nov. 2004]. Disponible en: <<http://drinc.ucdavis.edu/html/milkq/milkq-1.shtml>>

Rosado, J.L., Gonzalez, C., Valencia, M.E., Lopez, B., Mejía, L., De la Caremen Baez, M. 1994. Lactose maldigestion and milk intolerance: A study in rural and urban Mexico using physiological doses of milk. J. Nutr. 124: 1052-1059.

Rosado, J.L., Solomons, N.W., Allen, L.H. 1992. Lactose digestion from unmodified, low-fat and lactose-hydrolyzed yogurt in adult lactose maldigesters. Eur J Clin Nutr. 46: 61-67.

Saarinen, U.M., Kajosaari, M. 1995. Breast-feeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. Lancet; 346: 1065-1069.

Sahi, T. 1994. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. Scand. J. Gastroenterol. 29 (suppl. 202): 1-20

Sahi, T., Launiala, K. 1978. Manifestation and occurrence of selective adult-type lactose malabsorption in Finnish teenagers. Dig Dis 23:699-704.

- Saltzman, J.R., Russell, R.M., Golner, B., Barakat, S., Dallal, G.E., Goldin, B.R. 1999. A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance. *Am J Clin Nutr* 69:140-146
- Sanders, M.E. 1993. Summary of conclusions from a consensus panel of experts on health attributes of lactic cultures: significance to fluid milk products containing cultures. *J. Dairy Sci.* 76: 1819-1828.
- Sanders, M.E. 2000. Considerations for Use of Probiotic Bacteria to Modulate Human Health. *J Nutrition* 130: 384S-390S
- Sanz Ortega J, Martorell Aragonés A, Michavila Gómez A, Nieto García A. 2001. Grupo de trabajo para el estudio de la alergia alimentaria. Incidencia de la alergia mediada por IgE a proteínas de leche de vaca en el primer año de vida. *An Esp Pediatr.* 54: 536-539.
- Sato, H., Kurosawa, T., Oikawa, S., Endo, S., Sudo, S., Suzuki, H. 1998. Milk citric acid levels and its relations to other milk constituents in dairy cows. *Anim Sci and Tech* 69 (4): 381-386.
- Savaiano, D.A., Abou, E.I., Anouar, A., Smith, D.E., Levitt, M.D. 1984. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *Am J Clin Nutr.* 40: 1219-1223.
- Savaiano, D.A., Levitt, M.D. 1985. Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* 70: 397-406.
- Scrimshaw, N.S., Murray, E.B. 1988. The acceptability of milk and milk products in populations with a high prevalence of lactose intolerance. *Am. J. Clin. Nutr.* 48: 1083-1159.
- Shackelford, L.A., Rao, D.R., Chawan, C.B., Pulusani, S.R. 1983. Effect of feeding fermented milk on the incidence of chemically induced colon tumors in rats. *Nutr Cancer* 5: 159-164.
- Shahani, K.M. 1993. Yogurt. In: *Dairy science and technology handbook*. Hui YH, ed. New York: VCH Publishers, Inc, 1-57.
- Shahani, K.M., Chandan, R.C. 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods. *J Dairy Sci.* 62:1685-1694.
- Shermak, M.A., Saavedra, J.M., Jackson, T.L., Huang, S.S., Bayless, T.M., Perman, J.A. 1995. Effect of yogurt on symptoms and kinetics of hydrogen production in lactose-malabsorbing children. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1003-1006.

- Smith, K.E.; Bradley, R.L. Jr. 1982. Acceptance of yogurt made with and without lactose hydrolysis. *J.Dairy Sci.* 65: 69.
- Somkuti, G.A., Holsinger, V.H. 1997. Tecnologías microbiológicas para la elaboración de productos lácteos con bajo contenido en lactosa. *Food Sci. Tech. Intern.*3: 163 -169.
- Sorensen, R., Novak, N. 1996. The use of Michaelis-Menten kinetics in cell biology and physiology teaching laboratories. *Biochemical Education* 24 (1): 26-28
- Suarez F.L., Savaiano, D.A., Levitt, M.D. 1995. Review article: the treatment of lactose intolerance. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 9: 589-597
- Suarez, F.L., Savaiano, D.A., Levitt, M.D. 1995. A comparison of symptoms after the consumption of milk or lactose-hydrolyzed milk by people with self-reported severe lactose intolerance. *New Eng. J. Med.* 333: 1-4
- Suarez, F.L., Savaiano, D.A., Levitt, M.D. 1997. Diet, genetics and lactose intolerance. *Food Tech.* 51 (3) : 74-76
- Suarez, F.L., Savaiano, D.A. 1997. Diet, genetics and lactose intolerance. *Food Tech.* 51(3): 74-76
- Taranto, M.P., Médice, M., Font de Valdez, M. 2005. Alimentos funcionales probióticos. [en línea]. Asesoría en ediciones médicas. [consultado 21 ag. 2005]. Disponible en: <<http://www.edicionesmedicas.com.ar>>
- Taylor, S.L., 1986. Immunologic and allergic properties of cow's milk proteins in humans. *J. Food Protect.* 43:300-306
- Taylor, S.L., Lemanske, R.F. Jr., Bush, R.K. and Busse, W.W., 1987. Food allergens: Structure and immunologic properties. *Ann.Allergy* 59: 93-99
- Teuri, U., Vapaatalo, H., Korpela, R. 1999. Fructo-oligosaccharides and lactulose cause more symptoms in lactose maldigesters and pseudohypolactasia subjects than in control digesters. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 973-979.
- Turner, K. W., Martley, F. G. 1983. Galactose Fermentation and Classification of Thermophilic Lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 45(6) : 1932-1934.
- Ushijima, K., Riby, J.E., Kretchmer, N. 1995. Carbohydrate malabsorption. *Pediatric Clin. North Am.* 42:899-912.
- Vega y León, S., Rey Gutiérrez, T., Díaz González, G., González López, M.M., Ramírez Ayala, A., Salas Morales, J.H., Coronado Herrera, M., González Cabrera, C. 2005. Leche de cabra: producción, composición y aptitud indus-

trial. Carnilac Industrial-octubre-noviembre 2005.[en línea].  
Disponible en: <http://www.alfa-editores.com/canilac.htm>

- Veisseyre, R.1988. Lactología Técnica: Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche.Ed.Acribia.Zaragoza.España.
- Veith, W. 2004. Lactose Intolerance-Scientific Perspectives [en línea]. Disponible en: [http://www.amazingdiscoveries.org/health\\_lactose.htm](http://www.amazingdiscoveries.org/health_lactose.htm)
- Vesa, T.H., Marteau, P., Korpela, R. 2000.Lactose intolerance.  
J Am Coll Nutr.19: 165S–175S.
- Walstra, P., Jenness, R. 1987. Química y física lactológica. Acribia, Zaragoza, 440 pp.
- White, R.P., Ricca, G.F., El-Bauomy, A.M. and Robertson, J.T. 1991. Identification of capric acid as a potent vasorelaxant of human basilar arteries.  
Stroke 22: 469-476.
- Wollowski, I., Bakalinsky, S., Neudecker, A.T., Pool-Zobel, B.L. 1999.Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. J Nutr.129: 77–82.
- Zadow, J.G. 1984. Lactose: Properties and uses. 1984. J.Dairy Sci. 67: 2654-2679.
- Zeman, F.J. 1982. Clinical Nutrition and Dietetics. Callamore Press, D.C. Health and Co., Lexington, MA, USA. pp.75.

