



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo principal determinar la concentración de lactosa en Leche Deslactosada y por consiguiente el porcentaje de hidrólisis de lactosa, y comparar con el resultado obtenido con la fórmula aplicada en la Empresa de Lácteos “San Antonio” C.A.

Para dicha valoración se emplearon dos métodos: uno de ellos es el Método de Fehling (Norma Venezolana COVENIN) para la determinación de lactosa en leche semidescremada antes del proceso de deslactosado, y para la determinación de lactosa hidrolizada en leche deslactosada, se empleó el Método Enzimático (Norma AOAC); por diferencia se determinó la concentración de lactosa presente en la Leche Deslactosada y consecuentemente el porcentaje de hidrólisis de lactosa, y los resultados se compararon con los obtenidos por la fórmula basada en el Punto Crioscópico utilizado en la empresa.

Al comparar los resultados obtenidos por los dos métodos mediante el análisis estadístico, se ha determinado que existe una variación significativa entre la fórmula aplicada por la empresa y los métodos analíticos efectuados, concluyendo que dicha fórmula no cuenta con el respaldo suficiente para su aplicación, pues ha sido comparada con métodos establecidos en Normas Internacionales.

Este estudio proporcionó un aporte importante para la Empresa, pues se le ha brindado la información suficiente para que considere necesario la revisión respectiva y las correcciones necesarias en el protocolo de elaboración de la Leche Deslactosada, enfatizando en el control del porcentaje de Hidrólisis de Lactosa, para de esta manera obtener un producto de calidad garantizada.

Palabras claves: Lactosa, Leche Deslactosada, Punto Crioscópico, Hidrólisis.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO I	
1.1 LECHE.....	14
1.1.1 Generalidades	14
1.1.2 Historia.....	14
1.1.3 Definición	15
1.1.4 Composición	15
1.1.4.1. Agua	16
1.1.4.2. Proteínas	16
1.1.4.3. Lípidos	17
1.1.4.4. Glúcidos.....	18
1.1.4.5. Sales minerales	18
1.1.4.6. Vitaminas	19
1.1.4.7. Enzimas	19
1.1.5 Propiedades.....	20
1.1.5.1 Características Generales.....	20
1.1.5.2. Propiedades Físicas	20
1.1.5.2.1. Apariencia	20
1.1.5.2.2. Consistencia.....	20
1.1.5.2.3. Color	20
1.1.5.2.4. Olor.....	20
1.1.5.2.5. Sabor	20
1.1.5.3. Propiedades Físico-Químicas	21
1.1.5.4. Propiedades Químicas	21

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.6	Valor Nutricional	21
1.1.6.1.	Agua	22
1.1.6.2.	Hidratos de carbono.....	22
1.1.6.3.	Proteínas	22
1.1.6.4.	Lípidos	22
1.1.6.5.	Sustancias minerales.....	22
1.1.6.6.	Vitaminas	22
1.1.7	Valor energético.....	22
1.2.	LACTOSA.....	23
1.2.1.	Generalidades	23
1.2.2.	Síntesis de la lactosa.....	23
1.2.3.	Regulación del volumen de leche	24
1.2.4.	Estructura	24
1.2.5.	Propiedades.....	26
1.2.5.1.	Propiedades físicas.....	26
1.2.5.1.1.	Poder edulcorante.....	26
1.2.5.1.2.	Cristalización.....	26
1.2.5.1.3.	Mutarrotación	27
1.2.5.1.4.	Solubilidad	27
1.2.5.2.	Propiedades Químicas.....	28
1.2.5.2.1.	Propiedades Reductoras.....	28
1.2.5.2.2.	Hidrólisis	28
1.2.5.2.3.	Acción del calor	29
1.2.5.2.4.	Reacciones con las sustancias nitrogenadas	29
1.2.5.3.	Fermentación.....	29
1.2.5.3.1.	Fermentación láctica	29

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.2.5.3.2. Fermentación Propiónica	29
1.2.5.3.3. Fermentación Butírica	30
1.2.5.3.4. Fermentación alcohólica	30
1.2.6. Obtención de la lactosa	30
1.2.7. Valor Nutritivo	30
1.2.8. Usos Industriales	30
1.2.9. Intolerancia a la Lactosa.....	31
1.2.9.1. Incidencia	31
1.2.9.2. Causas y tipos.....	31
1.2.9.3. Tratamiento	32
1.3 PUNTO CRIOSCÓPICO DE LA LECHE	32
CAPÍTULO II	
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
2.1. Diseño Experimental	34
2.2. Muestreo y tamaño de la muestra	35
2.2.1. Muestra	35
2.2.2. Tamaño de la muestra.....	35
2.2.3. Muestreo	35
2.2.4. Metodología del trabajo	36
2.3. Correlación de la Crioscopia y Porcentaje de Hidrólisis.....	37
2.3.1. Fórmula para la determinación del porcentaje de hidrólisis basada en la Crioscopia	37
2.4. Enzima de desdoblamiento de lactosa empleada en la Fábrica Lácteos “SAN ANTONIO” C.A.....	38
2.5. Determinación de Azúcares Extraños.....	38
2.5.1. MÉTODO DE BAIER Y NEUMANN	38
2.5.1.1. Fundamento del método	38

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.5.2.2. Materiales y reactivos	39
2.5.2.3. Procedimiento	39
2.6. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA.	40
2.6.1. MÉTODO DE FEHLING	40
2.6.1.1. Fundamento del método	40
2.6.1.2. Materiales y Reactivos	34
2.6.1.3. Procedimiento	41
2.6.1.4. Cálculos y expresión de los resultados	42
2.6.2. MÉTODO ENZIMÁTICO.....	45
2.6.2.1. Fundamento	45
2.6.2.2. Materiales y Reactivos	45
2.6.2.3. Procedimiento	47
CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
CAPÍTULO IV	
CONCLUSIONES.....	75
RECOMENDACIONES	76
BIBLIOGRAFÍA	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de Lactosa	20
Figura 2. Estructura química de la α y β Lactosa.....	21
Figura 3. Isómeros de la Lactosa	22
Figura 4. Curva de solubilidad de Lactosa	25

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Leche Deslactosada Ultrapasteurizada Larga vida	33
Ilustración 2: Toma de la muestra: a. Leche Semidescremada. b. Leche Deslactosada en los tanques	33
Ilustración 3: Crioscopio utilizado en la fábrica de Lácteos “San Antonio” C.A.	34
Ilustración 4: Azúcares extraños a. positivo. b. negativo	37
Ilustración 5: Procedimiento del Método de Fehling	39
Ilustración 6: Equipos utilizados en el Método Enzimático	43
Ilustración 7: Kit Enzimático Lactosa/D-Galactosa	43
Ilustración 8: Preparación de la muestra para el Método Enzimático	44
Ilustración 9: Ensayo del Método Enzimático	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición media de la leche de vaca	12
Tabla 2: Minerales de la leche	15
Tabla 3: Composición vitamínica de la leche cruda por 100g	16
Tabla 4: Características Físico-Químicas de la Leche fresca y normal	18
Tabla 5: Análisis químico proximal de la leche de vaca	18
Tabla 6. Propiedades físicas de la lactosa	22
Tabla 7: Puntos Crioscópicos y porcentaje de Hidrólisis de la muestra número 1 del primer lote	34
Tabla 8: Determinación de lactosa por el Método de Fehling en la Leche Semidescremada del primer lote	40
Tabla 9: Determinación Gravimétrica de Lactosa a partir del peso de óxido cuproso	41
Tabla 10: Absorbancias medidas para calcular el porcentaje de recuperación	45
Tabla 11: Determinación de Lactosa desdoblada mediante el Método Enzimático de la muestra 1 del segundo lote	46
Tabla 12: Absorbancias del blanco, Diferencia de absorbancias del blanco	46
Tabla 13: Resultados del ensayo de azúcares extraños realizado en los tres lotes.	47
Tabla 14: Puntos Crioscópicos iniciales de la Leche Semidescremada de los tres lotes	48

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 15. Determinación de lactosa por el Método de Fehling en la Leche Semidescremada de los tres lotes	49
Tabla 16: Puntos Crioscópicos de la Leche Deslactosada en proceso (tanques) de los tres lotes.	50
Tabla 17. Puntos Crioscópicos finales de la Leche Deslactosada de los tres lotes.....	51
Tabla 18. Determinación de Lactosa desdoblada mediante el Método Enzimático de las muestras de los tres lotes	53
Tabla 19. Porcentajes de hidrólisis de lactosa basado en la Crioscopía de la Leche Deslactosada de los tres lotes.....	54
Tabla 20. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa basado en la Crioscopía de los tres lotes	55
Tabla 21. Porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes de Leche Deslactosada	55
Tabla 22. Promedios de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes de Leche Deslactosada	55
Tabla 23. Porcentajes de hidrólisis lactosa determinados por fórmula basada en crioscopía y los obtenidos mediante Métodos de Fehling y Enzimático del primer lote.	57
Tabla 24: Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa determinados por la fórmula y por los Métodos de Fehling – Enzimático del primer lote	57
Tabla 25. Porcentajes de hidrólisis lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y los obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático del segundo lote	58
Tabla 26. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa determinados por la fórmula y por los Métodos de Fehling – Enzimático del segundo lote	59
Tabla 27. Porcentajes de hidrólisis lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y los obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático del tercer lote	60
Tabla 28. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa determinados por la fórmula y por los Métodos de Fehling – Enzimático del tercer lote.....	60

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 29. Promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa del primer lote realizado a nivel de laboratorio y del segundo y tercer lote obtenidos de la producción de la empresa	61
Tabla 30. Porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y los obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes	63
Tabla 31: Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y de los obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Puntos crioscópicos iniciales de la Leche Semidescremada de los tres lotes	48
Gráfico 2. Promedios de los porcentajes de Hidrólisis de lactosa basado en Crioscopía de los tres lotes.	55
Gráfico 3. Promedios de los porcentajes de Hidrólisis de lactosa obtenidos por el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes.	56
Gráfico 4. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del primer lote. .	58
Gráfico 5. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del segundo lote.	59
Gráfico 6. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del tercer lote. ..	61
Gráfico 7. Comparación del Promedio del porcentaje de Hidrólisis de Lactosa del primer lote realizado a nivel de laboratorio con el Promedio del segundo y tercer lotes obtenidos de la producción de la empresa	62
Gráfico 8. Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa por fórmula basada en la Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático de las 24 muestras	64
Gráfico 9. Tendencia de los Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa por fórmula basada en la Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático de las 24 muestras	65
Gráfico 10. Promedios de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en la Crioscopía y de los obtenidos por el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes	66

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Flujograma de elaboración de la Leche Deslactosada Lácteos “SAN ANTONIO” C.A	77
ANEXO 2. Leche larga vida-Requisitos, NTE INEN 701-2009	80
ANEXO 3. Ficha técnica de la enzima utilizada en la empresa Lácteos “SAN ANTONIO” C.A	87
ANEXO 4. Análisis de Leche semidescremada previo a la elaboración de Leche Deslactosada	94
ANEXO 5. Resultados del porcentaje de hidrólisis de lactosa por la fórmula basada en la Crioscopía	95
ANEXO 6. Norma venezolana COVENIN 3219:1996, Leche. Determinación de Azúcares. Método de Fehling.	96
ANEXO 7. Resultados de la determinación de lactosa por el Método de Fehling en la Leche Semidescremada	112
ANEXO 8. Ficha técnica del kit enzimático utilizado en la determinación de Lactosa Desdoblada en Leche Deslactosada	113
ANEXO 9. Análisis de los tanques (leche con la enzima lactasa)	123
ANEXO 10. Análisis del producto terminado	124
ANEXO 11. Resultados de la determinación de lactosa desdoblada mediante el Método Enzimático de los tres lotes en Leche Deslactosada.....	125
ANEXO 12. Resultados de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes.	129
ANEXO 13. Tabla de valores normales del producto en proceso y producto terminado establecido en la empresa de Lácteos “SAN ANTONIO” C.A.....	130
GLOSARIO	131

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DE LACTOSA EN LECHE DESLACTOSADA Y SU
COMPARACIÓN CON LA FÓRMULA APLICADA EN LA EMPRESA DE LÁCTEOS
SAN ANTONIO”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
“BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO”**

DIRECTORA:

Dra. Diana Astudillo Neira

AUTORAS:

Rosa Daniela Juca Cedillo

Adriana Patricia Pérez Portilla

CUENCA - ECUADOR

2010

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por sobre todas las cosas, porque él ha sido nuestra guía y fortaleza para seguir siempre adelante, otorgándonos la capacidad, paciencia y perseverancia suficiente para poder culminar nuestra carrera.

A nuestros queridos padres que con amor y cariño, nos han apoyado incondicionalmente en cada momento, sobre todo en los más difíciles, y quienes han sido incentivo de nuestra dedicación.

A nuestros apreciados maestros, quienes supieron inculcar en nosotras además de sus conocimientos, el gusto por la investigación, los principios morales y la ética profesional, en especial a nuestra querida Directora de tesis, Dra. Diana Astudillo Neira, quien nos honró con su amistad, confianza y conocimiento en todo momento durante la realización de nuestra tesis.

De igual forma queremos brindar el más grande y sincero agradecimiento al personal de la Planta de Lácteos “SAN ANTONIO”, por permitirnos la realización de nuestra tesis con gran entusiasmo y responsabilidad, de manera especial al Sr. Rigoberto Moncayo, Gerente de Lácteos “SAN ANTONIO” y a la Dra. Sandra Guaraca, Jefe de Laboratorio de la empresa, quien con su valiosa amistad, orientación y sabias sugerencias nos ayudó con la culminación de esta tesis.

Y a todas las personas, quienes de una u otra forma apoyaron y contribuyeron en la realización de nuestra tesis.

¡...MIL GRACIAS POR TODO...!

DANIELA Y PATRICIA

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



DEDICATORIA

*A Dios, por darnos inteligencia y la fuerza necesaria para
cumplir las metas anheladas.*

*Con mucho amor y cariño a nuestros queridos padres,
quienes con su amistad, consejos, comprensión, apoyo y
esfuerzo, estuvieron presentes en todo momento durante
nuestra formación profesional.*

*De igual manera a
nuestros apreciados hermanos, quienes siempre estuvieron a
nuestro lado, brindándonos todo su apoyo.*

DANIELA Y PATRICIA



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



INTRODUCCIÓN

La empresa de Lácteos “SAN ANTONIO” C.A. propietaria de la marca comercial NutriLeche es una entidad creada en el año de 1975, en el cantón Cañar, en la zona Austral del país, siendo la base de su negocio la elaboración y comercialización de productos lácteos, que constituyen uno de los alimentos más importantes en la dieta del ser humano. Es por ello que la empresa busca satisfacer las expectativas de todos sus clientes brindándoles un excelente producto con altos atributos de variedad, calidad e inocuidad a un precio justo. Debido a su éxito rotundo, en el año de 1997, se tomó la decisión estratégica de ampliar la cobertura geográfica de la empresa construyendo una segunda planta de proceso en el parque industrial de Cuenca, alcanzando a lo largo de su trayectoria un lugar importante en el mercado nacional de productos lácteos, al contar con tecnología de punta y personal capacitado.

La empresa ofrece una gran variedad de productos lácteos, entre los cuales cabe destacar la elaboración de Leche Deslactosada Utrapasteurizada Larga Vida, con el objetivo de cubrir las necesidades de personas con intolerancia a la lactosa.

Es por ello que resulta primordial un estudio que permita un control del contenido de lactosa presente en la Leche Deslactosada Utrapasteurizada Larga Vida, pues dicha cantidad es de suma importancia para garantizar su consumo, sin que éste cause problemas en personas intolerantes a la lactosa.

La empresa actualmente considera una fórmula para calcular el porcentaje de hidrólisis de lactosa basada en la Crioscopía, la misma que requiere de estudios para comprobar su validez, es por ello, que se puede recurrir a la aplicación de otros métodos, tales como el Método Enzimático y el Método de Fehling, establecidos en Normas Internacionales.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPÍTULO I

1.1 LECHE

1.1.1 Generalidades

La leche como alimento del hombre es de gran importancia, es por ello que se ha observado un gran progreso en el estudio de las diferentes ramas por parte de las industrias lácteas, especialmente en lo que se refiere a la rama técnico-científico, con ello se dio lugar a una nueva ciencia, denominada: Lactología. **(1)**

La leche es el líquido que segregan las hembras de los mamíferos, a través de las glándulas mamarias, que permite la alimentación de sus crías, presentado gran importancia debido a su elevado valor nutritivo. Proporciona prácticamente todos los nutrientes necesarios y además contiene sustancias que protegen y fortalecen el Sistema Inmunológico del recién nacido. **(2)**

La leche más empleada para el consumo humano es la de rumiantes hembra como la vaca, la cabra y la oveja. También la llama, el reno y el búfalo son importantes productores de leche en muchos lugares del mundo. **(3)**

1.1.2 Historia

El consumo humano de la leche de origen animal comenzó hace unos 11.000 años con la domesticación del ganado. El primer animal que se domesticó fue la vaca, después la cabra, y finalmente la oveja, entre 9000 y 8000 a. C.

Durante la Edad Antigua y la Edad Media, era difícil la conservación de la leche y es por ello, que se la trataba de consumir fresca o en forma de quesos. Con el paso del tiempo se observó la aparición de otros productos lácteos como es la mantequilla. Además de mejorar el transporte de la leche fresca del campo a las ciudades, se ha observado un avance en la industria láctea, en cuanto al procesado de la leche, uno de los más importantes es el proceso de Pasteurización, sugerida para la leche por primera vez en 1886 por el químico agrícola alemán Franz von Soxhlet. Estos avances han permitido que la leche tenga un aspecto más saludable, un tiempo de conservación más prolongado y un procesado más higiénico. **(4)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.3 Definición

Según la norma INEN 9: “Es el producto de secreción normal de las glándulas mamarias obtenidas a partir del ordeño íntegro e higiénico de las vacas sanas sin adición ni sustracción alguna y exento de calostro, destinada al consumo en forma de leche líquida o para elaboración posterior”. **(5)**

Desde el punto de vista físico-químico: La leche es una mezcla homogénea de un gran número de sustancias (lactosa, glicéridos, proteínas, sales, vitaminas, enzimas, etc) que están, unas en emulsión (la grasa y sustancias asociadas), algunas en suspensión (las caseínas ligadas a sales minerales) y otras en disolución verdadera (lactosa, vitaminas hidrosolubles, proteínas del suero, sales, etc). **(6)**

Desde el punto de vista biológico: La leche es el producto de la secreción de las glándulas que a tal fin tienen las hembras mamíferas, cuya función natural es la alimentación de los recién nacidos. **(4)**

1.1.4 Composición

La leche es un producto de gran complejidad química y física constituida principalmente por agua y elementos nutritivos tales como grasa, glúcidos, proteínas, gran cantidad de minerales y una variedad de vitaminas.

Por su composición es un alimento de elección. La composición media de la leche de vaca es la siguiente:

Agua	87%
Proteínas	3,5%
	Caseína: 2,7%
Lípidos	3,5-4%
Glúcidos	5,1%
	Lactosa: 4,5 – 5%, mínimo 4,3%
Sales Minerales	0,7%

Tabla 1: Composición media de la leche de vaca. **(7)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.4.1. Agua:

Cuantitativamente, el agua es el elemento más importante. Representa aproximadamente, los 9/10 de la leche. Constituye el medio en el cual se hallan los demás componentes de la leche, unos en disolución y otros en estado coloidal. **(1)**

1.1.4.2. Proteínas:

Los compuestos nitrogenados más importantes de la leche son las proteínas, las cuales se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo con su estado de dispersión: las caseínas (hidrofóbicas) que representan el 80% del total, y las proteínas del suero o seroproteínas (hidrofílicas) que constituyen el 20% restante. **(2)**

1.1.4.2.1. Caseínas: Es un complejo de proteínas fosforadas que constituyen la parte nitrogenada más abundante en la leche y cuya síntesis tiene lugar en la glándula mamaria.

Las características comunes que poseen las caseínas son: cantidades abundantes de ácido aspártico y ácido glutámico, están fosforiladas, coagulan a pH de 4,6, precipitan con ion calcio excepto la caseína K, son estables a 100°C y tienen un contenido bajo de aminoácidos azufrados. **(8)**

Existen cuatro tipos de caseínas: α , β , γ , K.

Caseína α : Es la fracción más abundante, constituye alrededor del 42% del total de las proteínas, relativamente rica en fósforo, no contiene glúcidos.

Caseína β : Representa el 25% del total de las proteínas. Contiene menos fósforo que la caseína anterior, pero mucha más prolina.

Caseína K: Constituye el 9% del total de las proteínas. Es pobre en fósforo, pero contiene una elevada cantidad de serina, treonina y cisteína. Es la única que contiene una fracción glucídica.

Caseína γ : Constituye el 4% del total de las proteínas. Es una mezcla de las tres fracciones resultantes de la hidrólisis parcial de la caseína β . **(1) (9)**

1.1.4.2.2. Proteínas del suero: Reciben este nombre porque cuando precipitan las caseínas, estas proteínas quedan sobrenadando en el suero. Presentan las siguientes características: no coagulan a pH ácido, no son sensibles al ion calcio, tienen una estructura secundaria y terciaria definida, ya que al tener aminoácidos azufrados poseen enlaces disulfuro, y se desnaturalizan al calentar. **(8)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Están constituidas por tres grandes fracciones: albúminas, globulinas y fracción proteasa-peptona.

1.1.4.2.2.1. Albúminas: Es la fracción más importante, representa el 75% de las proteínas del suero lácteo, y el 15% del total de las proteínas de la leche. Comprende principalmente tres constituyentes: α -lactoalbúmina, la β -lactoglobulina y la seroalbúmina.

α -lactoalbúmina: Representa el 25% de las albúminas. Interviene en la biosíntesis de la lactosa, de la cual se sabe que está bajo el control de tres enzimas, una de las cuales, es la lactosa sintetasa, la cual está constituida por dos subunidades proteicas, la A y la B. La B es la α -lactoalbúmina.

β -lactoglobulina: Representa el 60% de las albúminas. Es el principal portador de grupos sulfhidrilos, intervienen en la formación del sabor a cocido de la leche calentada. (9)

Seroalbúmina: Esta proteína procede de la sangre. No se conoce con exactitud su función. (6)

1.1.4.2.2.2. Globulinas: Representan del 10 al 12% de las proteínas solubles. Proviene de la sangre. Las globulinas de la leche presentan una actividad inmunológica importante, por esto se les llama a menudo inmunoglobulinas.

1.1.4.2.2.3. Proteasas-Peptonas: Representan aproximadamente el 10% de las proteínas del suero lácteo. No precipitan a 95-100°C, contienen glúcidos y fósforo. (9)

1.1.4.3. Lípidos:

La materia grasa se encuentra dispersa en la leche en forma de glóbulos grasos de forma esférica, visibles al microscopio, de un diámetro de 1.5 -10 μm . Los glóbulos están constituidos por un núcleo central que contiene la grasa y que aparece rodeado de una película, denominada membrana.

- **Glóbulo graso (interior):** glicéridos (triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos); ácidos grasos libres; colesterol; carotenoides y vitaminas liposolubles.
- **Glóbulo graso (membrana):** proteínas, fosfolípidos, cerebrósidos, colesterol y enzimas. (6)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La fracción lipídica está constituida por lípidos apolares (más del 98%) y polares (menos del 2%).

1.1.4.3.1. Lípidos apolares: son en su mayoría triglicéridos (97-98%), con pequeñas cantidades de monoglicéridos, diglicéridos y ácidos libres. La mayoría de los ácidos grasos que forman parte de estos triglicéridos son saturados (60%) y el resto son insaturados.

1.1.4.3.2. Lípidos polares: Incluyen diferentes tipos de componentes como los fosfolípidos (Lecitina), cerebrósidos, gangliósidos y la fracción insaponificable, donde se encuentra el colesterol, los pigmentos naturales (carotenoides) y las vitaminas liposolubles (A, D, E). **(8)**

1.1.4.4. Glúcidos:

Se han detectado muy pequeñas cantidades de glucosa (7.4mg/100ml), galactosa (2mg/100ml) y sacarosa, por lo que su presencia no indica mayor valor nutricional. Sí, lo tiene, en cambio, la lactosa, cuya cantidad promedio varía entre 4.5 – 5 g%, con un mínimo de 4.3g% **(2) (10) (28)**

1.1.4.5. Sales minerales:

La leche es un alimento rico en minerales tanto en cantidad como en variedad. En la siguiente tabla indicamos los principales minerales que se encuentran en la leche:

<i>De magnitud importante</i>	<i>(mg/100ml)</i>
Potasio	142
Calcio	125
Cloro	105
Fósforo	90
Sodio	62
Azufre	30
Magnesio	8
De magnitud pequeña entre*	250 a 350
Total	700 a 900

* Comprende minerales tales como: bario, boro, bromo, cobalto, cobre, cromo, estroncio, flúor, hierro, litio, manganeso, molibdeno, níquel, plata, plomo, silicio, yodo, zinc y otros encontrados ocasionalmente.

Tabla 2: Minerales de la leche. **(10)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.4.6. Vitaminas:

En la leche están presentes todas las vitaminas. Las vitaminas liposolubles (A, D, E, K) van asociadas a la materia grasa y se pierden con la eliminación de la grasa. Las vitaminas hidrosolubles (B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, Ácido pantoténico, Ácido fólico) se encuentran asociadas a la fase acuosa. **(11)**

Vitamina A, UI (actividad total)	150
Vitamina D, UI	2
Vitamina E, µg	80
Tiamina (B1), µg	45
Riboflavina (B2), µg	150
Ácido pantoténico, µg	350
Vitamina B6, µg	35
Vitamina B12, µg	0,3
Vitamina C, µg	2.000

Tabla 3: Composición vitamínica de la leche cruda por 100g **(11)**

1.1.4.7. Enzimas:

Las enzimas se encuentran distribuidas en la leche, ya sea unidas a las caseínas, a la membrana del glóbulo graso o en forma libre en el suero; se producen en la glándula mamaria y de ahí se transfieren a la leche; algunas no son necesariamente propias de ella, sino que provienen de una contaminación microbiana.

Entre las enzimas más importantes se destacan: la fosfatasa alcalina, la catalasa, la lipasa, las proteasas y la lactoperoxidasa.

Hay enzimas que se emplean como índice de calidad: la fosfatasa alcalina se usa para determinar la eficiencia de la pasteurización de la leche, la catalasa para medir la mastitis de las vacas. Por otra parte la acción de las lipasas tiene también importancia ya que son las responsables de la rancidez hidrolítica. Las proteasas son las que ocasionan que la leche evaporada se coagule y la lactoperoxidasa sirve para inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas. **(2)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



1.1.5 Propiedades

1.1.5.1 Características Generales:

La leche normal no aparece hasta varios días (cinco) después del alumbramiento; el líquido viscoso segregado desde el momento del parto hasta la aparición de la leche normal recibe el nombre de calostro. **(3)**

1.1.5.2. Propiedades Físicas:

La leche presenta ciertas propiedades físicas particulares que son el reflejo de su composición y de las interacciones de sus constituyentes.

1.1.5.2.1. Apariencia:

La leche presenta un aspecto característico opaco que se debe a su contenido de partículas de grasa en suspensión, proteínas y ciertas sales minerales.

1.1.5.2.2. Consistencia:

La leche es líquida, parece homogénea, pero en realidad, es una emulsión de materia grasa en una solución acuosa que contiene varios solutos, unos en estado coloidal y otros disueltos. **(12)**

1.1.5.2.3. Color:

La leche es un líquido blanco opalescente o ligeramente amarillento que se debe fundamentalmente a la dispersión de los glóbulos grasos. **(2)**

1.1.5.2.4. Olor:

La leche recién ordeñada tiene un olor característico, que desaparece rápidamente en el curso de las manipulaciones y adquiere con mucha facilidad el aroma de los recipientes en los que se la guarda. **(11)**

1.1.5.2.5. Sabor:

Normalmente la leche fresca es de sabor agradable, ligeramente azucarado, debido a su importante contenido de lactosa. **(9)**



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.5.3. Propiedades Físico-Químicas:

En la siguiente tabla se indican las características físico-químicas de la leche fresca y normal:

Densidad a 15°C	1.030 a 1.034
Punto de Congelación °C	-0,540 a -0,512
Punto de Congelación °H	-0.560 a -0.530
pH	6.5 a 6.6
Acidez (grados DORNIC)	13 a 15
Índice de refracción a 20°C	37°Zeiss
Viscosidad a 20 °C (Centipoises)	2.2
Peso específico a 15°C	1.032
Calor específico	0.93 cal/kg °C

Tabla 4: Características Físico-Químicas de la Leche fresca y normal. (2)

1.1.5.4. Propiedades Químicas:

Composición media de la leche en gramos por litro							
Agua	Extracto seco	Materia grasa	Materias nitrogenadas			Lactosa	Materias minerales
			Totales	Caseína	Albúmina		
870	130	35-40	30-35	27-30	3-4	45-50	8-10

Tabla 5: Análisis químico proximal de la leche de vaca (3)

1.1.6 Valor Nutricional

La leche constituye uno de los alimentos naturales más completos, y su valor nutritivo es tal que no puede ser fácilmente desplazada ni sustituida por otros alimentos.

Es por esto que el consumo de leche está especialmente indicado durante la etapa de crecimiento y, aunque en la madurez no resulta indispensable, es conveniente su incorporación en toda dieta sana y equilibrada. (13)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.6.1 Agua: En todos los animales, el agua es el nutriente requerido en mayor cantidad y la leche suministra una gran cantidad de agua, conteniendo aproximadamente 90% de la misma. **(14)**

1.1.6.2 Hidratos de carbono: La lactosa es el único azúcar que se encuentra en la leche en cantidad importante y actúa principalmente como fuente de energía. Se ha observado un efecto estimulante de la lactosa en la absorción de calcio y otros elementos minerales de la leche. Para los seres humanos la lactosa es, en la práctica, la única fuente de galactosa.

1.1.6.3 Proteínas: Son capaces de cubrir las necesidades de aminoácidos del hombre y presentan alta digestibilidad y valor biológico.

1.1.6.4 Lípidos: La leche entera de vaca se comercializa con un 3,5 por ciento de grasa, lo cual supone alrededor del 50 por ciento de la energía suministrada. **(15)**

1.1.6.5 Sustancias minerales: Entre los minerales de la leche se destacan el calcio, fósforo y potasio.

- **Calcio:** Es esencial para la contracción muscular, formación de huesos y dientes, para la coagulación de la sangre y para el normal funcionamiento del corazón. El 80% de las necesidades diarias de Calcio es aportado al organismo humano por la leche y productos lácteos. **(1) (16)**
- **Fósforo:** Es necesario para la formación de los huesos y de los dientes.
- **Potasio:** Necesario para el normal funcionamiento de las células, nervios y los músculos. **(16)**

1.1.6.6. Vitaminas: La leche figura entre los alimentos que contienen la variedad más completa de vitaminas. Las vitaminas son sustancias orgánicas que en cantidades pequeñas permiten el crecimiento, mantenimiento y funcionamiento del organismo. **(16)**

1.1.7 Valor energético:

La leche entera de vaca es también una fuente de energía cuyo valor energético varía entre 610 y 710 calorías por litro, pudiéndose tomar como promedio el de 650 calorías. El de la leche descremada es de 360 calorías por litro. **(1)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



1.2 LACTOSA

1.2.1. Generalidades

La lactosa es el único glúcido libre que existe en cantidades importantes en todas las leches; es también el componente más abundante. Suele encontrarse en concentraciones comprendidas entre 45-50 g/l.

La lactosa parece ser el factor que limita la producción de la leche, ya que las cantidades de leche producidas en la mama dependen de las posibilidades de síntesis de lactosa. (6)

1.2.2. Síntesis de la lactosa

En la síntesis de la lactosa participan varios metabolitos como la propia glucosa o derivados de ésta, proceso que está regulado por un complejo enzimático conocido como lactosa-sintetasa, compuesto por dos proteínas: la proteína A, o galactosil transferasa que se encuentra en diversos tejidos y la proteína B o alfa lactoalbúmina que es una proteína sintetizada por las propias células epiteliales del tejido mamario.

Es posible la síntesis de la lactosa en presencia de la proteína A, pero la reacción exige entonces concentraciones elevadas de glucosa. La α -lactoalbúmina permite que se realice la reacción con cantidades de glucosa muy inferiores, por ello la tasa de síntesis de la lactosa está regulada por esta última. (17)

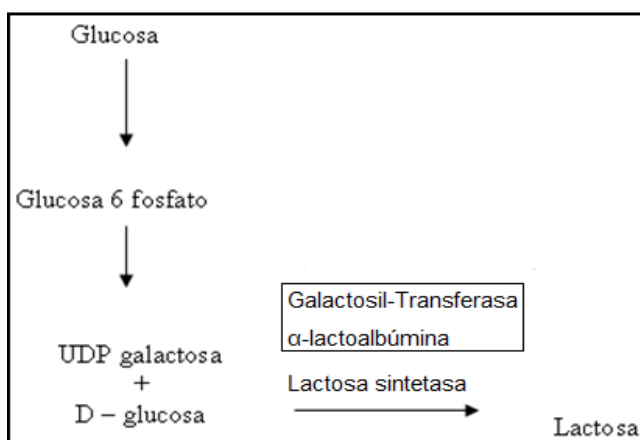


Figura 1.Síntesis de la lactosa (17)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

El flujo de alfa lactoalbúmina y su interacción con la proteína A insertada en la estructura de la pared del aparato de Golgi promueve la síntesis continua de lactosa. Se presume que las limitaciones en el precursor glucosa, y en los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas del complejo lactosa- sintetasa e incluso en portadores energéticos como el ATP, pudieran condicionar a este nivel la síntesis de lactosa y por tanto la producción láctea. (17)

1.2.3. Regulación del volumen de leche

La cantidad de leche que se produce es controlada primariamente por la cantidad de lactosa sintetizada por la ubre. La secreción de lactosa dentro de la cavidad del alvéolo incrementa la concentración de sustancias disueltas (presión osmótica) en relación al otro lado de las células secretoras, donde circula la sangre.

Como resultado, la concentración de sustancias disueltas en cada lado de las células secretoras se balancea atrayendo agua desde la sangre y mezclándola con otros componentes que se encuentran en la cavidad de los alvéolos. Para la leche normal, se alcanza el balance cuando existe 4,5 a 5% de lactosa en la leche.

Por lo tanto, la lactosa es "la válvula" que regula la cantidad de agua que se arrastra dentro del alvéolo y por lo tanto el volumen de leche producido. (14)

1.2.4. Estructura

Químicamente la lactosa es un disacárido formado por D-glucosa y D-galactosa unidos por un enlace glicosídico β (1,4). Su peso molecular es de 342 Daltons.

Su fórmula estructural es $C_{12}H_{22}O_{11}$. (6)

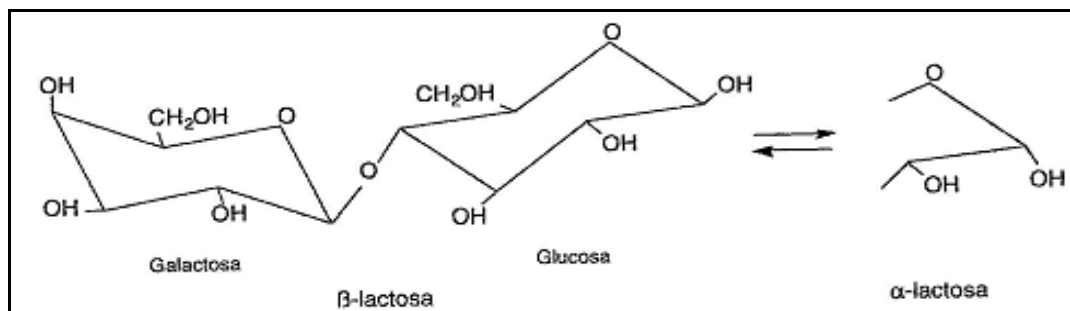


Figura 2. Estructura química de la α y β lactosa. (6)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La lactosa aparece en dos formas isoméricas: la α y β lactosa, ya que puede estar formada por la unión de una molécula de α o β glucosa y otra de β -galactosa.

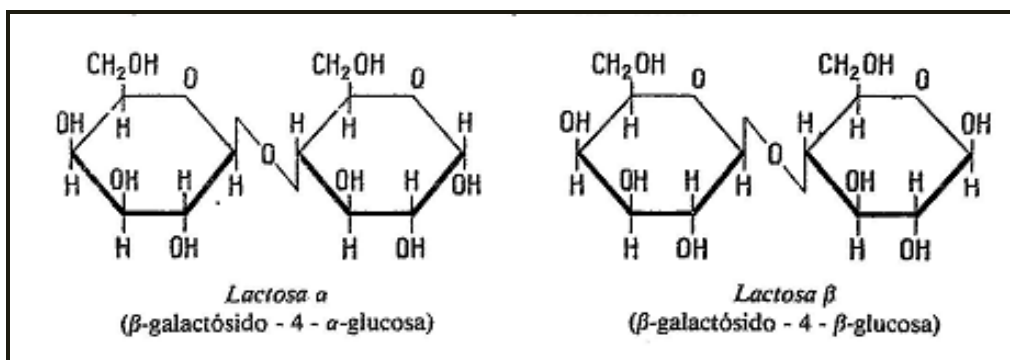


Figura 3. Isómeros de la Lactosa (9)

Estas dos formas se diferencian por sus propiedades físicas, y en particular por su poder rotatorio, punto de fusión y sus características de solubilidad y cristalización.

	Isómeros de la lactosa	
	α	β
Poder rotatorio	+89	+35
Temperatura de fusión	202°C	252°C
Concentración de equilibrio a 15°C	38%	62%
Cristalización de las soluciones saturadas:	α -hidratada	β -anhidra
- Por encima de 94°C		
- Por debajo de 94°C		

Tabla 6. Propiedades físicas de la lactosa (11)

Cabe indicar que en una solución de lactosa siempre se tiende al equilibrio entre ambas formas, pero generalmente hay más β que α , ya que la primera es más soluble en agua. (2)

Existe probablemente un doble equilibrio: (11)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



Lactosa anhidra (α o β) $\leftrightarrow$ Lactosa hidratada (α o β)
Lactosa α (anhidra o hidratada) $\leftrightarrow$ Lactosa β (anhidra o hidratada)

1.2.5. Propiedades

1.2.5.1. Propiedades físicas

1.2.5.1.1. Poder edulcorante: La lactosa tiene un débil sabor dulce; su poder edulcorante es seis veces menor que el de la sacarosa. El sabor dulce de la lactosa queda enmascarado por la caseína, por lo que el suero tiene un sabor más dulce que la leche de la que proviene.

1.2.5.1.2. Cristalización: Las condiciones de cristalización influyen en la forma de los cristales, siendo la lactosa un claro ejemplo de polimorfismo cristalino.

En condiciones normales, la cristalización es un proceso lento y lleva consigo la aparición de grandes cristales en poco número. Los cristales formados son duros y poco solubles y pueden detectarse en el paladar cuando su tamaño supera los 16 μm .

La lactosa ordinaria, que se obtiene por cristalización por debajo de la temperatura crítica de 94°C, se encuentra bajo la forma de α -hidratada: $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$. La forma β -anhidra cristaliza de las soluciones concentradas a una temperatura superior a 94°C. En una atmósfera húmeda, la lactosa α -anhidra se convierte en una α -hidratada, por debajo de los 94°C, pero por encima de esta temperatura, se convierte en β -anhidra. (6)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.2.5.1.3. Mutarrotación: Cada azúcar tiene su rotación específica característica que dependerá de su concentración, de la temperatura y de la longitud de onda. La α y la β -lactosa difieren en su rotación en el agua. A 20°C: +89° y +35°, respectivamente.

Cuando se encuentran en disolución, se produce la transformación de una forma en otra hasta que se alcanza un equilibrio; este fenómeno va acompañado de un cambio de la rotación específica y recibe el nombre de *Mutarrotación*.

Cuando se alcanza el equilibrio entre las dos formas a 20°C, el 38% es α -Lactosa y el 62% es β -Lactosa. En este momento la rotación específica es a 20°C de 55.3°. (6)

1.2.5.1.4. Solubilidad: La solubilidad de la lactosa es relativamente baja en comparación con la de otros azúcares: unas diez veces menos que la sacarosa. Por ser la β -lactosa la más soluble, la solubilidad inicial de la lactosa a 15°C es de 7.3g/100ml de agua.

Si se agita la disolución anterior durante 24 horas, se observa que una nueva cantidad de lactosa se disuelve. Se puede determinar entonces la solubilidad final a 15°C: 17g/100ml de agua.

El paso de la solubilidad inicial a la solubilidad final está controlado por la conversión de una parte de α -lactosa en β -lactosa, que es más soluble. Esta conversión permite la disolución de una nueva cantidad de α -lactosa. La solubilidad final se logra cuando las dos formas de lactosa han alcanzado el equilibrio. ($\beta/\alpha = 1.63$ a 15°C).

La solubilidad de la lactosa aumenta cuando se eleva la temperatura, a 100°C la solubilidad de la α -lactosa es de 70g/100ml de agua. El enfriamiento de una solución saturada de lactosa conduce a su cristalización. (9)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

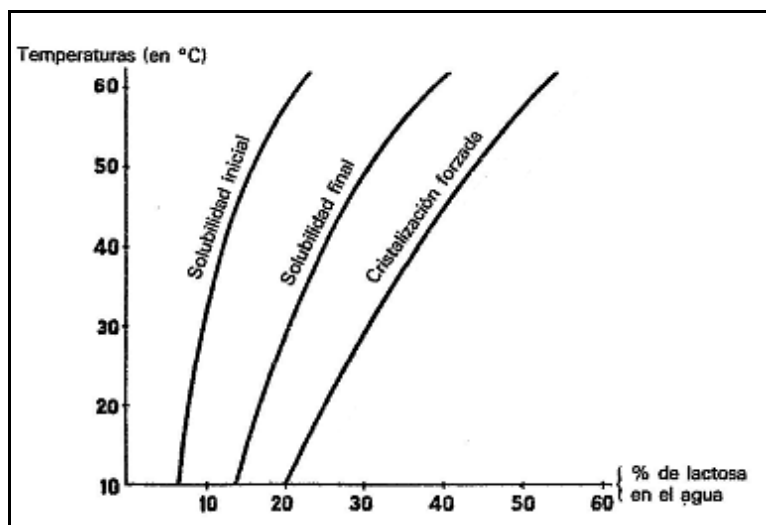


Figura 4. Curva de solubilidad de la Lactosa (9)

Solubilidad inicial: α -lactosa

Solubilidad final: equilibrio entre las formas α y β -lactosa

1.2.5.2. Propiedades Químicas:

1.2.5.2.1. Propiedades Reductoras: La lactosa, al poseer un grupo aldehído libre, es un azúcar reductor. Reduce especialmente al licor cupro-alcalino de Fehling, principio en el que se basa su valoración.

El poder reductor de la lactosa es considerablemente más débil que el de la glucosa. Si se hidroliza la lactosa el poder reductor aumenta considerablemente.

(11)

1.2.5.2.2. Hidrólisis:

1.2.5.2.2.1. Hidrólisis Química: Se realiza en medio ácido y a altas temperaturas, utilizando ácidos orgánicos como el sulfúrico o el clorhídrico a concentraciones elevadas.

1.2.5.2.2.2. Hidrólisis Enzimática: La β -galactosidasa o lactasa es la principal enzima responsable de esta hidrólisis. Se trata de una oxidasa que rompe el enlace β -1,4-glicosídico y libera glucosa y galactosa, que el hombre puede absorber con facilidad. (6) (11)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

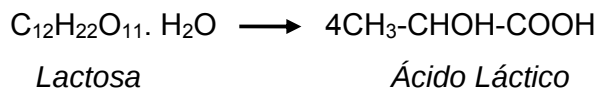
1.2.5.2.3. Acción del calor: La lactosa es sensible al calor. Entre 110- 130°C la lactosa hidratada pierde su agua de cristalización; más allá de 150°C se torna amarilla y después de 170°C se oscurece y carameliza.

La descomposición de la lactosa en el curso de calentamiento de la leche, conduce a la formación de productos ácidos (acético, fórmico, pirúvico) y también alcoholes y aldehídos. Estos compuestos son a su vez reactivos y pueden originar otros compuestos coloreados que hacen aparecer en la leche tonalidades oscuras. (6) (11)

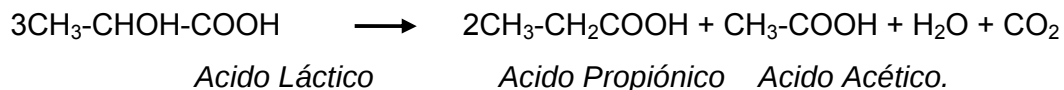
1.2.5.2.4. Reacciones con las sustancias nitrogenadas: Por su función aldehídica los azúcares reaccionan con diversas sustancias nitrogenadas: amoníaco, aminas, aminoácidos, etc. Se trata de un conjunto de reacciones complejas que se agrupan bajo el nombre de reacciones de *Maillard* y conducen a la formación de compuestos oscuros reductores llamados melanoides. Estas reacciones son catalizadas por los metales, como el hierro, cobre y los fosfatos. La elevación de la temperatura las acelera considerablemente. (11)

1.2.5.3. Fermentación: Muchos son los microorganismos que metabolizan la lactosa y la utilizan dando lugar a compuestos de menor masa molecular.

1.2.5.3.1. Fermentación láctica: Se produce por la acción de las bacterias lácticas y conlleva a la formación de ácido láctico:



1.2.5.3.2. Fermentación Propiónica: Se lleva a cabo por la acción de las bacterias del género *Propionibacterium*, que fermentan el ácido láctico a ácido propiónico, ácido acético, gas carbónico y agua:



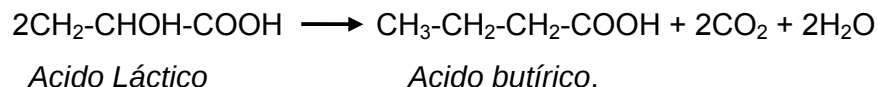
AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.2.5.3.3. Fermentación Butírica: Se produce por acción de las bacterias del género *Clostridium*, que fermentan la lactosa o el ácido láctico con formación de ácido butírico y gas:



1.2.5.3.4. Fermentación alcohólica: Ciertas levaduras como *Saccharomyces* y *Candida*, pueden transformar el ácido pirúvico en acetaldehído, el cual se reduce a etanol por acción del alcohol deshidrogenasa.(6)

1.2.6. Obtención de la lactosa

La Lactosa se puede aislar a partir de cualquier fracción acuosa de la leche: leche desnatada y lactosuero. La principal fuente de lactosa es el lactosuero, al que se elimina la grasa, se clarifica y se concentra a 55-65°C. Durante el enfriamiento gran parte de la lactosa cristaliza y a partir del producto cristalino se obtiene la lactosa cruda. La Lactosa normal se obtiene tras lavados sucesivos, mientras que la de uso farmacéutico se obtiene por recristalización. (6)

1.2.7. Valor Nutritivo

La Lactosa no solo es una fuente de energía sino que posee un valor nutritivo especial para los niños debido a que favorece la retención de Calcio, por lo que estimula la osificación y previene la osteoporosis. También favorece la absorción de otros minerales de la leche como el magnesio. (11)

1.2.8. Usos Industriales

- ♣ Tradicionalmente se ha utilizado en alimentos infantiles y en la elaboración de comprimidos y se considera un azúcar de gran importancia en las industrias de elaboración de alimentos.
- ♣ Se ha convertido en un excelente excipiente de pastillas y píldoras.
- ♣ También se añade a sopas, bebidas instantáneas, mezclas de especias, productos cárnicos, etc. (6)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



1.2.9. Intolerancia a la Lactosa

La intolerancia a la lactosa o mala absorción de lactosa, es la incapacidad para digerir cantidades significativas de este azúcar. Esta malabsorción es debida a la falta de expresión de la enzima lactasa presente normalmente en la membrana de los enterocitos de la mucosa intestinal. Al no existir suficiente lactasa gran parte de la lactosa no es digerida, y por lo tanto pasa sin ser absorbida al intestino grueso o colon, en donde es digerida o fermentada por las bacterias saprófitas o comensales presentes normalmente ahí, produciéndose ácido láctico, que irrita el colón, desencadenando así una diarrea aguda, además se generan gases como metano e hidrógeno, pudiendo producir molestias físicas o intolerancia clínica. Entre los síntomas a observarse están: cólico e hinchazón abdominal, pérdida de peso, espasmos, diarrea, náuseas, vómitos. **(2) (18)**

1.2.9.1. Incidencia: La prevalencia de la intolerancia a la lactosa a nivel mundial varía ampliamente dependiendo principalmente del origen étnico. Los grupos más afectados son las poblaciones asiáticas, africanas, afroamericanas, nativos americanos y pueblos del Mediterráneo contrastando con la baja prevalencia que presentan los norteamericanos caucásicos y los europeos escandinavos. **(19)**

1.2.9.2. Causas y tipos

1.2.9.2.1. Intolerancia Primaria: La intolerancia primaria se clasifica según se desarrollen al nacer o se adquieran en la vida adulta.

1.2.9.2.1.1. Intolerancia Primaria Congénita: Muy poco frecuente en la cual el recién nacido presenta ausencia total o parcial de la enzima lactasa. **(20)**

1.2.9.2.1.2. Intolerancia Primaria Adquirida: Es la causa más frecuente en el mundo. En todos los mamíferos es normal que después del destete de la madre, disminuya progresivamente la actividad de la enzima lactasa. **(18)**

1.2.9.2.2. Intolerancia Secundaria: Se trata de una deficiencia transitoria de lactasa en el intestino debida a patologías (infecciones gastrointestinales, enfermedades crónicas del intestino delgado, etc) o situaciones (como malnutrición o toma de medicamentos) que resultan en una supresión de las reservas enzimáticas en el tracto digestivo. **(4)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.2.9.3. Tratamiento:

En general, cuando la intolerancia es de carácter primario no existe curación posible porque el individuo no recupera la enzima y los síntomas sólo se alivian con la suspensión de los productos lácteos en la dieta.

En cambio cuando es de carácter secundario, es decir como consecuencia de otro problema, si puede haber solución al tratar dicho problema.

Para las personas intolerantes a la lactosa, están disponibles leches pobres en lactosa, tales como la **Leche Deslactosada**, entera o semidescremada, la que contiene todos los nutrientes de la leche, salvo que ha sido tratada para reducir al máximo el contenido de lactosa. **(18) (20)**

1.3. PUNTO CRIOSCÓPICO DE LA LECHE

Se basa en las propiedades coligativas de las soluciones verdaderas.

En la leche, depende casi exclusivamente de su contenido en lactosa y sales.

El punto de congelación de la leche es una de las características menos variables de la leche y su determinación constituye uno de los procedimientos más exactos para determinar su posible adulteración con agua.

La leche se coagula por debajo de la temperatura de congelación del agua.

El punto de congelación de la leche normal oscila entre -0.560°H (-0.540°C) y -0.530°H (-0.512°C), con un promedio de alrededor de -0.540°H (-0.520°C). (21)

Por su dispersión no molecular las proteínas y grasas no tienen influencia.

No permite detectar adición de leche descremada o remoción de grasa, ya que ésta no tiene efecto en el punto de congelación.

Se debe cuidar la acidez ($> 0.18\%$ ácido Láctico), ya que los minerales son más solubles en medio ácido y puede haber resultados erróneos. **(22)**

La adición de agua a la leche altera su punto de congelación porque se diluyen las concentraciones de los compuestos disueltos (sólidos hidrosolubles como la lactosa

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

y las sales minerales) en el agua de la leche. El descenso del punto de congelación es proporcional a la concentración de los solutos en el solvente; la adición del solvente, significa una disminución de la concentración de los solutos. **(23)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

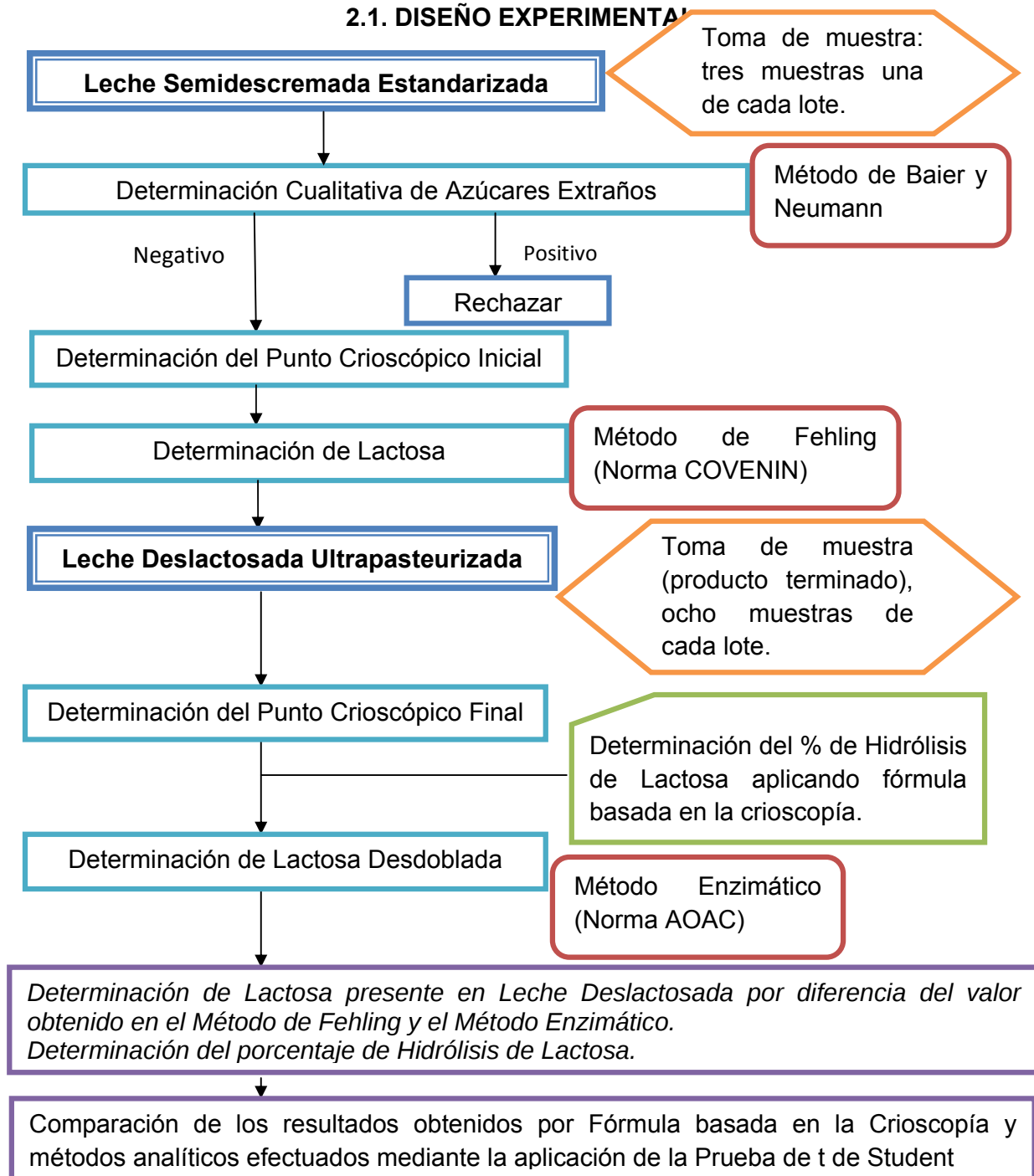


CAPÍTULO II

2.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.2 MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA:

2.2.1. MUESTRA:

- o Leche Semidescremada Estandarizada destinada para la producción de Leche Parcialmente Deslactosada, elaborada en la Empresa de Lácteos “San Antonio”.
- o Leche Parcialmente Deslactosada Ultrapasteurizada Larga Vida, marca NUTRILECHE, elaborada en la Empresa de Lácteos “San Antonio”. (Ver ANEXO 2)

2.2.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA:

- o Tres muestras de Leche Semidescremada Estandarizada previo al proceso de deslactosado.
- o Veinte y cuatro muestras de Leche Deslactosada de 3 lotes diferentes.

2.2.3. MUESTREO:

De cada lote se obtuvieron ocho muestras de Leche Deslactosada. Las muestras del segundo y tercer lote de Leche Deslactosada Ultrapasteurizada Larga Vida fueron tomadas en diferentes intervalos de tiempo durante el período de producción. El primer lote, se realizó a nivel de laboratorio, por lo que las muestras de Leche Deslactosada no fueron tomadas a diferentes intervalos de tiempo; para ello se utilizó 4 litros de Leche Semidescremada Estandarizada, a la cual se le agregó la enzima lactasa con su correspondiente dosificación:

Dosis recomendada (g/100 litros leche)	Tiempo (h)	Temperatura(°C)
40	15	6

40 g 100 litros
x=1.6 g 4 litros

Después de agregada la enzima y su homogeneización, se procedió a refrigerar la leche a una temperatura aproximada de 4 - 6°C, tomándose los puntos crioscópicos a diferentes horas hasta llegar al valor establecido por la fábrica. Finalmente se procedió a envasar en frascos de vidrio estériles. (Ver ANEXO 3).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Ilustración 1: Leche Deslactosada Utrapasteurizada Larga vida.

2.2.4. METODOLOGÍA DEL TRABAJO:

- o Para evitar interferencia con los resultados en la determinación de Lactosa en Leche Semidescremada previo a su procesamiento para la obtención de Leche Deslactosada (Ver ANEXO 1), se procedió a la determinación de azúcares extraños mediante el Método de Baier y Neumann.
- o Se realizó la determinación de Lactosa en Leche Semidescremada antes del desdoblamiento de la lactosa por el Método de Fehling. Dicha determinación se realizó por duplicado.
- o Se determinó la cantidad de lactosa hidrolizada por el Método Enzimático en Leche Deslactosada. Por diferencia se obtuvo concentración de lactosa presente en la Leche Deslactosada y consecuentemente el porcentaje de hidrólisis de lactosa. Dicho análisis se realizó por duplicado.

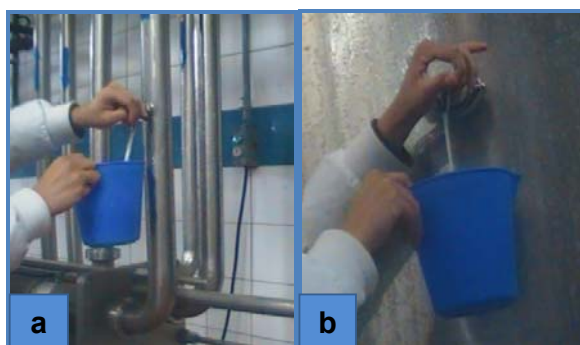


Ilustración 2: Toma de muestra:

- a. Leche Semidescremada.
- b. Leche Deslactosada en los tanques.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CORRELACIÓN DE LA CRIOSCOPIA Y PORCENTAJE DE HIDRÓLISIS

2.2.5. Fórmula para la determinación del porcentaje de hidrólisis basada en la Crioscopia proporcionada a la empresa por el proveedor SAUMUR:

En caso de necesitar el control del grado de hidrólisis de la lactosa se puede usar la técnica de la crioscopia. (24)

El cálculo final puede ser hecho a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{Hidrólisis alcanzada} = 350.77 \times (\text{Crioscopia Final}) - \frac{(\text{Crioscopia Inicial})}{0.00285}$$

(Ver ANEXO 3)



Ilustración 3: Crioscopio (Model 4250 Cryoscope. Advanced Instruments).

Ejemplo:

Primer lote		
Fecha: 08/07/2010		
Punto Crioscópico inicial °H	Punto Crioscópico final °H	%Hidrólisis
-0,544	-0,745	70,526

Tabla 7: Punto Crioscópico inicial, Punto Crioscópico final y Porcentaje de Hidrólisis de la muestra número 1 del primer lote.

$$\% \text{Hidrólisis alcanzada} = 350.77 \times (\text{Crioscopia Final}) - \frac{(\text{Crioscopia Inicial})}{0.00285}$$

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

$$\% \text{Hidrólisis alcanzada} = 350.77 \times (0.745) - \frac{(0.544)}{0.00285}$$

$$\% \text{Hidrólisis alcanzada} = 70.526 \%$$

(Ver ANEXO 5)

ENZIMA DE DESDOBLAMIENTO DE LACTOSA EMPLEADA EN LA FÁBRICA LÁCTEOS “SAN ANTONIO” C.A.

Nombre comercial: Foodzyme ® Yeast Lactase 50

Descripción: Foodzyme ® Yeast Lactase 50 es la enzima lactasa, obtenida a través de la fermentación de una cepa seleccionada y específica de *kluveromyces lactis*. Esta enzima actúa sobre la lactosa presente en la leche, rompiendo sus enlaces y produciendo D-glucosa y D-galactosa, que son azúcares más solubles. (24)

(Ver ANEXO 3)

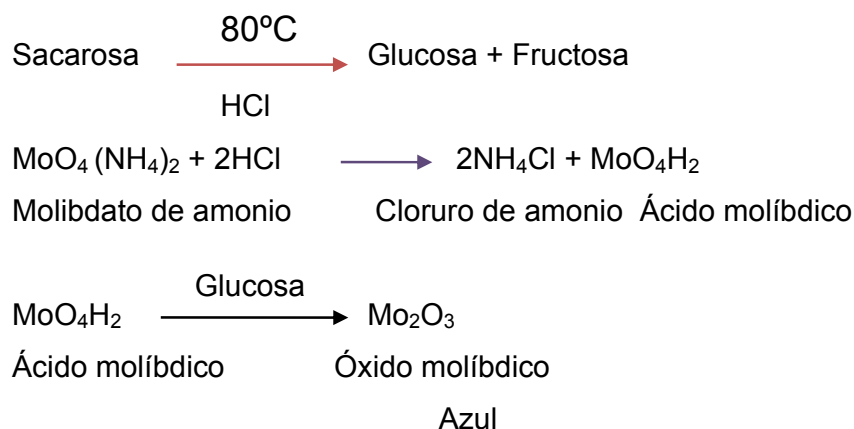
DETERMINACIÓN DE AZÚCARES EXTRAÑOS

2.2.6. MÉTODO DE BAIER Y NEUMANN

Detección Cualitativa

2.2.6.1. Fundamento del método:

La sacarosa en medio ácido y a una temperatura de 80°C se hidroliza en glucosa y fructosa. A su vez el molibdato de amonio reacciona con el ácido clorhídrico formándose así cloruro de amonio y ácido molíbdico, el mismo que da lugar a la formación de óxido molíbdico de color azul por la acción reductora de la glucosa.



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.2.6.2. Materiales y reactivos:

Materiales:

- (a) Baño María.
- (b) Matraz Erlenmeyer pequeño.
- (c) Vaso de Precipitación de 100ml.
- (d) Embudo de vidrio.
- (e) Papel filtro.

Reactivos:

- (a) Acetato de Uranio al 5%.
- (b) Solución saturada de Molibdato de Amonio.
- (c) Acido Clorhídrico al 5%.

2.2.6.3. Procedimiento:

A 25ml de la muestra, contenidos en un matraz Erlenmeyer pequeño, agréguese 10ml de la solución de acetato de uranio al 5%, agítese, y al cabo de 5 minutos, fíltrese.

Agítense 10ml del filtrado líquido con 2ml de solución saturada de molibdato de amonio y con 8ml de Ácido clorhídrico al 5% y caliéntese en un baño maría a 80°C durante 5 minutos.

La aparición de una coloración azul más o menos acentuada, cuya intensidad aumente con un calentamiento posterior, indica la presencia de sacarosa. Un precipitado azul claro sedimentará de la solución azul intensa al dejarla en reposo durante la noche.

Se afirma que con este ensayo puede identificarse hasta 0.10% de sacarosa. **(25)**

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

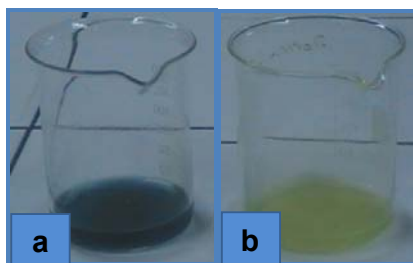


Ilustración 4: Prueba de Azúcares extraños:

- a. Prueba Positiva.
- b. Prueba Negativa.

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA.

2.2.7. MÉTODO DE FEHLING

Detección Cuantitativa

Los azúcares que tienen en su estructura grupos aldehídos o cetónicos libres reaccionan como agentes reductores débiles y se llaman azúcares reductores. Éstos incluyen a todos los monosacáridos y disacáridos: maltosa, lactosa y celobiosa. Los disacáridos como la sacarosa y la rafinosa, así como otros oligosacáridos, están formados por azúcares simples unidos a través de sus grupos aldehídicos o cetónicos y, por tanto, son carbohidratos no-reductores (hasta que son hidrolizados en los azúcares reductores que los forman). Estas propiedades se usan para cuantificar azúcares por la medición de la reducción del Cu (II) al Cu (I). **(8)**

2.2.7.1. Fundamento del método:

Los azúcares reductores reducen en medio alcalino los iones cúpricos del Reactivo de Fehling a iones cuproso, los cuales pueden ser determinados por gravimetría o titulación con permanganato de potasio o yodo y tiosulfato de sodio. **(26)**

2.2.7.2. Materiales y reactivos:

Materiales:

- (a) Balanza analítica con apreciación de 0,1mg.
- (b) Plato de calentamiento.
- (c) Crisol de filtración (Gooch) de porosidad M.
- (d) Equipos de filtración al vacío.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

(e) Fiolas kitasato.

Reactivos:

(a) Solución de Fehling I.

(b) Solución de Fehling II.

(c) Hidróxido de sodio 0.25N.

(d) Sulfato férrico anhidro.

(e) Solución de ácido sulfúrico 4N.

(f) Solución de permanganato de potasio 0.1N.

(g) Indicador sulfato ferroso o-fenantrolina.

2.2.7.3. Procedimiento:

Medir 10ml de leche fluida y pasar a un balón aforado de 250ml con ayuda de agua destilada hasta un volumen de 100ml.

Agregar 10ml de solución de Fehling I y 8ml de solución de hidróxido de sodio 0.25N, diluir a volumen con agua destilada y filtrar (Ver Ilustración 5a).

Reducción del cobre:

En un vaso de 600ml, colocar 25ml de la solución de Fehling I, 25ml de la solución de Fehling II y 50ml del filtrado obtenido, si se utiliza un volumen menor de filtrado añadir agua para obtener un volumen final de 100ml.

Calentar sobre la llama de un mechero o sobre una cocinilla de resistencia cubierta, regulado de manera tal que la ebullición comience a los 4 minutos y se mantenga hirviendo por exactamente 6 minutos.

Cubrir el vaso con un vidrio de reloj (Ver Ilustración 5b).

Filtrar la solución caliente por un filtro de Gooch y lavar el vaso y el precipitado de óxido cuproso con agua calentada a 60°C (Ver Ilustración 5c).

Añadir al vaso 50ml de sulfato férrico caliente, agitar para disolver todo el óxido cuproso, cambiar el filtro de Gooch a un kitasato limpio y seco, pasar poco a poco la solución de sulfato férrico, para lograr la disolución completa del precipitado (Ver Ilustración 5d).

Lavar el crisol con agua.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Agregar a la fiola kitasato 20ml de ácido sulfúrico 4N y titular con la Solución 0.1N de permanganato de potasio.

Cuando se aproxima el punto final agregar una gota de la solución indicadora de fenantrolina ferrosa. El punto final de la titulación viene dado por el cambio de color de la solución de pardo (Ver Ilustración 5e) a verde (Ver Ilustración 5f). **(26)** (Ver ANEXO 6)



Ilustración 5: Procedimiento del Método de Fehling.

2.2.7.4. Cálculos y expresión de los resultados:

Azúcares reductores

$$A_i: V_i \times N \times 63.54$$

Donde:

A_i: mg de cobre equivalente al óxido cuproso formado por el azúcar reductor.

N: Normalidad de la solución titulante.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Vi: Volumen de permanganato gastado en la titulación de la muestra antes de la inversión.

63.54: meq del cobre en miligramos.

Buscar la equivalencia del **Ai** en lactosa, en la tabla. (Ver ANEXO 6)

Ai : Li

$$\%L = \frac{Li \times fd \times 100}{1000 \times p}$$

%L: Porcentaje peso/volumen de lactosa monohidratada

fd: Factor de dilución.

p: Peso de la muestra directa o a partir de la dilución preparada. (26)

Ejemplo:

Primer lote				
Fecha: 08/07/2010				
Vi ml	Ai mg	Li mg	% (P/V) Lactosa hidratada	% (P/V) Lactosa anhidra
5	31,770	19,1	4,775	4,536

Tabla 8: Volumen de permanganato gastado en titulación de la muestra (Vi), mg de cobre equivalente al óxido cuproso formado por el azúcar reductor (Ai), Equivalencia del Ai en lactosa en mg (Li), Porcentaje peso/ volumen de lactosa hidratada, Porcentaje peso/volumen de lactosa anhidra de Leche Semidescremada destinada a deslactosarse del primer lote.

$$Ai = Vi \times N \times 63.54$$

$$Ai = 5 \times 0.1 \times 63.54$$

$$Ai = 31.77\text{mg}$$

Buscar la equivalencia del **Ai** en lactosa, en la tabla. (Ver ANEXO 6)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Óxido de Cobre (mg)	Glucosa (mg)	Azúcar invertido (mg)	Sacarosa (mg)	Lactosa Hidratada (mg)	Maltosa (mg)
30.0	14.3	13.7	13.0	18.1	24.0
31.0	14.8	14.2	13.5	18.7	24.9
32.0	15.2	14.7	13.9	19.4	25.7
33.0	15.6	15.1	14.3	20.0	26.6

Tabla 9: Determinación Gravimétrica de Lactosa a partir del peso de óxido cuproso.

Oxido de Cobre (mg) Lactosa Hidratada (mg)

31 18.7

31.77 x = 19.1

Li = 19.1mg

$$\%L = \frac{Li \times fd \times 100}{1000 \times p}$$

fd = 10ml → 250ml fd= 25

$$\%L = \frac{19.1 \times 25 \times 100}{1000 \times 10}$$

%L (P/V) = 4.775 (Lactosa Monohidratada)

% Lactosa anhidra (P/V)

Peso molecular lactosa anhidra: 342.3 g

Peso molecular de lactosa monohidratada: 360.32 g

Lactosa monohidratada Lactosa anhidra

360.32 g 342.3 g

4.775 g x = 4.536 g

%L (P/V) = 4.536 g% (Lactosa anhidra)

NOTA: La determinación se realizó por duplicado.

(Ver ANEXO 7)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.2.8. MÉTODO ENZIMÁTICO. (AOAC MÉTODO OFICIAL 984.15)

Método para determinación de lactosa hidrolizada en leche deslactosada.

La especialidad de las reacciones enzimáticas se ha empleado en el análisis de los azúcares desde hace muchos años, en los últimos 15 años ha sido posible disponer de una amplia variedad de preparaciones enzimáticas, esto ha conducido al desarrollo de varias técnicas analíticas útiles, específicas y sensibles, entre ellos el Método Oficial de la AOAC. (8)

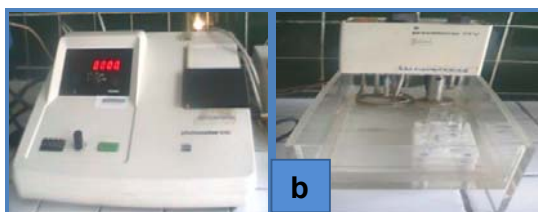
2.2.8.1. Fundamento:

La Lactosa es hidrolizada a glucosa y β -galactosa en presencia de β -galactosidasa y agua. La β -Galactosa es luego oxidada por NAD^+ a Ácido Galactónico en presencia de β -galactosa deshidrogenasa; la cantidad de NADH formado, estequiométricamente con el contenido de lactosa, es medida por absorbancia a 340nm.

2.2.8.2. Materiales y Reactivos:

Materiales:

- (a) Espectrofotómetro-Cualquier espectrofotómetro con ancho de ranura de $\leq 10\text{nm}$.
- (b) Cubetas-Vasos o cubetas plásticas disponibles.
- (c) Pipetas-Pipetas capilares para transferir volumen $< 1\text{ml}$. Usar también pipetas para traslado de volumen $> 1\text{ml}$.
- (d) Agitador-Varilla de vidrio o plástico, 1 mm de diámetro.



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Ilustración 6: Equipos utilizados en el método enzimático.

- a. Espectrofotómetro (Fotocolorímetro con Sistema Elisa 4010, T. Mannheim Boehringer).
- b. Baño María (Precitherm ® PFV, 25-56°C).
- c. Vortex (Mixer K, Modelo VM).
- d. Balanza (Mettler Eléctrica Analítica).
- e. PHmetro (Corning Glass Works, Modelo 7).

Reactivos:

- (a) Ácido tricloroacético (3M).
- (b) Hidróxido de sodio (1M).
- (c) Agua bidestilada.
- (d) Reactivos de ensayo:
 - 1) Solución 1- 600mg de liofilizado de buffer citrato (pH 6,6), NAD (35mg), MgSO₄ y estabilizadores. Disolver liofilizado en 7ml de agua bidestilada antes de usar.
 - 2) Solución 2- 1,7ml de suspensión de enzima de β -galactosidasa (100U).
 - 3) Solución 3- 34ml de solución consistente de buffer difosfato de potasio (0,51 mol/L, pH 8,6) y estabilizadores.
 - 4) Solución 4-1,7 de suspensión de enzima de galactosa deshidrogenasa (40U).



Ilustración 7: Kit Enzimático Lactosa/D-Galactosa.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.2.8.3. Procedimiento:

(a) **Preparación de muestra**- Con precisión pesar aproximadamente 2g de leche en un frasco volumétrico de 100ml. Diluir con aproximadamente 20ml de agua destilada y adicionar 1ml de ácido tricloroacético (3M) para precipitación de las proteínas. Después de 10 minutos de incubación neutralizar con NaOH (1M) , llevar a volumen con agua destilada (100ml), filtrar y usar la solución clara, posiblemente ligeramente opalescente para el ensayo.



Ilustración 8: Preparación de la muestra para el Método Enzimático.

(b) **Ensayo**- Etiquetar una cubeta como “blanco” y una cubeta como “muestra”. Pipetear 0,20ml de Solución 1 en cada cubeta. Pipetear 0,05ml de Solución 2 en cada cubeta (En nuestro caso se obvia este paso, pues la Leche Deslactosada ya contiene la enzima, y lo que se desea determinar es la cantidad de lactosa desdoblada durante el proceso de producción). Pipetear 0,10ml de la solución de la muestra (filtrado) en la cubeta de muestra. Mezclar ambas cubetas con un agitador, y calentar 10 minutos a 20-25°C. Pipetear 1.00ml de Solución 3 en cada cubeta. Pipetear 2.00ml de agua bidestilada en la cubeta del blanco y 1,90ml de agua bidestilada en la cubeta de muestra. Determinar la absorbancia (A_1) de cada solución a 340nm. Añadir 0,05ml de Solución 4 a cada cubeta. Mezclar y calentar a 20-25°C hasta que reacción se detenga. (10-15min).

Determinar la absorbancia (A_2) de ambas soluciones. Si la reacción no fue detenida después de 15 minutos, continuar leyendo a intervalos de 2 minutos hasta que la absorbancia sea constante por 2 minutos.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Ilustración 9: Ensayo del Método Enzimático.

Convertir las lecturas de absorbancia, **A**, a lactosa anhidra, **C**, por la siguiente ecuación:

$$C \text{ (g/L solución muestra)} = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$$

Donde **V** = Volumen final (ml); **v** = volumen de muestra (ml); **MW** = peso molecular de lactosa anhidra (342,3); **d** = diámetro de cubeta (cm); **ε** = coeficiente de absorción de NADH a 340nm = 6,3 (1 x mmol⁻¹ x cm⁻¹); **ΔA** = (**A_{S2}**-**A_{S1}**)-(**A_{B2}**-**A_{B1}**), diferencia de absorbancia de blanco y muestras. Así, para lactosa anhidra tenemos:

$$C \text{ (g/L)} = (3.30 \times 342.3) / (6.3 \times 1 \times 0.1 \times 1000) = 1.793 \times \Delta A$$

Subsecuentemente si la muestra fue diluida antes del análisis, multiplicar el resultado por el factor de dilución. En caso general, 2g a 100ml, F = 50. **(27)** (Ver ANEXO 8).

2.2.8.4. Porcentaje de recuperación obtenida en el Método Enzimático:

ΔA Blanco	ΔA Muestra	ΔA Estándar	ΔA Muestra + Estándar
0.017	0.274	0.260	0.150

Tabla 10: Diferencia de absorbancias del Blanco $\Delta A_{\text{Blanco}} = (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$, Resta de la diferencia de absorbancias del blanco (ΔA_{Blanco}) de la diferencia de absorbancias de: Muestra $\Delta A_{\text{Muestra}} = (A_2 - A_1)_{\text{Muestra}} - (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$, Estándar $\Delta A_{\text{Estándar}} = (A_2 - A_1)_{\text{Estándar}} - (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$, y Muestra más estándar $\Delta A_{\text{Muestra + Estándar}} = (A_2 - A_1)_{\text{Muestra+Estándar}} - (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$.

$$\text{Recuperación} = \frac{2 \times \Delta A_{\text{Muestra+Estándar}} - \Delta A_{\text{Muestra}}}{\Delta A_{\text{Estándar}}} \times 100 (\%)$$

$$\text{Recuperación} = \frac{2 \times 0.150 - 0.274}{0.260} \times 100 (\%)$$

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Recuperación = 10%

(Ver ANEXO 8)

Ejemplo:

SEGUNDO LOTE							
Fecha: 11/07/2010							
Peso (g)	Factor	A ₁	A ₂	A ₂ -A ₁	ΔA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (% P/V)
1,9814	50,469	0,073	0,356	0,283	0,266	26,478	2,648

Tabla 11: Peso en gramos, Factor de dilución, Absorbancias (A₁ y A₂) de la muestra, Diferencia de absorbancias de la muestra (A₂-A₁), Resta de la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra [ΔA = (A₂-A₁)_{Muestra}-(A₂-A₁)_{Blanco}], Lactosa desdoblada en gramos/litro, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de la muestra 1 del segundo lote.

	A ₁	A ₂	A ₂ -A ₁
Blanco	0,022	0,039	0,017

Tabla 12: Absorbancias del blanco (A₁ y A₂), Diferencia de absorbancias del blanco (A₂-A₁).

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{Muestra}} - (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$$

$$\Delta A = (0.356 - 0.073) - (0.039 - 0.022)$$

$$\Delta A = (0.283) - (0.017); \Delta A = 0.266$$

$$C \text{ (g/L)} = 1.793 \times \Delta A \times F$$

$$C \text{ (g/L)} = 1.793 \times 0.266 \times 50.469$$

$$C \text{ (g/L)} = 24.070$$

$$\% \text{Recuperación} = 10\%$$

$$\text{Recuperación} = 24.070 \times 0.10 = 2.407$$

$$C \text{ (g/L)} = 24.070 + 2.407 = 26.477$$

$$C \text{ (%P/V)} = 26.477/10 = 2.6477\% \sim 2.648\%$$

NOTA: El análisis de las muestras se realizó por duplicado.

(Ver ANEXO 11)

AUTORAS:

Daniela Juca C.

Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE AZÚCARES EXTRAÑOS MEDIANTE EL MÉTODO DE BAIER Y NEUMANN EN LECHE SEMIDESCREMADA DESTINADA A SER DESLACTOSADA.

	FECHA	Azúcares Extraños
Primer Lote	08/07/2010	Negativo
Segundo Lote	11/07/2010	Negativo
Tercer Lote	06/08/2010	Negativo

Tabla 13. Resultados del ensayo de azúcares extraños realizado en la Leche Semidescremada de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

INTERPRETACIÓN: En la Tabla 13, se puede observar que en los tres lotes de Leche Semidescremada destinada a ser Deslactosada, la prueba cualitativa para investigación de azúcares extraños mediante el Método de Baier y Neumann dio como resultado negativo, permitiendo continuar con el presente estudio, pues la ausencia de azúcares extraños (sacarosa y glucosa) no interferirán en la determinación de lactosa mediante el método de Fehling.

(Ver ANEXO 4)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2. DETERMINACIÓN DEL PUNTO CRIOSCÓPICO INICIAL EN LECHE SEMIDESCREMADA DESTINADA A SER DESLACTOSADA.

	FECHA	Punto Crioscópico °H
Primer Lote	08/07/2010	-0,544
Segundo Lote	11/07/2010	-0,547
Tercer Lote	06/08/2010	-0,530

Tabla 14. Puntos crioscópicos iniciales de la Leche Semidescremada de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

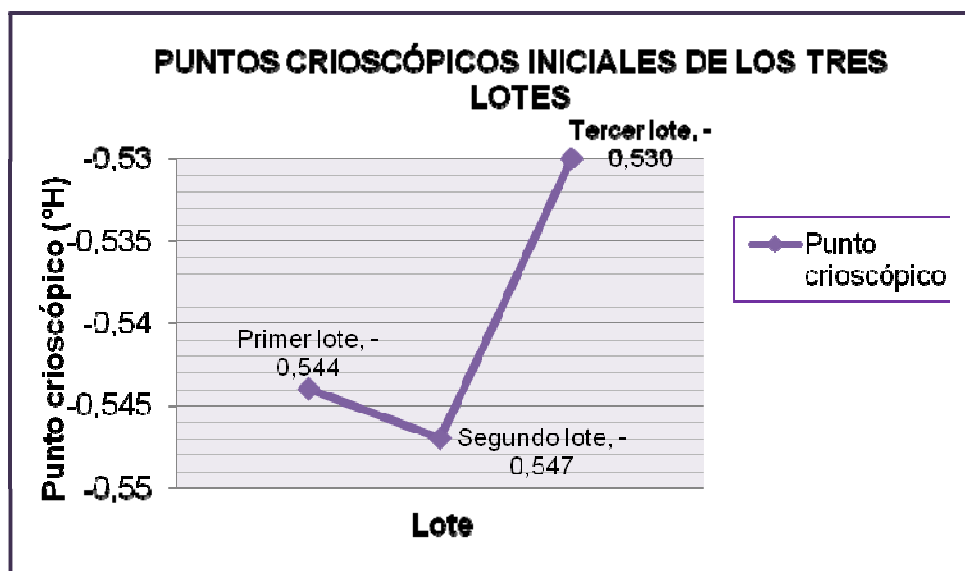


Gráfico 1. Puntos crioscópicos iniciales de la Leche Semidescremada de los tres lotes.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 14).

INTERPRETACIÓN: La Gráfica 1 correspondiente a los datos de la Tabla 14, nos permite observar con mayor claridad que los tres puntos crioscópicos iniciales de la Leche Semidescremada previo al proceso de deslactosado, se encuentran dentro de los valores establecidos por la fábrica. (Rango: -0.530 a -0.560°H)
(Ver ANEXO 4, Ver ANEXO 13)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.3. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LACTOSA EN LECHE SEMIDESCREMADA PARA LA ELABORACIÓN DE LA LECHE DESLACTOSADA POR EL MÉTODO DE FEHLING.

	Fecha	(%P/V) Lactosa hidratada	(%P/V) Lactosa anhidra	Promedio (%P/V)
Primer Lote	08/07/2010	4,775	4,536	4,501
		4,7	4,465	
Segundo Lote	11/07/2010	4,725	4,489	4,512
		4,775	4,536	
Tercer Lote	06/08/2010	4,7	4,465	4,465
		4,7	4,465	

Tabla 15. Porcentajes peso/ volumen de lactosa hidratada, Porcentajes peso/volumen de lactosa anhidra de la Leche Semidescremada de los tres lotes, Promedio de lactosa anhidra en porcentaje peso/ volumen de cada uno de los tres lotes de Leche Semidescremada obtenidos mediante el Método de Fehling. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

INTERPRETACIÓN: En la Tabla 15, se observan los valores promedio de porcentaje peso/volumen de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling de los tres lotes de Leche Semidescremada, los mismos que se encuentran dentro de los valores establecidos en las Normas Sanitarias de Alimentos de la Organización Panamericana de la Salud, OFSANPAN IALUTZ (4.5-5% mínimo 4.3%).

(Ver Anexo 7)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.4. DETERMINACIÓN DEL PUNTO CRIOSCÓPICO DE LA LECHE DESLACTOSADA (PRODUCTO EN PROCESO-TANQUES).

Se realizó una determinación de los Puntos Crioscópicos de la leche en los tanques a diferentes horas luego de la adición de la enzima lactasa obteniéndose los siguientes datos:

ANÁLISIS DE LOS TANQUES					
PRIMER LOTE		SEGUNDO LOTE		TERCER LOTE	
Hora de agregación de la enzima: 08:00 a.m		Hora de agregación de la enzima: 10:00 a.m		Hora de agregación de la enzima: 5:00 a.m	
Hora	Punto Crioscópico °H	Hora	Punto Crioscópico °H	Hora	Punto Crioscópico °H
09:00 a.m	-0,552	11:50 a.m	-0,599	06:00 a.m	-0,579
14:00 p.m	-0,643	14:00 p.m	-0,624	07:00 a.m	-0,584
17:00 p.m	-0,676	17:30 p.m	-0,664	16:30 p.m	-0,680
19:00 p.m	-0,699	04:00 a.m	-0,723	04:30 a.m	-0,731
07:00 a.m	-0,745	-----	-----	-----	-----

Tabla 16: Puntos Crioscópicos de la Leche Deslactosada en proceso (tanques) de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

INTERPRETACIÓN: En la Tabla 16, se observan los Puntos Crioscópicos a diferentes horas de la Leche Semidescremada luego de la adición de la enzima lactasa, los mismos que gradualmente descienden acercándose al Punto Crioscópico óptimo para justificar el fin del proceso de deslactosado establecido por la empresa (máximo -0.720°H) para proceder a su envasado.

(Ver ANEXO 9)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.5. DETERMINACIÓN DEL PUNTO CRIOSCÓPICO FINAL EN LECHE DESLACTOSADA (PRODUCTO TERMINADO).

PRIMER LOTE		SEGUNDO LOTE		TERCER LOTE	
Hora	Punto Crioscópico °H	Hora	Punto Crioscópico °H	Hora	Punto Crioscópico °H
1	-0,745	05:00 a.m	-0,724	05:30 a.m	-0,730
2	-0,745	06:30 a.m	-0,730	07:00 a.m	-0,733
3	-0,745	08:00 a.m	-0,721	08:30 a.m	-0,721
4	-0,745	09:30 a.m	-0,733	10:00 a.m	-0,723
5	-0,745	11:00 a.m	-0,733	12:15 a.m	-0,736
6	-0,745	12:30 p.m	-0,737	14:00 p.m	-0,733
7	-0,745	15:30 p.m	-0,745	15:30 p.m	-0,732
8	-0,745	17:00 p.m	-0,750	16:00 p.m	-0,730

Tabla 17. Puntos Crioscópicos finales de la Leche Deslactosada de los tres lotes.
(Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

INTERPRETACIÓN: En la Tabla 17 se puede observar que los Puntos Crioscópicos finales de la Leche Deslactosada de los tres lotes se encuentran dentro de los valores establecidos por la fábrica. (Rango: máximo -0.720°H)
(Ver ANEXO 10, ANEXO 13)

Nota: Obsérvese que los Puntos Crioscópicos Finales de las ocho muestras del primer lote son iguales, debido a que la Leche Deslactosada se elaboró a nivel del Laboratorio, y por ello no fue posible la determinación de los Puntos Crioscópicos a diferentes intervalos de tiempo.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.6. DETERMINACIÓN DE LACTOSA DESDOBLADA MEDIANTE EL MÉTODO ENZIMÁTICO EN LECHE DESLACTOSADA.

PRIMER LOTE			
MUESTRA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
1	27,038	2,704	2,717
	27,296	2,730	
2	27,851	2,785	2,800
	28,143	2,814	
3	28,468	2,847	2,831
	28,162	2,816	
4	28,511	2,851	2,867
	28,821	2,882	
5	28,752	2,875	2,892
	29,096	2,910	
6	29,599	2,960	2,948
	29,368	2,937	
7	29,853	2,985	3,003
	30,199	3,020	
8	30,610	3,061	3,039
	30,168	3,017	

SEGUNDO LOTE			
HORA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
05:00 a.m	26,478	2,648	2,582
	25,158	2,516	
06:30 a.m	27,370	2,737	2,717
	26,961	2,696	
08:00 a.m	26,223	2,622	2,614
	26,063	2,606	
09:30 a.m	27,031	2,703	2,723
	27,436	2,744	
11:00 a.m	28,014	2,801	2,828
	28,545	2,855	
12:30 p.m	30,526	3,053	3,015
	29,775	2,977	
15:30 p.m	30,248	3,025	2,991
	29,566	2,957	
17:00 p.m	30,564	3,056	3,083
	31,103	3,110	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

TERCER LOTE			
HORA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
05:30 a.m	27,010	2,701	2,718
	27,353	2,735	
07:00 a.m	28,158	2,816	2,836
	28,570	2,857	
08:30 a.m	26,766	2,677	2,646
	26,154	2,615	
10:00 a.m	27,264	2,726	2,712
	26,969	2,697	
12:15 a.m	29,460	2,946	3,008
	30,706	3,071	
14:00 p.m	28,162	2,816	2,785
	27,547	2,755	
15:30 p.m	27,988	2,799	2,815
	28,317	2,832	
16:00 p.m	27,644	2,764	2,762
	27,589	2,759	

Tabla 18. Lactosa desdoblada en gramos/litro, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen, Promedios de lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de las ocho muestras de Leche Deslactosada de cada uno de los tres lotes.

(Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

(Ver ANEXO 11)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

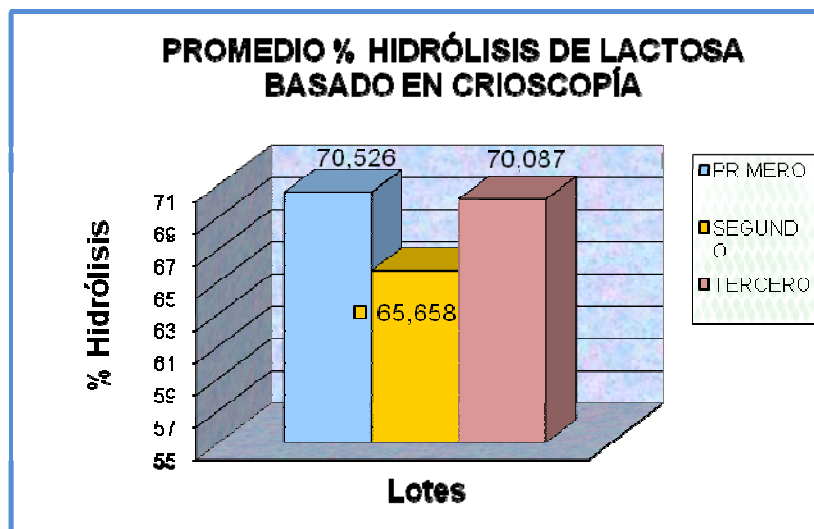
3.7. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA BASADO EN LA CRIOSCOPIA DE LA LECHE DESLACTOSADA.

PRIMER LOTE		SEGUNDO LOTE		TERCER LOTE	
Muestra	%Hidrólisis	Hora	%Hidrólisis	Hora	%Hidrólisis
1	70,526	5:00 a.m	62,105	05:30 a.m	70,175
2	70,526	6:30 a.m	64,210	07:00 a.m	71,227
3	70,526	8:00 a.m	61,052	08:30 a.m	67,017
4	70,526	9:30 a.m	65,263	10:00 a.m	67,719
5	70,526	11:00 a.m	65,263	12:15 a.m	72,280
6	70,526	12:30 p.m	66,666	14:00 p.m	71,227
7	70,526	15:30 p.m	69,473	15:30 p.m	70,877
8	70,526	17:00 p.m	71,227	16:00 p.m	70,175

Tabla 19. Porcentajes de Hidrólisis de lactosa basado en la Crioscopia de la Leche Deslactosada de las ocho muestras de cada uno de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

LOTE	Promedio %Hidrólisis
PRIMERO	70,526
SEGUNDO	65,658
TERCERO	70,087

Tabla 20. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa basado en la Crioscopia de cada uno de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

Gráfico 2. Promedio de los porcentajes de Hidrólisis de lactosa basado en crioscopía de cada uno de los tres lotes.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 20.)

INTERPRETACIÓN: La Gráfica 2 correspondiente a los datos de la Tabla 20, representa el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa basado en la Crioscopía de cada uno de los tres lotes, observándose que el primer y tercer lote muestran un porcentaje de hidrólisis similar, y en lo que se refiere al segundo lote, éste presenta un porcentaje de hidrólisis menor comparado con los anteriores.

(Ver ANEXO 5)

3.8. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA OBTENIDO MEDIANTE EL MÉTODO DE FEHLING Y EL MÉTODO ENZIMÁTICO.

PRIMER LOTE		SEGUNDO LOTE		TERCER LOTE	
Muestra	% Hidrólisis	Hora	% Hidrólisis	Hora	% Hidrólisis
1	60,364	05:00 a.m	57,225	05:30 a.m	60,873
2	62,208	06:30 a.m	60,217	07:00 a.m	63,516
3	62,897	08:00 a.m	57,934	08:30 a.m	59,261
4	63,697	09:30 a.m	60,350	10:00 a.m	60,739
5	64,252	11:00 a.m	62,677	12:15 a.m	67,368
6	65,497	12:30 p.m	66,822	14:00 p.m	62,374
7	66,719	15:30 p.m	66,290	15:30 p.m	63,046
8	67,518	17:00 p.m	68,329	16:00 p.m	61,859

Tabla 21. Porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de las ocho muestras de cada uno de los tres lotes de Leche Deslactosada. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

LOTE	Promedio %Hidrólisis
PRIMERO	64,144
SEGUNDO	62,481
TERCERO	62,380

Tabla 22. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de las ocho muestras de cada uno de los tres lotes de Leche Deslactosada.

(Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

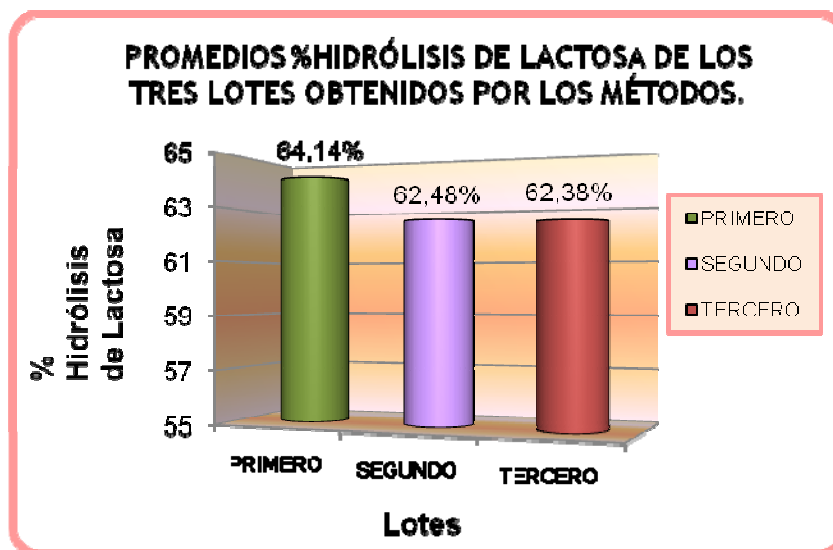


Gráfico 3. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por el Método de Fehling y el Método Enzimático de cada uno de los tres lotes.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 22)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 3 correspondiente a los datos de la Tabla 22, se observan que los promedios de los porcentajes de hidrólisis de lactosa de los tres lotes obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático son similares entre sí.

(Ver ANEXO 12)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.9. PORCENTAJES DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA OBTENIDOS MEDIANTE FÓRMULA BASADA EN LA CRIOSCOPIA Y MEDIANTE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS REALIZADOS DE CADA UNO DE LOS TRES LOTES.

PRIMER LOTE		
Fecha: 08/07/2010		
	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
1	70,526	60,364
2	70,526	62,208
3	70,526	62,897
4	70,526	63,697
5	70,526	64,252
6	70,526	65,497
7	70,526	66,719
8	70,526	67,518

Tabla 23. Porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopia y porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante Métodos de Fehling y Enzimático de las ocho muestras del primer lote. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

Nota: Obsérvese que los Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa de las ocho muestras del primer lote obtenidos por la fórmula basada en la Crioscopia son iguales, debido a que la Leche Deslactosada se realizó a nivel del Laboratorio, y por ello no fue posible la determinación de los Puntos Crioscópicos Finales a diferentes intervalos de tiempo.

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
Promedio	70,526	64,144

Tabla 24: Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa obtenidos por la fórmula y por los Métodos de Fehling y Enzimático del primer lote.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

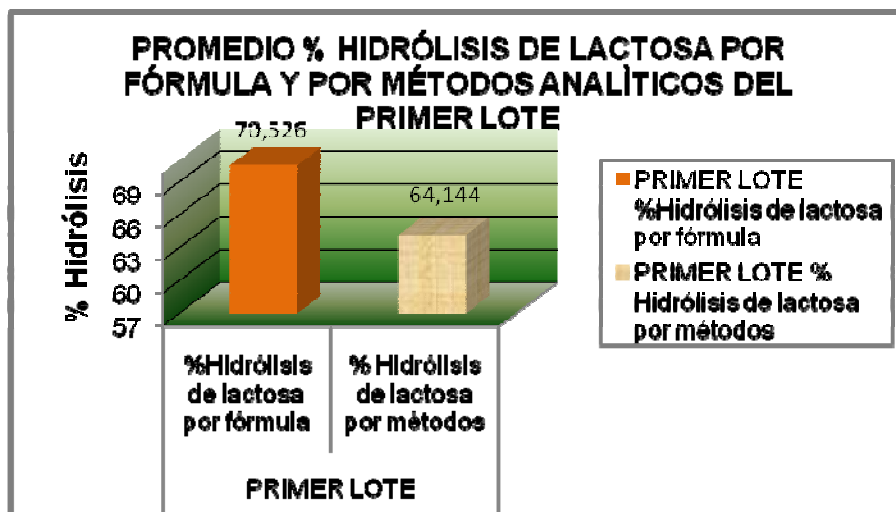


Gráfico 4. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del primer lote. (Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 24)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 4 correspondiente a los datos de la Tabla 24, se puede observar que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa de las ocho muestras del primer lote determinados por la fórmula basada en la Crioscopía es mayor que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por los métodos analíticos efectuados.

SEGUNDO LOTE		
Fecha: 11/07/2010		
	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
05:00 a.m	62,105	57,225
06:30 a.m	64,210	60,217
08:00 a.m	61,052	57,934
09:30 a.m	65,263	60,350
11:00 a.m	65,263	62,677
12:30 p.m	66,666	66,822
15:30 p.m	69,473	66,290
17:00 p.m	71,228	68,329

Tabla 25. Porcentajes de hidrólisis lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y Porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de las ocho muestras del segundo lote. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
Promedio	65,658	62,481

Tabla 26. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa obtenidos por la fórmula y por los Métodos de Fehling y Enzimático del segundo lote. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

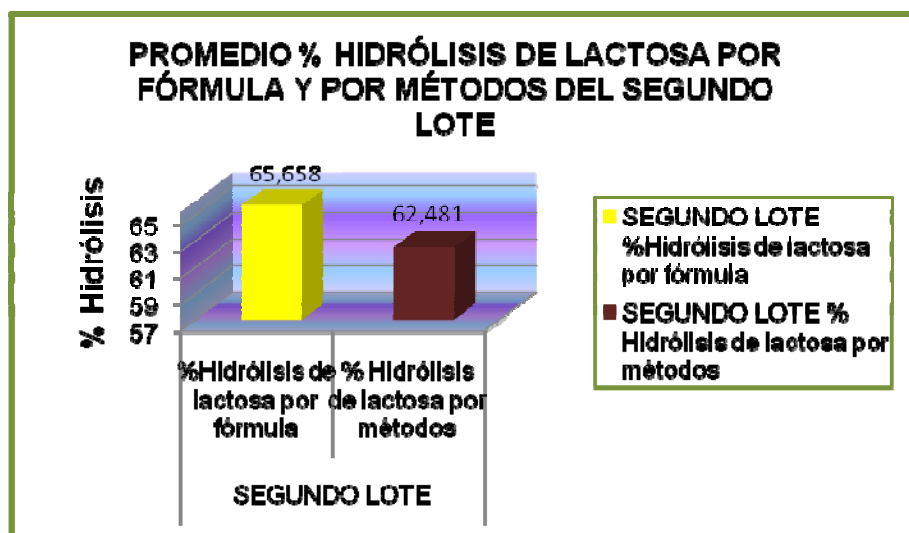


Gráfico 5. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del segundo lote. (Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 26)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 5 correspondiente a los datos de la Tabla 26, se puede observar que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa de las ocho muestras del segundo lote determinados mediante la fórmula basada en la Crioscopía es mayor que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por los métodos analíticos efectuados.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



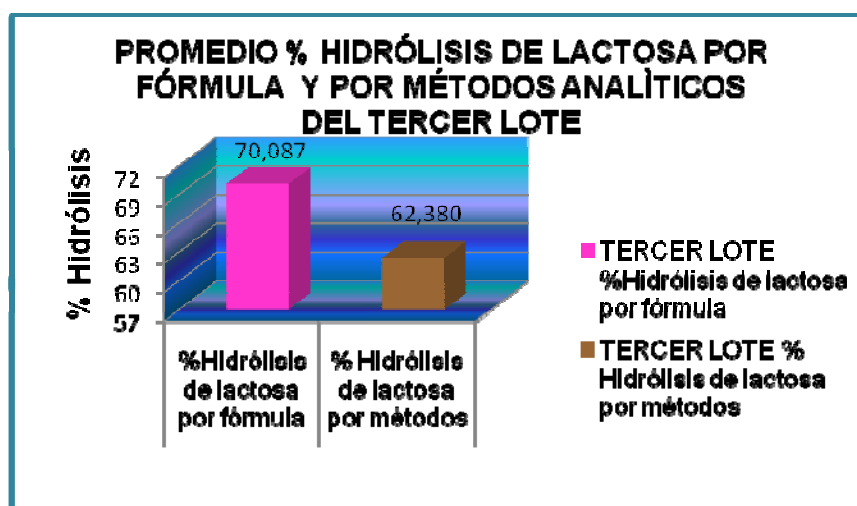
UNIVERSIDAD DE CUENCA

TERCER LOTE		
Fecha: 06/08/2010		
	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
05:30 a.m	70,175	60,873
07:00 a.m	71,227	63,516
08:30 a.m	67,017	59,261
10:00 a.m	67,719	60,739
12:15 a.m	72,280	67,368
14:00 p.m	71,227	62,374
15:30 p.m	70,877	63,046
16:00 p.m	70,175	61,859

Tabla 27. Porcentajes de hidrólisis lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de las ocho muestras del tercer lote. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
Promedio	70,087	62,380

Tabla 28. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de Lactosa obtenidos por la fórmula basada en la Crioscopía y por los Métodos de Fehling y Enzimático del tercer lote. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Gráfico 6. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopia y por los Métodos de Fehling y Enzimático del tercer lote.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 28)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 6 correspondiente a los datos de la Tabla 28, se puede observar que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa de las ocho muestras del tercer lote determinados mediante la fórmula basada en la crioscopia es mayor que el promedio de los porcentajes de hidrólisis obtenidos por los métodos analíticos efectuados.

LOTE	Promedio %Hidrólisis de Lactosa por fórmula	Promedio % Hidrólisis de Lactosa por métodos analíticos efectuados
PRIMER LOTE A NIVEL DE LABORATORIO	70,526	64,144
SEGUNDO Y TERCER LOTE DE PRODUCCIÓN	67,872	62,430

Tabla 29. Promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa determinados por fórmula basada en la Crioscopia del primer lote realizado a nivel de laboratorio y del segundo y tercer lote de la producción de la empresa, Promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos por métodos analíticos efectuados del primer lote realizado a nivel de laboratorio y del segundo y tercer lote de la producción de la empresa.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

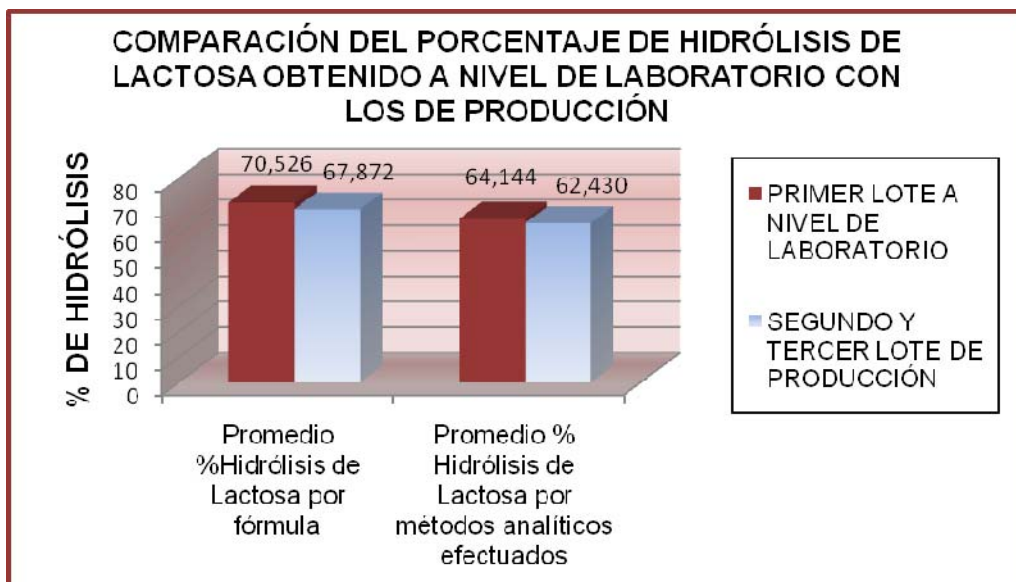


Gráfico 7. Comparación del promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa determinados por fórmula basada en la Crioscopía del primer lote realizado a nivel de laboratorio con el promedio del segundo y tercer lote obtenidos de la producción de la empresa y comparación del promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa determinados por métodos analíticos efectuados del primer lote realizado a nivel de laboratorio con el Promedio del segundo y tercer lote obtenidos de la producción de la empresa.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 29)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 7 correspondiente a los datos de la Tabla 29, se puede observar que el promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos por fórmula basada en la Crioscopía del primer lote realizado a nivel de laboratorio es semejante al promedio obtenido del segundo y tercer lote, los mismos que corresponde a la producción de la empresa. De igual forma se observa una semejanza entre el promedio de los porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos mediante los métodos analíticos efectuados del primer lote realizado a nivel de laboratorio con el promedio del segundo y tercer lote. De esta manera se puede concluir que no hubo una influencia significativa en los resultados al trabajar con muestras elaboradas a nivel de laboratorio en comparación con las obtenidas de la producción de la empresa, pues se siguieron las mismas condiciones para su elaboración.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
1	70,526	60,364
2	70,526	62,208
3	70,526	62,897
4	70,526	63,697
5	70,526	64,252
6	70,526	65,497
7	70,526	66,719
8	70,526	67,518
05:00 a.m	62,105	57,225
06:30 a.m	64,210	60,217
08:00 a.m	61,052	57,934
09:30 a.m	65,263	60,350
11:00 a.m	65,263	62,677
12:30 p.m	66,666	66,822
15:30 p.m	69,473	66,290
17:00 p.m	71,228	68,329
05:30 a.m	70,175	60,873
07:00 a.m	71,227	63,516
08:30 a.m	67,017	59,261
10:00 a.m	67,719	60,739
12:15 a.m	72,280	67,368
14:00 p.m	71,227	62,374
15:30 p.m	70,877	63,046
16:00 p.m	70,175	61,859

Tabla 30. Porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

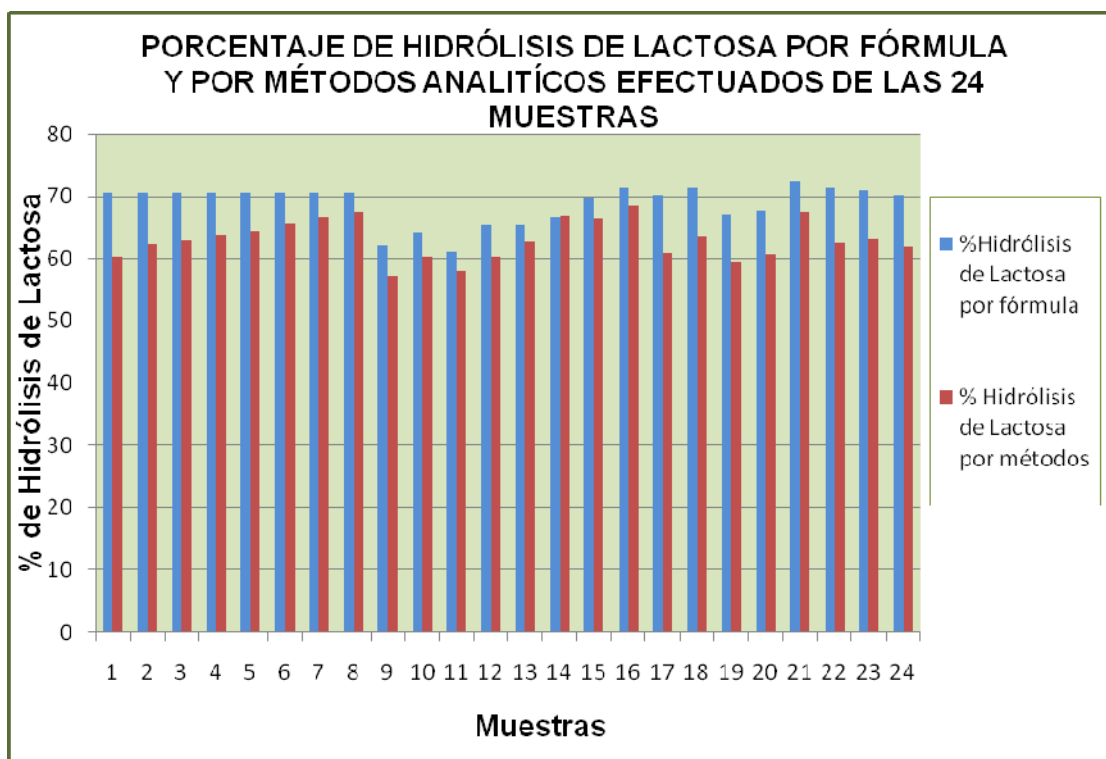


Gráfico 8. Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos por fórmula basada en la Crioscopia y por los Métodos de Fehling y Enzimático de las veinte y cuatro muestras de los tres lotes.

(Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 30)

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 8 correspondiente a los datos de la Tabla 30, se observa de una manera clara que los porcentajes de hidrólisis de lactosa de cada una de las 24 muestras determinados mediante la fórmula basada en la crioscopia son mayores a los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por los Métodos de Fehling y Enzimático.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

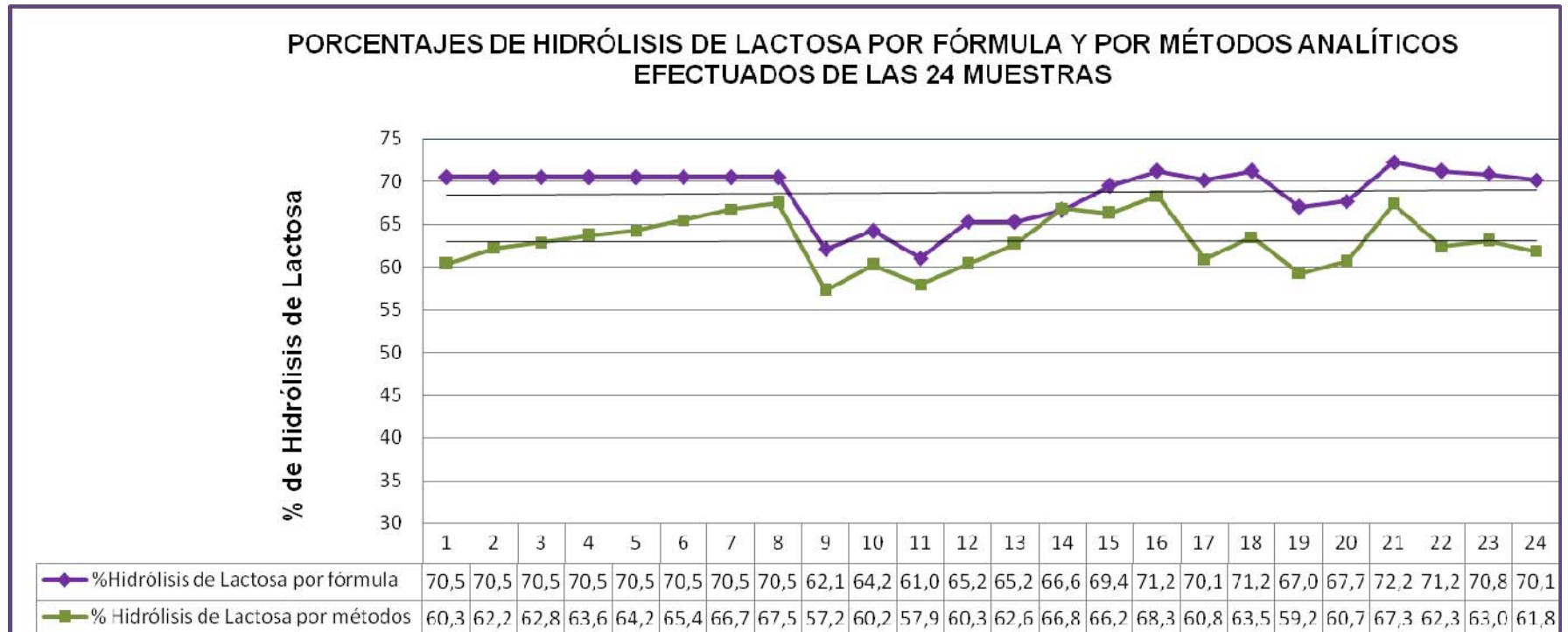


Gráfico 9. Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos por fórmula basada en la Crioscopia y por los Métodos de Fehling y Enzimático de las veinte y cuatro muestras de los tres lotes.

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 9 se observa que al comparar los dos métodos (Fórmula basada en Crioscopia y Método de Fehling-Enzimático) la tendencia de variación del porcentaje de hidrólisis de lactosa es semejante. Además se puede observar notoriamente que los valores obtenidos del porcentaje de hidrólisis de lactosa mediante la fórmula basada en la crioscopia de las veinte y cuatro muestras son mayores a los valores obtenidos mediante los métodos de Fehling y Enzimático.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
Promedio	68,757	63,001

Tabla 31: Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopia y de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez)

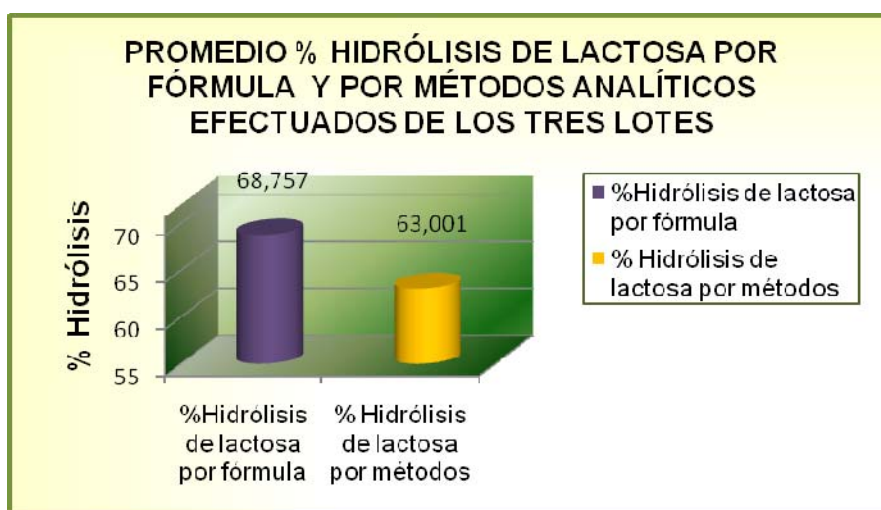


Gráfico 10. Promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por fórmula basada en la Crioscopia y de los obtenidos por el Método de Fehling y el Método Enzimático de los tres lotes. (Gráfico realizado por: Daniela Juca y Patricia Pérez. Fuente: Tabla 31).

INTERPRETACIÓN: En el Gráfico 10 correspondiente a los datos de la Tabla 31, se puede observar que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa de los tres lotes determinados mediante la fórmula basada en la Crioscopia es mayor que el promedio de los porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos por los métodos analíticos efectuados.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Para realizar el análisis estadístico de este estudio, se empleó el programa de Microsoft Office Excel 2007, con la herramienta de Análisis de Datos.

Dicha herramienta se utilizó para llevar a cabo una Estadística Descriptiva y una Prueba t de Student.

Estadística Descriptiva: Con esta herramienta fue posible generar un informe estadístico de cada conjunto de datos (Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa obtenidos por fórmula basada en Crioscopía y Porcentajes de Hidrólisis de Lactosa determinados mediante los métodos analíticos efectuados) proporcionando información acerca de la tendencia central y dispersión de los datos.

Prueba t de Student: Esta prueba se utilizó porque es necesario la comparación de dos conjuntos de medidas y decidir si son o no diferentes. Específicamente se empleó esta prueba porque según algunos criterios de elección existentes en algunas referencias bibliográficas, esta prueba se utiliza cuando el tamaño de la muestra es menor o igual a 30, caso contrario se emplearía el análisis Z.

En este estudio se empleó el contraste t para datos emparejados debido a que a cada muestra se analizó con los dos métodos a compararse y además porque este contraste permite separar la variación debida al método de la que resulta de la variación entre las muestras.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	%Hidrólisis de lactosa por fórmula	% Hidrólisis de lactosa por métodos analíticos efectuados
1	70,526	60,364
2	70,526	62,208
3	70,526	62,897
4	70,526	63,697
5	70,526	64,252
6	70,526	65,497
7	70,526	66,719
8	70,526	67,518
05:00 a.m	62,105	57,225
06:30 a.m	64,210	60,217
08:00 a.m	61,052	57,934
09:30 a.m	65,263	60,350
11:00 a.m	65,263	62,677
12:30 p.m	66,666	66,822
15:30 p.m	69,473	66,290
17:00 p.m	71,228	68,329
05:30 a.m	70,175	60,873
07:00 a.m	71,227	63,516
08:30 a.m	67,017	59,261
10:00 a.m	67,719	60,739
12:15 a.m	72,280	67,368
14:00 p.m	71,227	62,374
15:30 p.m	70,877	63,046
16:00 p.m	70,175	61,859

Tabla 32. Porcentajes de hidrólisis de lactosa determinados por fórmula basada en Crioscopía y porcentajes de hidrólisis de lactosa obtenidos mediante el Método de Fehling y el Método Enzimático de las muestras de los tres lotes. (Tabla realizada por: Daniela Juca y Patricia Pérez).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Porcentaje de Hidrólisis de Lactosa por fórmula	
Media	68,757
Error típico	0,634
Mediana	70,526
Moda	70,526
Desviación estándar	3,107
Varianza de la muestra	9,651
Rango	11,228
Mínimo	61,052
Máximo	72,280
Suma	1650,165
Cuenta	24,000
Nivel de confianza (95,0%)	1,312

Porcentaje de Hidrólisis de Lactosa por métodos analíticos efectuados	
Media	63,001
Error típico	0,635
Mediana	62,787
Moda	#N/A
Desviación estándar	3,110
Varianza de la muestra	9,673
Rango	11,104
Mínimo	57,225
Máximo	68,329
Suma	1512,034
Cuenta	24,000
Nivel de confianza (95,0%)	1,313

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

PRUEBA t DE STUDENT

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
	%Hidrólisis de Lactosa por fórmula	% Hidrólisis de Lactosa por métodos analíticos efectuados
Media	68,757	63,001
Varianza	9,651	9,673
Observaciones	24	24
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	23	
Estadístico t	10,786	
P(T<=t) dos colas	1,80E-10	
Valor crítico de t (dos colas)	2,069	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA t DE STUDENT

HIPOTESIS:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_A: \mu_1 \neq \mu_2$$

H_0 : Hipótesis Nula.

H_A : Hipótesis Alternativa.

H_0 : Método para determinar el Porcentaje de Hidrólisis de Lactosa basado en la Crioscopia **NO** tiene diferencias estadísticamente significativas con los Métodos Fehling - Enzimático.

H_A : Método para determinar el Porcentaje de Hidrólisis de Lactosa basado en la Crioscopia tiene diferencias estadísticamente significativas con los Métodos Fehling - Enzimático.

REGLA DE DECISIÓN:

Si t estadístico es menor al t crítico no se rechaza la hipótesis nula (H_0)

Si t estadístico es mayor al t crítico se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa. (H_A)

t estadístico

10,786

t crítico

2,069

En este estudio:

t estadístico $>$ t crítico

10,786 $>$ 2,069

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_A). Hay diferencia estadísticamente significativa entre el Método para determinar el Porcentaje de Hidrólisis de Lactosa basado en la Crioscopia con los Métodos Fehling - Enzimático.

AUTORAS:

Daniela Juca C.

Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación se concluye lo siguiente:

- El porcentaje promedio de hidrólisis de lactosa de la Leche Deslactosada Ultrapasteurizada Larga Vida de la Empresa de Lácteos “SAN ANTONIO” C.A, obtenido mediante la fórmula basada en la Crioscopía aplicada en la empresa es de 68,757%, el mismo que es mayor al porcentaje promedio de hidrólisis de lactosa 63,001% obtenido por el Método de Fehling y el Método Enzimático.
- El Método basado en la fórmula proporcionada a la empresa por el proveedor SAUMUR, que relaciona el porcentaje de hidrólisis de lactosa con el punto Crioscópico aplicado actualmente en la empresa presenta diferencia estadísticamente significativa comparado con los resultados obtenidos mediante Métodos establecidos por Normas Internacionales (Método de Fehling - Norma Venezolana COVENIN/ Método Enzimático – Norma AOAC).
- El valor promedio de lactosa presente en la Leche Deslactosada obtenido mediante los métodos de Fehling y Enzimático es de 1.662% (P/V) (ver ANEXO 12), el mismo que sobrepasa el valor requisito establecido por la Norma INEN 701 (Leche Larga Vida. Requisitos), en el cual se señala que para una leche parcialmente deslactosada el valor de lactosa debe ser máximo de 1.4% (P/V).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RECOMENDACIONES

Al concluir este trabajo, se pone a consideración las siguientes recomendaciones:

- Realizar estudios más profundos acerca de la relación que existe entre el porcentaje de hidrólisis de lactosa y el Punto Crioscópico, para de esta manera poder controlar de forma accesible y rápida el proceso de elaboración de la Leche Deslactosada Ultrapasteurizada Larga Vida.
- Calibrar el equipo disponible (Lactoscan) en la empresa para la determinación de lactosa en Leche Semidescremada de una manera alternativa al Método de Fehling de la Norma COVENIN y continuar con la aplicación del Método Enzimático para la determinación de Lactosa desdoblada en Leche Deslactosada, y así poder establecer la Lactosa presente en la Leche Deslactosada y el porcentaje de Hidrólisis de Lactosa.
- Efectuar estudios que relacionen la dosificación de la enzima, el tiempo de contacto y la temperatura con el porcentaje de hidrólisis de lactosa. Teniendo en cuenta que al no poder aumentar la temperatura por condiciones de control de calidad de la leche se podría considerar aumentar el tiempo de contacto con la enzima y/o la dosificación de la misma, mediante los estudios respectivos.
- Se cree conveniente que la homogeneización durante el proceso de desdoblamiento es muy importante para garantizar una adecuada mezcla de la enzima con la leche, pues la cantidad de enzima agregada a numerosos litros de leche es mínima.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

BIBLIOGRAFÍA

- (1) RAMOS, Mario, Leche, Su producción Higiénica y Control Sanitario, Segunda Edición, México 1969, Introducción, Importancia de la leche como alimento, Página 1.
- (2) BADUI, Salvador, Química de los Alimentos, Editorial Longman, México, 1999. Capítulo 12, Leche, Página 581.
- (3) Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos.
- (5) NORMA TECNICA ECUATORIANA NTE INEN 9. "Leche Cruda. Requisitos" Tercera Revisión.1999-10-08.
- (6) ORDOÑEZ, Juan, CAMBERO, María, FERNÁNDEZ, Leonides, GARCÍA, María, GARCÍA, Gonzalo, DE LA HOZ, Lorenzo, SELGAS, María, Tecnología de los Alimentos, Volumen II, Alimentos de Origen Animal, Editorial Síntesis S.A, Madrid, España, 1998, Capítulo I, Características Generales de la Leche y Componentes Fundamentales, Página 16.
- (7) PASCUAL ANDERSON, María del Rosario, CALDERÓN, Vicente, Microbiología Alimentaria, Metodología Analítica para alimentos y bebidas, Segunda Edición, Editorial Díaz de Santos S.A, Madrid- España, Capítulo 28, Leche y derivados, Página 281.
- (8) GODED MUR, Antonio, Técnicas modernas aplicadas al análisis de la leche, Editorial DOSSAT, S.A, Primera edición, Madrid, España 1966.
- (9) VEISSEYRE, Roger, Lactología Técnica, Editorial Acribia, Segunda Edición, España, 1980, Capítulo I, Caracteres, Composición y Estructura de la Leche, Páginas 1-45.
- (10) SALINAS, Rolando, Alimentos y Nutrición, Editorial El Ateneo, Tercera Edición, Buenos Aires, Argentina, 2000, Capítulo 2, Leche, Página 15.
- (11) ALAIS, Charles, Ciencia de la leche, Editorial Continental, México, 1998, Capítulo 8, Componentes de actividad biológica, Páginas 168-169.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- (12) NORMA TECNICA ECUATORIANA NTE INEN 010. "Conocimientos Básicos sobre la Leche". Quito-Ecuador. 1983.
- (16) BEERS, Mark, Manual Merck, Editorial Océano, Barcelona, España, 2000, Capitulo 155, Minerales y Electrolitos, Páginas 1078-1088.
- (21) Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería de FAO para América Latina, Técnicas para Laboratorio, Bromatología en Leche, Métodos de Análisis Químicos.
- (24) Lácteos "SAN ANTONIO". C.A. Cuenca- Ecuador, Ing. Juan Carlos Romero. Jefe del Departamento de Control de Calidad de la Empresa. Enzima Saumur. Foodzyme® Yeast Lactase 50.
- (25) WINTON, Andrew y WINTON, Kate Barber, Análisis de Alimentos, Editorial Continental, Primera Edición, Estados Unidos, 1957, Parte II, Capítulo G: Productos de Lechería, Páginas 936-937.
- (26) Norma venezolana COVENIN 3219:1996. Leche. Determinación de azúcares. Método de Fehling. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/3219-96.pdf>. (26-Marzo-2010).
- (27) Métodos Oficiales de Análisis de AOAC Internacional, 16th Edición, Virginia-Estados Unidos, 1995, Volumen II, Capítulo 33, Página 17.
- (28) Normas Sanitarias de Alimentos, Organización Panamericana de la Salud, Tomo I, Diciembre de 1967, OFSANPAN IALUTZ, Página 222-226.

Páginas WEB:

- (4) <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/leche%202.htm> (12-May-2010).
Título del artículo: Alimentación sana, Las propiedades de la leche.
- (13) <http://www.laserenisima.com.ar/download/pdf/010.pdf> (12-Mayo-2010).
Título del artículo: El Valor Nutricional de la Leche, Delgado H, Mejía L, Congreso Latinoamericano de Nutrición, Venezuela.
- (14) http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000002pr.htm (12-Mayo-2010).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Título del artículo: Composición de la leche y valor nutritivo, Agrobot.com, Villa María, Córdoba – Argentina.

- (15) <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/leche%202.htm> (12-Mayo-2010).

Título del artículo: Alimentación sana, Las propiedades de la leche.

- (17) http://www.abcdietas.com/articulos/dietoterapia/intolerancia_lactosa.html (18-Mayo-2010).

Título del artículo: Intolerancia a la lactosa, ABC Dietas, Ana González, Román Ferrer, Diplomada en Nutrición humana y dietética por la Universidad de Barcelona.

- (18) <http://www.intestino.cl/intolerancia-lactosa.htm> (18-Mayo-2010).

Título del artículo: Intolerancia a la Lactosa, Drs. Juan Fco. Miquel & Manuel Álvarez L, Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

- (19) http://www.umm.edu/esp_ency/article/000276trt.htm (18-Mayo-2010).

Título del artículo: Intolerancia a la lactosa-Tratamiento, Christian Stone Universidad de Maryland. Medical Center.

- (20) http://www.socgastro.cl/imagenes/vol18_2/9-Alliende.pdf (18-May-2010)

Título del artículo: Intolerancia a la lactosa y otros disacáridos, Francisco Alliende G, Sociedad Chilena de Gastroenterología.

(22)

http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/Alimentosricosenproteinas_8076.pdf (20-Mayo-2010).

Título del artículo: Análisis de la Leche y Productos Lácteos, Francisca Aida Iturbe Chiñas, Departamento de Alimentos y Biotecnología, UNAM.

(23)

http://books.google.com.ec/books?id=pZLbomndQPkC&pg=PA366&lpg=PA366&dq=La+adici%C3%B3n+de+agua+a+la+leche+altera+su+punto+de+congelaci%C3%B3n&source=bl&ots=4YT9rLYdWB&sig=wfhcrJuthL3r_dNNdHhZLj_IQMA&hl=es&ei=8WKjT17bKsOAIaE_Vn_DbBQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBQQ6AEwAA#v=onepage&q=La%20adici%C3%B3n%2

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Ode%20agua%20a%20la%20leche%20altera%20su%20punto%20de%20con
gelaci%C3%B3n&f=false(18-Mayo-2010).

Título del artículo: Calidad de la leche y algunos problemas de adulteración,
Dinámica del sistema lechero mexicano en el marco regional y global, Estela
Martínez Borrego, Universidad Autónoma Metropolitana de México.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

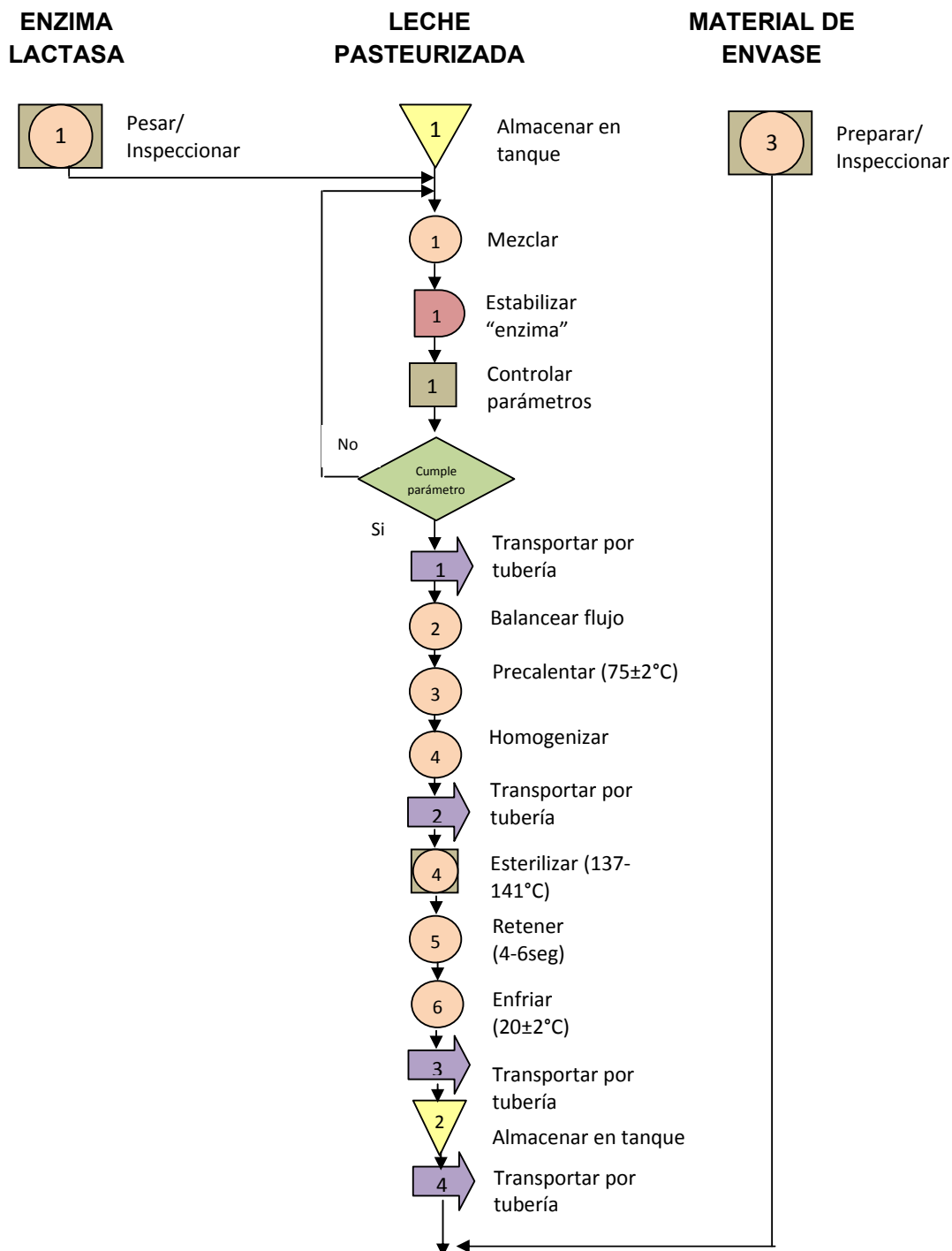


UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 1

LÁCTEOS “SAN ANTONIO” C.A

FLUJOGRAMA DE ELABORACIÓN DE LA LECHE DESLACTOSADA

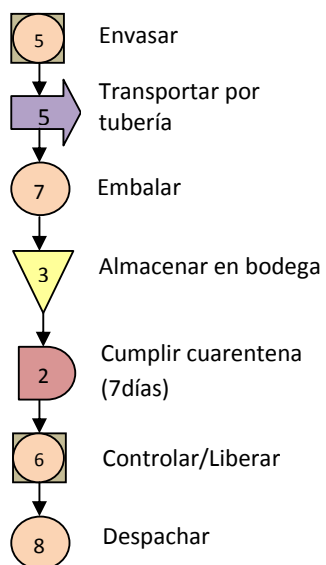


AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Operación	Inspección	Operación/ Inspección	Transporte	Almacenaje	Demora



UNIVERSIDAD DE CUENCA

**Ilustración: Proceso de Elaboración de la Leche Deslactosada UHT en la
Empresa Lácteos “SAN ANTONIO” C.A.**



- a. Recepción de leche.
- b. Tanque de Balance.
- c. Centrífuga.
- d. Pasteurizador.
- e. Tanque de almacenamiento.
- f. Envasado.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 2

INEN

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

QUITO-ECUADOR

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 701:2009

Segunda Revisión

Leche Larga Vida. REQUISITOS
Primera Edición.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Descriptores: Tecnología de los Alimentos, leche y productos lácteos procesados.
Leche Larga Vida. Requisitos.

Leche larga vida-Requisitos

NTE INEN 701-2009

Segunda Revisión 2009-03

1. Objeto

- 1.1. Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche de vaca que ha sido sometida a los tratamientos térmicos de esterilización o UHT (temperatura ultra elevada).

2. Definiciones

- 2.1. Para los efectos de esta norma se aplica las siguientes:

2.1.1. Tratamiento UHT: Procedimiento mediante el cual se somete la leche a elevada temperatura durante corto tiempo con el objeto de elaborar un producto comercialmente estéril que puede ser almacenado a temperatura ambiente.

El tratamiento UHT es de flujo continuo, seguido de un llenado aséptico en envases esterilizados y cerrados herméticamente.

2.1.2. Tratamiento de esterilización: Procedimiento mediante el cual se somete la leche a elevada temperatura durante corto tiempo con el objeto de elaborar un producto comercialmente estéril que puede ser almacenado a temperatura ambiente. La esterilización es un procedimiento térmico que se aplica dentro del envase herméticamente cerrado o por lotes.

2.1.3. Envase cerrado herméticamente: Recipiente así concebido que impide la entrada de microorganismos.

2.1.4. Tratamiento de estabilización térmica: Tratamiento térmico que se aplica a la leche cruda con el objeto de reducir el número de microorganismos presentes y permitir un almacenamiento más prolongado antes de someterla a elaboración ulterior.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.1.5. Leche modificada larga vida: Leche que ha sido reducida total o parcialmente de alguno de sus componentes naturales o modificada en cualquiera de sus elementos constitutivos, sometida posteriormente a los procesos de esterilización o UHT.

2.1.6. Leche comercialmente estéril: Producto en el que no debe haber microorganismos viables que puedan contaminarlo.

3. Clasificación.

3.1. Dependiendo de su contenido de grasa, la leche larga vida se clasifica:

- Entera
- Semidescremada
- Descremada

3.2. Por su proceso, en.

- UHT
- Esterilizada

4. Disposiciones generales.

4.1. La leche cruda destinada a la elaboración de leche larga vida deberá cumplir con lo establecido en la NTE INEN 9.

4.2. La leche cruda destinada a los procesos de esterilización o UHT, debe ser homogeneizada.

4.3. La leche cruda destinada a los procesos de esterilización o UHT, puede ser sometida a un tratamiento de estabilización térmica antes de la esterilización, siempre que la leche después de tratada, presente estabilidad proteica a la prueba del alcohol etílico al 75% (V/V).

4.4. La leche cruda destinada a leche de larga vida debe ser procesada en el menor tiempo posible a partir del ordeño y de acuerdo a las buenas prácticas de fabricación.

4.5. La leche larga vida podrá contener estabilizantes permitidos, según lo especificado en la NTE INEN 2074, en dosis de conformidad con las BPF.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

5. Requisitos

5.1. Específicos.

5.1.1. La vida útil de la leche larga vida dependerá del proceso tecnológico utilizado en su fabricación, no siendo inferior a 30 días a temperatura ambiente.

5.1.2. Cumplida la fecha de caducidad fijada por el fabricante, la leche larga vida se considera no apta para la venta como tal, debiendo ser retirada de los lugares de expendio.

5.1.3. El olor, color y sabor, deben ser característicos del producto, aceptándose variaciones no significativas debido al proceso.

5.1.4. No debe contener sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal, colorantes) y neutralizantes, en cantidades que superen los límites indicados en la Tabla 1.

5.2. Nutricionales.

5.2.1. La leche larga vida debe presentar cualidades nutricionales similares a las de la leche cruda, aceptándose variaciones no significativas debido al proceso.

5.2.2. El contenido de los nutrientes naturales, así como de los adicionales, debe regirse para su declaración en la Norma NTE INEN 1334-2.

5.3. Físico-Químicos.

5.3.1. La leche larga vida de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, debe cumplir con las especificaciones que se indican en la Tabla 1.

5.4. Microbiológicos.

5.4.1. La leche larga vida durante su período de vida útil, debe cumplir con lo especificado en la NTE INEN 2335.

5.5. Requisitos Complementarios.

5.5.1. Envasado. La leche larga vida debe ser envasada en recipientes de material aprobado por la autoridad sanitaria competente, que cumplan con los

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

requisitos de hermeticidad, baja permeabilidad al oxígeno, opacidad a la luz e impermeabilidad a los olores.

5.5.2. Embalaje. Los embalajes y materiales para embalaje deben cumplir con los requisitos NTE INEN correspondientes.

5.5.3. Almacenamiento, transporte, distribución y expendio de la leche larga vida debe realizarse en el envase original y sin necesidad de refrigeración.

6. Inspección.

6.1. Muestreo: Debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4.

6.2. Criterios de aceptación y rechazo.

Defectos críticos: Corresponde al no cumplimiento de los requisitos específicos, así como a la presencia de sustancias contaminantes, con el consiguiente rechazo del lote. Para el caso de discrepancia, se debe repetir los ensayos sobre la muestra reservada para este efecto. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, es motivo para rechazar el lote.

7. Rotulado

7.1. Los envases deben llevar declaraciones de impresión permanente, con caracteres legibles a simple vista e indelebles bajo condiciones de uso normal, en idioma español y opcionalmente en otros idiomas. No puede utilizarse para el efecto ningún tipo de adhesivos.

7.2. La etiqueta debe cumplir con lo especificado en la NTE INEN 1334-1, NTE INEN 1334-2 y adicionalmente con la siguiente información:

- 1)** Fecha de caducidad.
- 2)** El nombre del producto según la siguiente declaración: “Leche larga vida” y dependiendo de su contenido de grasa, “entera, semidescremada o descremada”.
- 3)** Cualquiera de las denominaciones anteriores, seguida del tratamiento térmico aplicado, ejemplo: esterilizada o UHT.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

7.3. La etiqueta no debe contener ninguna leyenda de significado ambiguo, ilustraciones que induzcan a confusión o engaño al consumidor, ni descripciones de características del producto que ni se puedan comprobar.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 1. Requisitos físicos y químicos de la leche esterilizada larga vida.

REQUISITOS	UNIDAD	ENTERA		SEMIDESCREMADA		DESCREMADA		NORMA INEN
		Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	
Densidad Relativa a 20°C	-	1,028	1,031	1,029	1,032	1,030	1,033	NTE INEN 11
a 15°C	-	1,029	1,032	1,030	1,033	1,033	1,034	
Acidez titulable (NaOH 0,1N) expresado como ácido láctico	% (m/v)	0,13**	0,16	0,14	0,17	0,14	0,17	NTE INEN 13
Contenido de grasa	% (m/m)	3,0	-	≥1,0	<3	-	<1,0	NTE INEN 12
Sólidos totales	% (m/m)	11,30	-	9,20	-	8,30	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (m/m)	8,30	-	8,20	-	8,20	-	*
Cenizas	% (m/m)	0,65	0,80	0,70	0,80	0,70	0,80	NTE INEN 14
Proteína	% (m/m)	2,90	-	2,90	-	2,90	-	NTE INEN 16
Punto de congelación (crioscópico) ***	° C	-0,540	-0,512	-0,540	-0,512	-0,540	-0,512	NTE INEN 15
	° H	-0,560	-0,530	-0,560	-0,530	-0,560	-0,530	
pH a 20°C	-	6,4	6,8	6,4	6,8	6,4	6,8	--
Presencia de conservantes 1)	-	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes 2)	-	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes 3)	-	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Grasa vegetal	-	Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 1500
Suero de leche		Negativo		Negativo		Negativo		NTE INEN 2401
Cuando el producto haya sido reducido en su contenido de lactosa.								
Lactosa en el producto parcialmente deslactosado	% (m/v)	-	1,4	-	1,4	-	1,4	AOAC 984.15 15Edc. Vol2
Lactosa en el producto bajo en lactosa	% (m/v)	-	0,7	-	0,7	-	0,7	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 1) Conservantes: Formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas y dióxido de cloro.
- 2) Neutralizantes: Orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.
- 3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes.

*Por diferencia entre sólidos totales y sólidos grasos.

** Prueba de identificación de neutralizantes, NTE INEN 1500.

*** $^{\circ}\text{C} = ^{\circ}\text{H} \times f$, donde $f = 0.965$.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 3

FICHA TÉCNICA DE LA ENZIMA LACTASA UTILIZADA EN LA EMPRESA LÁCTEOS “SAN ANTONIO” EN LA ELABORACIÓN DE LECHE DESLACTOSADA



Foodzyme® Yeast Lactase 50

Lactasa para leche con baja cantidad de Lactosa

DESCRIPCIÓN

Foodzyme® Yeast Lactase 50 es a base de enzima lactasa, obtenida a través de la fermentación de una cepa seleccionada y específica de *Kluyveromyces lactis*.

Esta enzima actúa sobre la lactosa presente en la leche, rompiendo sus enlaces y produciendo D-glucosa y D-galactosa, que son azúcares más solubles.

APLICACIÓN

Foodzyme® Yeast Lactase 50 presenta óptima aplicación en productos lácteos como dulce de leche y leche con baja cantidad de lactosa.

En el caso del dulce de leche, **Foodzyme® Yeast Lactase 50** minimiza los problemas de arenosidad. Esto porque la Lactosa, la causa de este problema, es hidrolizada por la enzima.

Foodzyme® Yeast Lactase 50 puede ser utilizado en la producción de leche sin lactosa o con baja cantidad de Lactosa, que puede ser consumido por personas intolerantes a la lactosa.

Intolerancia a la lactosa es una deficiencia del organismo para digerir el azúcar de la leche, llamada Lactosa. Esta azúcar está compuesta por glucosa y galactosa. Las personas que son intolerantes a la lactosa no producen la enzima lactasa, que rompe la Lactosa en esas dos fracciones, digeribles por el organismo.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

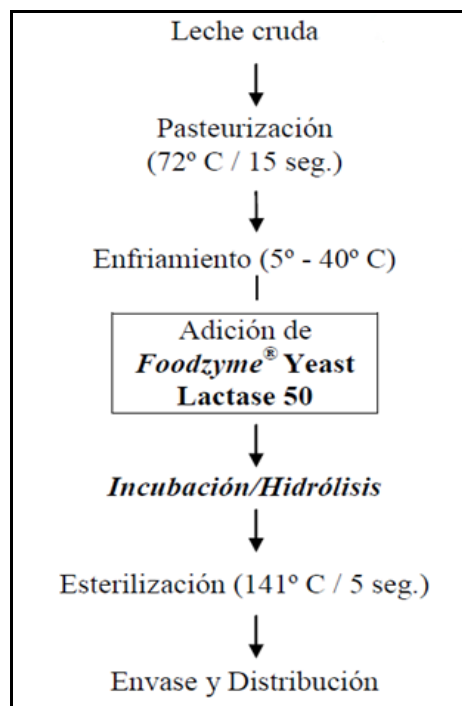
La Lactosa no digerida es fermentada en el intestino por bacterias, produciendo ácidos y gases (CO₂). Este fenómeno causa algunos síntomas como cólicos abdominales, producción de gases, flatulencia y diarrea.

La Intolerancia a la Lactosa es un problema común, que afecta a más del 75% de la población mundial de acuerdo con el Instituto Nacional de Enfermedades Digestivas, Renales y Diabetes, (EUA) afiliado al Instituto Nacional de Salud Americana; y puede aparecer en mayor o menor intensidad en función de algunos factores, principalmente raza.

Es importante destacar que intolerancia a lactosa no es lo misma que la alergia a la leche.

En la producción de leche “deslactosada” es necesario la hidrólisis de la Lactosa en la cantidad mínima de 90%.

Sigue el diagrama del proceso con la adición de la enzima **Foodzyme® Yeast Lactase 50**:



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Dosis recomendada (g/100 litros leche)	Tiempo (h)	Temperatura (° C)
40	15	6
35	2	37
20	4	37

BENEFICIOS

Foodzyme® Yeast Lactase 50 promueve diversos beneficios dependiendo de la aplicación:

- Producción de leche “deslactosada”- sin lactosa o con baja cantidad de lactosa.
- Reducción del tiempo de hidrólisis de la Lactosa de la leche,
- Mejor estabilidad cuando se comparada a otras lactasas, pues posee actividad de proteasa muy baja.

CARACTERÍSTICAS

Foodzyme® Yeast Lactase 50 es un líquido de color amarillo, con una actividad de 20.000 ONPGU/g.

En el caso de necesitar el control del grado de hidrólisis de la lactosa, se recomienda el uso de la técnica de crioscopia. El cálculo final puede ser hecho a través de la fórmula abajo:

CORRELACIÓN CRIOSCOPIA x % HIDRÓLISIS:

$$\text{Crioscopia} = 0.00285 \times (\% \text{Hidrólisis deseada}) + (\text{Crioscopia inicial})$$

$$\% \text{Hidrólisis alcanzada} = \frac{350.77 \times (\text{Crioscopia Final}) - (\text{Crioscopia Inicial})}{0.00285}$$

AUTORAS:

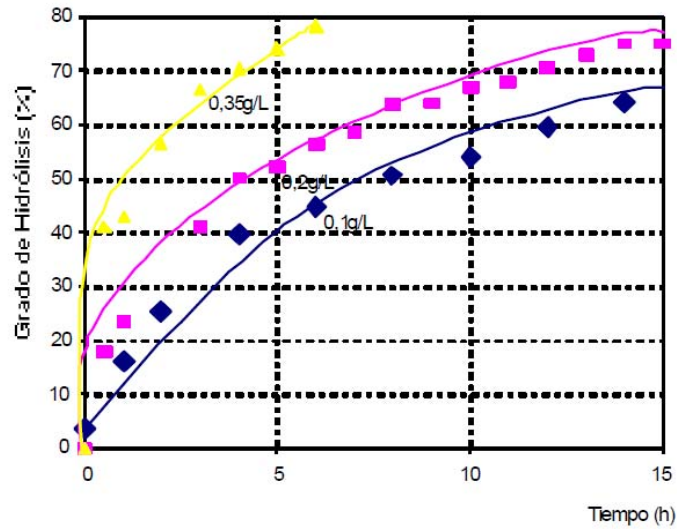
Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



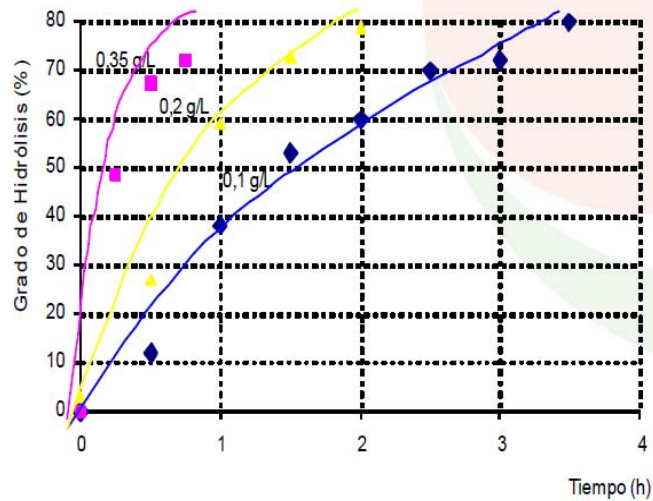
UNIVERSIDAD DE CUENCA

A seguir se encuentran dos curvas de hidrólisis de la lactosa en diferentes condiciones de proceso y dosis.

Curva Hidrólisis Foodzyme Yeast Lactase 50 a 6°C



Curva Hidrólisis Foodzyme Yeast Lactase 50 a 40°C



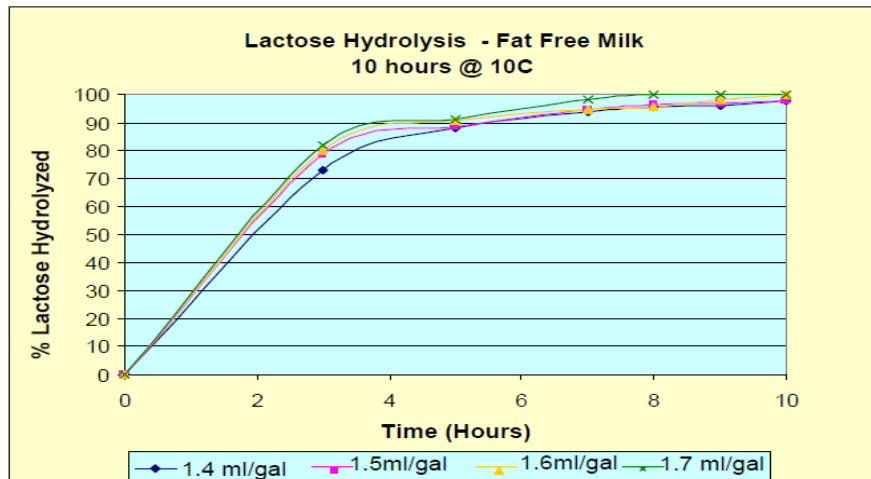
AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.

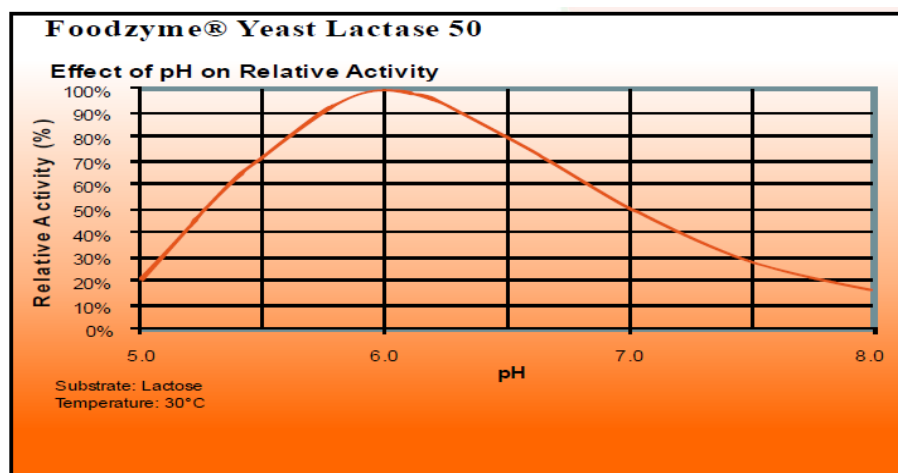


UNIVERSIDAD DE CUENCA

La curva que sigue se ilustra la hidrólisis de la lactosa a diferentes dosis de enzima en el tiempo en un proceso a 10° C, aplicada a una leche libre de grasas:



A seguir se encuentran cuatro curvas relacionadas con: la Actividad Relativa y la Estabilidad de la solución frente al pH, la Actividad Relativa frente a la Temperatura y la Hidrólisis de la lactosa en diferentes condiciones de Temperatura de proceso en el Tiempo. (Leche normal en cantidad de grasas).

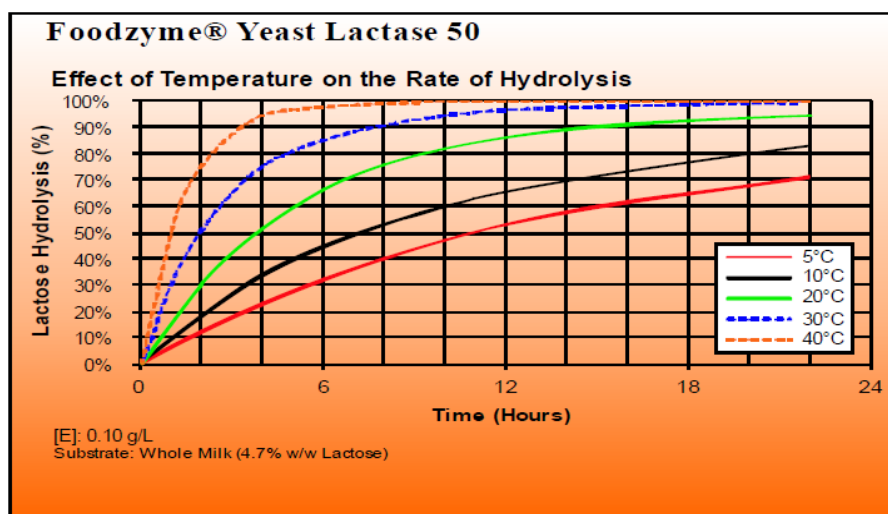
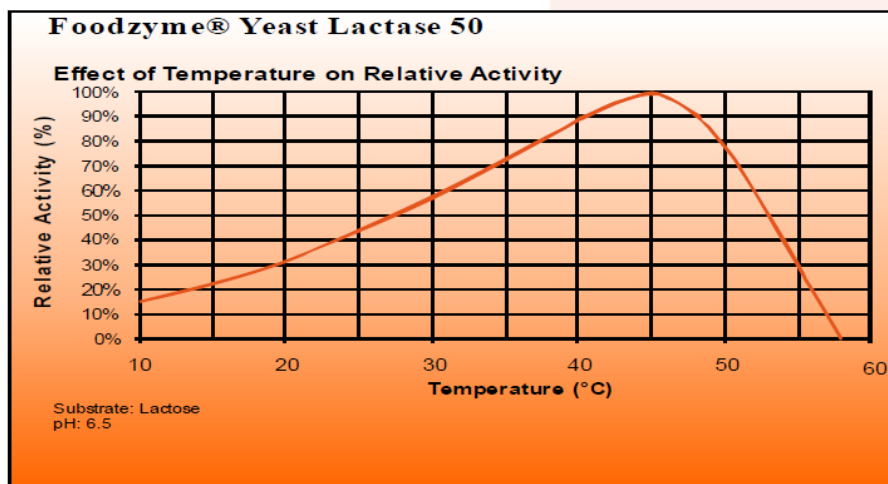
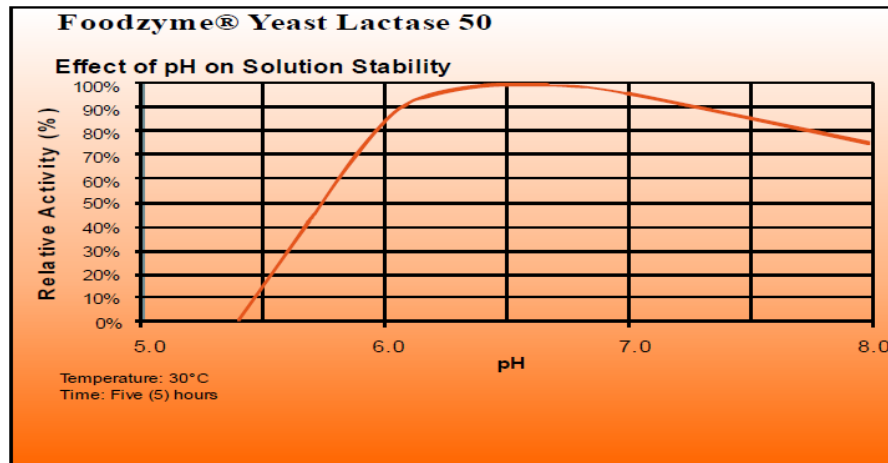


AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

EMPAQUE

Foodzyme® Yeast Lactase 50 se presenta empacado en envases de 1, 5, 10 y 25kg. Para otras cantidades, entrar en contacto.

ALMACENAMIENTO

Foodzyme® Yeast Lactase 50 debe ser almacenado en lugar refrigerado.

CUIDADOS DE MANIPULACIÓN

En caso de contacto de **Foodzyme® Yeast Lactase 50** con el rostro y ojos se aconseja lavar rápidamente con agua corriente durante 15 minutos.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 4

ANÁLISIS DE LECHE SEMIDESCREMADA PREVIO A LA ELABORACIÓN DE LECHE DESLACTOSADA

LÁCTEOS SAN ANTONIO S.A								
PARÁMETROS								
	pH	T°C	A °D	G %	PA	PP	PAE	PC °H
Primer Lote 08/07/2010	6,80	11,9	12,6	2,0	Negativo	Negativo	Negativo	-0,544
Segundo Lote 11/07/2010	6,79	11,0	12,6	1,8	Negativo	Negativo	Negativo	-0,547
Tercer Lote 06/08/2010	6,71	9,0	13,05	2,1	Negativo	Negativo	Negativo	-0,530

Tabla 1: PH, T: Temperatura (°C), A: Acidez (°D), G: Grasa (%), PA: Prueba del Alcohol, PP: Prueba de la Peroxidasa, PAE: Prueba de Azúcares extraños, PC: Punto Crioscópico (°H) de la leche semidescremada destinada a la elaboración de Leche Deslactosada en la Empresa Lácteos “SAN ANTONIO” C.A.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



ANEXO 5

RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA POR LA FÓRMULA BASADA EN LA CRIOSCOPIA

PRIMER LOTE			
Muestra	Punto crioscópico inicial °H	Punto crioscópico final °H	%Hidrólisis
1	-0,544	-0,745	70,526
2	-0,544	-0,745	70,526
3	-0,544	-0,745	70,526
4	-0,544	-0,745	70,526
5	-0,544	-0,745	70,526
6	-0,544	-0,745	70,526
7	-0,544	-0,745	70,526
8	-0,544	-0,745	70,526
SEGUNDO LOTE			
Hora	Punto crioscópico inicial °H	Punto crioscópico final °H	%Hidrólisis
5:00 a.m	-0,547	-0,724	62,105
6:30 a.m	-0,547	-0,730	64,210
8:00 a.m	-0,547	-0,721	61,052
9:30 a.m	-0,547	-0,733	65,263
11:00 a.m	-0,547	-0,733	65,263
12:30 p.m	-0,547	-0,737	66,666
15:30 p.m	-0,547	-0,745	69,473
17:00 p.m	-0,547	-0,750	71,227
TERCER LOTE			
Hora	Punto crioscópico inicial °H	Punto crioscópico final °H	%Hidrólisis
05:30 a.m	-0,530	-0,730	70,175
07:00 a.m	-0,530	-0,733	71,227
08:30 a.m	-0,530	-0,721	67,017
10:00 a.m	-0,530	-0,723	67,719
12:15 a.m	-0,530	-0,736	72,280
14:00 p.m	-0,530	-0,733	71,227
15:30 p.m	-0,530	-0,732	70,877
16:00 p.m	-0,530	-0,730	70,175

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 2: Punto Crioscópico inicial y final ($^{\circ}\text{H}$), Porcentaje de hidrólisis de Lactosa basada en la Crioscopía de las muestras de los tres lotes.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 6

NORMA VENEZOLANA COVENIN 3219:1996

NORMA

COVENIN

VENEZOLANA

3219:1996

**LECHE. DETERMINACIÓN
DE AZÚCARES.**

MÉTODO DE FEHLING.



AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



NORMA VENEZOLANA
LECHE DETERMINACIÓN DE AZÚCARES
MÉTODO DE FEHLING

COVENIN
3219:1996

1. OBJETO

La presente Norma Venezolana tiene por objeto describir un método de ensayo para determinar el contenido de azúcar en leche.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Esta norma es completa.

3. PRINCIPIO

Los azúcares reductores y los no reductores después de la inversión, reducen en medio alcalino los iones cúprico del reactivo Fehling a iones cuproso, los cuales pueden ser determinados por gravimetría o titulación con permanganato de potasio o iodo y tiosulfato de sodio.

4. APARATOS Y REACTIVOS

4.1. Aparatos

- 4.1.1.** Balanza analítica con apreciación de 0,1mg.
- 4.1.2.** Baño de maría con temperatura regulable a 67-70°C.
- 4.1.3.** Estufa con temperatura regulable a 100°C.
- 4.1.4.** Plato de calentamiento.
- 4.1.5.** Crisol de filtración (Gooch) de porosidad M.
- 4.1.6.** Equipos de filtración al vacío.
- 4.1.7.** Fiolas kitasato.

4.2. Reactivos

4.2.1. Solución de Fehling I:

Sulfato de cobre pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Disolver 34.639 g de sulfato de cobre pentahidratado en agua destilada suficiente para 500ml y filtrar a través del papel de filtro seco.

4.2.2. Solución de Fehling II:

Tartrato de sodio y potasio

Hidróxido de sodio

Solución alcalina de tartrato doble de sodio y potasio.

Disolver 175g de tartrato doble de sodio y potasio y 50g de hidróxido de sodio en agua, cantidad suficiente para 500ml. Dejar en reposo por dos días y filtrar.

NOTA: Las soluciones de Fehling I y Fehling II, se mezclan en el momento del uso. Se conservan por un máximo de dos meses, ya que después darían resultados bajos.

4.2.3. Ácido clorhídrico HCl ($d=1.10$ g/ml).

4.2.4. Ácido sulfúrico H₂SO₄ ($d=1.84$ g/ml y % de pureza=96).

Solución de ácido sulfúrico 4N. Agregar 56 ml de ácido sulfúrico en un balón aforado de 500 ml que contenga 200ml de agua y llevar a volumen.

4.2.5. Permanganato de potasio (KMnO₄).

Solución de permanganato de potasio 0.1N. Disolver 3.2 g de permanganato de potasio en agua, cantidad suficiente para 1000 ml. Valorar contra oxalato de sodio (0.35g).

4.2.6. Sulfato férrico anhidro.

Solución de sulfato férrico: Disolver 55g de sulfato férrico anhidro en agua destilada, llevar a volumen a 100ml, dejar en reposo por 24 horas y filtrar.

Tomar 50ml de esta solución, acidificar con 20ml de ácido sulfúrico 4N y titular con la solución de permanganato de potasio 0.1N hasta la aparición de una coloración rosada. Tomar nota del volumen gastado del permanganato para corregir el punto cero de la titulación. Para lo cual se hace el cálculo y se añade el volumen del Permanganato correspondiente a la solución de sulfato férrico.

4.2.7. Indicador sulfato ferroso o-fenantrolina.

Sulfato ferroso heptahidratado o-fenantrolina ferrosa H₂O.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Pesar 6.95g de sulfato ferroso heptahidratado y disolver en agua cantidad suficiente para 1000ml (solución 0.025M). Disolver 0.7425g de o-fenantrolina en 25ml de la solución 0.025M de sulfato ferroso.

4.2.8. Solución indicadora de almidón

Disolver 140 g de cloruro de sodio en 375 ml de agua destilada, añadir 5 g de almidón dispersados en 5ml de agua, calentar a ebullición 2 ó 3 minutos, enfriar y filtrar.

4.2.9. Yoduro de potasio KI

Solución de yoduro de potasio al 30%. Preparar en el momento de su uso.

4.2.10. Solución 0.1N de tiosulfato de sodio.

Pesar 39 g de tiosulfato de sodio y disolver en agua, cantidad suficiente para 1000 ml y estandarizar cada tres días contra cobre en lámina, según el procedimiento indicado en el 5.3. y 5.4.

4.2.11. Ácido nítrico (Ácido nítrico 1 + 1)

4.2.12. Alcohol etílico

4.2.13. Éter etílico

4.2.14. Piedra Pómez

4.2.15. Hidróxido de sodio o de potasio 0.25M. Pesar 10.5 g de hidróxido de sodio ó 14.5 g de hidróxido de potasio y disolver en agua destilada y llevar a volumen hasta un litro.

4.2.16. Hidróxido de sodio al 30%.

4.2.17. Urea

4.2.18. Sulfocianuro de potasio

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de la muestra

5.1.1. Leche condensada azucarada

Colocar el envase con la muestra en un baño de agua a 35°C, abrir la lata y mezclar muy bien con una varilla de vidrio con punta de goma.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

5.1.2. Pesar 100 g de la muestra de leche condensada azucarada, homogeneizarla y diluir con agua destilada hasta 500 ml.

Medir 25 ml, proseguir como se indica 5.2.

5.1.3. En caso de leche en polvo pesar 5 g directamente y proseguir como indicado en el punto 5.2. o medir 10 ml. en caso de leche fluida.

5.2. Si la muestra fue pesada o medida, pasar a un balón aforado de 250 ml con ayuda de agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

5.2.1. Agregar 10ml de solución de Fehling I y 8ml de solución de hidróxido de sodio 0.25N, diluir a volumen con agua destilada, mezclar y filtrar.

5.3. Reducción del cobre

En un beacker de 600ml, colocar 25ml de la solución de Fehling I, 25ml de la solución de Fehling II y 50ml del filtrado obtenido en 5.2, si se utiliza un volumen menor de filtrado añadir agua para obtener un volumen final de 100ml.

5.3.1. Calentar sobre la llama de un mechero o sobre una cocinilla de resistencia cubierta, regulado de manera tal que la ebullición comience a los 4 minutos y se mantenga hirviendo por exactamente 6 minutos.

Es importante que se sigan estrictamente estas instrucciones:

Para regular la llama o la intensidad del calentamiento utilizar 50ml del reactivo de Fehling y 50ml de agua antes de proceder con la determinación real.

Cubrir el beacker con un vidrio de reloj durante la determinación para evitar evaporación.

5.3.2. Filtrar la solución caliente por un filtro de Gooch de porosidad M y lavar el beacker y el precipitado de óxido cuproso con agua calentada a 60°C.

5.4. Titulación:

5.4.1. Con permanganato de potasio:

5.4.1.1. Añadir al beacker 50 ml de sulfato férrico caliente: agitar para disolver todo el óxido cuproso, cambiar el filtro de Gooch a un kitasato limpio y seco, pasar poco a poco la solución de sulfato férrico, para lograr la disolución completa del precipitado.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

5.4.1.2. Lavar el crisol con agua, eliminar. Agregar a la fiola kitasato 20 ml de ácido sulfúrico 4N y titular con la solución 0.1N de permanganato de potasio. Cuando se aproxima el punto final agregar una gota de la solución indicadora de fenantrolina ferrosa. El punto final de la titulación viene dada por el cambio de color de pardo a verde.

5.4.2. Titulación con tiosulfato de sodio.

5.4.2.1. Titulación de la solución de tiosulfato de sodio. Pesar exactamente entre 0.05 y 0.06g de cobre en láminas, previamente frotado con piedra pómez y lavado con alcohol y éter, colocar en un enlarmeyer de 250 ml y disolver con ácido nítrico.

5.4.2.1.1. Añadir 30-50 ml de agua, agregar una cucharadita de urea en cristales y hervir hasta la expulsión de los vapores nitrosos por 2 ó 3 minutos.

5.4.2.1.2. Enfriar y añadir 10 ml de una solución de yoduro de potasio al 30% y titular con la solución de tiosulfato hasta un ligero color amarillo.

Añadir 3 ml de la solución indicadora de almidón para producir un marcado color azul, cuando se acerque al punto final agregar 2g de sulfocianuro de potasio, agitar para disolver y continuar la titulación hasta que haya viraje de color y que el precipitado esté perfectamente blanco.

1 ml de la solución de tiosulfato de sodio = 10 mg cobre

Es esencial para la titulación del tiosulfato que la concentración del yoduro de potasio en la solución sea cuidadosamente regulada.

Si la solución contiene < 320 mg de cobre, añadir de 4.29 a 5 g de yoduro de potasio por cada 100ml de solución a titular. Si la cantidad de cobre presente es mayor, añadir la solución de yoduro de potasio lentamente con agitación constante en cantidades proporcionalmente mayores.

5.4.2.2. Determinación de la muestra: Disolver el precipitado de óxido cuproso obtenido en 5.3.2 con 5 ml de ácido nítrico agregando con una pipeta directamente al beacker y luego al crisol de Gooch que se ha cambiado a una fiola kitasato limpia y seca. Continuar conforme a lo indicado en el punto 5.4.2.1.1 hasta 5.4.2.1.2.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

5.5. Inversión de la Sacarosa.

5.5.1. Medir 50 ml de filtrado obtenido en 5.2.1 agregar a un balón aforado de 200 ml. Añadir 5 ml de ácido clorhídrico (20%) agitar y colocar en baño de agua hirviendo, cuando alcance la temperatura del baño dejar hervir por 5 minutos. El tiempo total de calentamiento no debe ser mayor a 10 minutos.

5.5.2. Enfriar y agregar el volumen de solución hidróxido de sodio al 30%, necesario para neutralizar el ácido y llevar a volumen con agua destilada.

5.5.3. Medir 50 ml y añadir a un beacker de 500 ml que contenga 25 ml de Fehling I y 25 ml de Fehling II, continuar como indicado en el 5.3.1.

5.5.4. Titulación: La titulación del óxido cuproso puede efectuarse por cualquiera de los dos métodos indicados en el 5.4.1 ó 5.4.2.

6. Cálculos y expresión de los resultados:

6.1. Azúcares reductores

$$A_i: V_i \times N \times 63.54$$

Donde:

A_i: mg de cobre equivalente al óxido cuproso formado por el azúcar reductor.

N: Normalidad de la solución titulante.

V_i: Volumen de permanganato gastado en la titulación de la muestra antes de la inversión.

63.54: meq del cobre en miligramos.

Buscar la equivalencia del **A_i** en lactosa, en la tabla. (Ver ANEXO 6)

A_i : L_i

$$\%I. = \frac{L_i \times f_d \times 100}{1000 \times p}$$

f_d: Factor de dilución.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

p: Peso de la muestra directa o a partir de la dilución preparada. **(26)**

6.2. Sacarosa

$$di: V_2 \times N \times 63.54$$

Donde:

di: mg de cobre equivalente al óxido cuproso formado por los azúcares reductores totales (lactosa y sacarosa invertida).

V₂: Volumen de permanganato o tiosulfato gastados en la titulación de la muestra después de la inversión.

63.54: meq del cobre en mg.

Buscar la equivalencia del di en la tabla en azúcar invertido (Ai).

$$AT = \frac{Ai \times fd \times 100}{1000 \times p}$$

Donde:

AT: Azúcar invertido total.

fd: factor de dilución.

p: Peso de la muestra directa o a partir de la dilución preparada.

%: Sacarosa (AT-L) x 0.95

0.95: factor de conversión del azúcar invertido en sacarosa.

7. Informe:

7.1. Fecha del ensayo

7.2. Identificación completa de la muestra

7.3. Resultado del análisis realizado

AUTORAS:

Daniela Juca C.

Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

7.4. Nombre y título de la Norma Venezolana COVENIN consultada

7.5. Nombre del analista

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
10,0	5,6	4,6	4,4	5,1	6,8	40,0	18,7	18,4	17,5	24,6	32,6
11,0	6,0	5,1	4,8	5,8	7,7	41,0	19,2	18,8	17,9	25,2	33,5
12,0	6,4	5,6	5,3	6,4	8,5	42,0	19,8	19,3	18,3	25,9	34,3
13,0	6,8	6,0	5,7	7,1	9,4	43,0	20,0	19,8	18,8	26,5	35,2
14,0	7,2	6,4	6,1	7,7	10,2	44,0	20,4	20,2	19,2	27,2	36,0
15,0	7,7	6,9	6,6	8,4	11,1	45,0	20,9	20,7	19,7	27,8	36,9
16,0	8,1	7,3	6,9	9,0	12,0	46,0	21,3	21,1	20,0	28,5	37,8
17,0	8,6	7,8	7,4	9,7	12,8	47,0	21,7	21,6	20,5	29,1	38,6
18,0	9,0	8,3	7,9	10,3	13,7	48,0	22,2	22,1	21,0	29,8	39,5
19,0	9,5	8,7	8,3	11,0	14,5	49,0	22,6	22,5	21,4	30,4	40,3
20,0	9,9	9,2	8,7	11,6	15,4	50,0	23,1	23	21,9	31,1	41,2
21,0	10,4	9,6	9,1	12,3	16,3	51,0	23,5	23,5	22,3	31,7	42,1
22,0	10,8	10,0	9,5	12,9	17,1	52,0	24,0	23,9	22,7	32,4	42,9
23,0	11,2	10,5	10,0	13,6	18,0	53,0	24,4	24,4	23,2	33,0	43,8
24,0	11,7	11,0	10,5	14,2	18,8	54,0	24,8	24,9	23,6	33,7	44,6
25,0	12,1	11,4	10,9	14,8	19,7	55,0	25,3	25,3	24,0	34,3	45,5
26,0	12,5	11,9	11,3	15,5	20,6	56,0	25,7	25,8	24,5	34,9	46,4
27,0	13,0	12,4	11,8	16,2	21,4	57,0	26,2	26,2	24,9	35,6	47,2
28,0	13,4	12,8	12,2	16,8	22,3	58,0	26,6	26,7	25,3	36,2	48,1
29,0	13,9	13,3	12,6	17,5	23,1	59,0	27,1	27,2	25,7	36,9	48,9
30,0	14,3	13,7	13,0	18,1	24,0	60,0	27,5	27,6	26,1	37,5	49,8
31,0	14,8	14,2	13,5	18,7	24,9	61,0	27,9	28,1	26,6	38,2	50,7
32,0	15,2	14,7	13,9	19,4	25,7	62,0	28,4	28,6	27,0	38,8	51,5

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

33,0	15,6	15,1	14,3	20,0	26,6	63,0	28,8	29,0	27,4	39,4	52,4
34,0	16,1	15,6	14,8	20,7	27,4	64,0	29,2	29,5	27,9	40,1	53,2
35,0	16,5	16,1	15,3	21,5	28,3	65,0	29,7	30,0	28,4	40,8	54,1
36,0	16,9	16,5	15,7	22,0	29,2	66,0	30,1	30,4	28,8	41,4	54,0
37,0	17,4	17,0	16,1	22,6	30,0	67,0	30,6	30,9	29,3	42,0	55,8
38,0	17,8	17,4	16,5	23,3	30,9	68,0	31,0	31,4	29,7	42,7	56,6
39,0	18,3	17,9	17,0	23,9	31,7	69,0	31,4	31,8	30,1	43,3	57,6

Tabla 4. Determinación gravimétrica de lactosa, glucosa, maltosa, sacarosa y azúcar invertida a partir del peso de óxido cuproso

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

<i>Continuación:</i> de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
70,0	31,9	32,3	30,5	44	58,3	100,0	45,2	74,6	43,9	63,4	84,0
71,0	32,3	32,7	31	44,5	59,1	101,0	45,7	75,1	44,3	64,0	84,9
72,0	32,8	33,1	31,4	45,3	60	102,0	46,1	75,5	44,7	64,6	85,7
73,0	33,2	33,6	31,8	45,9	60,8	103,0	46,6	76,0	45,1	65,3	86,6
74,0	33,7	34,1	32,3	46,6	61,7	104,0	47,0	76,5	45,6	66,0	87,4
75,0	34,1	34,5	32,7	47,2	62,5	105,0	47,5	76,9	46,0	66,6	88,3
76,0	34,5	35	33,1	47,9	63,4	106,0	47,9	77,4	46,5	67,2	89,1
77,0	35,0	35,5	33,6	48,5	64,2	107,0	48,4	77,9	46,9	67,9	90,0
78,0	35,4	35,9	34	49,2	65,1	108,0	48,8	78,4	47,3	68,6	90,8
79,0	35,9	36,4	34,5	49,8	65,9	109,0	49,3	78,9	47,8	69,2	91,7
80,0	36,3	36,8	34,9	50,4	66,8	110,0	49,7	79,4	48,3	69,9	92,5
81,0	36,8	37,3	35,3	51,1	67,7	111,0	50,2	79,9	48,7	70,5	93,3
82,0	37,2	37,8	35,8	51,8	68,5	112,0	50,6	80,4	49,1	71,2	94,2
83,0	37,6	38,2	36,2	52,4	69,4	113,0	51,1	80,9	49,6	71,9	95,0
84,0	38,1	38,7	36,7	53,1	70,2	114,0	51,5	81,4	50,1	72,5	95,9
85,0	38,4	39,2	37,2	53,7	71,1	115,0	52,0	81,9	50,4	73,2	96,7
86,0	39,0	39,7	37,6	54,4	72	116,0	52,4	82,4	50,9	73,8	97,6
87,0	39,4	40,2	38,1	55	72,8	117,0	52,9	82,8	51,5	74,5	98,4
88,0	39,8	40,6	38,5	55,7	73,7	118,0	53,3	83,3	51,9	75,1	99,3
89,0	40,3	41,1	38,9	56,3	74,6	119,0	53,8	83,8	52,3	75,8	100,1
90,0	40,7	41,6	39,4	57	75,4	120,0	54,2	84,3	52,8	76,5	101,0
91,0	41,2	42	39,8	57,6	76,3	121,0	54,7	84,7	53,2	77,1	101,9
92,0	41,6	42,5	40,3	58,2	77,1	122,0	55,1	85,2	53,6	77,7	102,7

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

93,0	42,1	43	40,8	58,9	78	123,0	55,6	85,7	54,1	78,4	103,6
94,0	42,6	43,5	41,2	59,5	78,8	124,0	56,0	86,2	54,5	79,1	104,4
95,0	43,0	43,9	41,6	60,2	79,7	125,0	56,5	86,6	55,0	79,8	105,3
96,0	43,4	44,4	42,1	60,8	80,6	126,0	56,9	87,1	55,5	80,4	106,1
97,0	43,9	44,8	42,5	61,4	81,4	127,0	57,4	87,6	55,9	81,0	107,0
98,0	44,3	45,3	42,9	62,1	82,3	128,0	57,8	88,1	56,3	81,7	107,8
99,0	44,8	45,8	43,4	62,8	83,1	129,0	58,5	88,5	56,8	82,3	108,7

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
130,0	58,7	60,3	57,2	83,0	109,5	160,0	72,3	74,6	70,8	102,8	134,9
131,0	59,2	60,8	57,7	83,7	110,3	161,0	72,8	75,1	71,2	103,5	135,7
132,0	59,6	61,3	58,1	84,4	111,2	162,0	73,2	75,5	71,6	104,2	136,6
133,0	60,1	61,8	58,6	85,0	112,0	163,0	73,7	76,0	72,1	104,9	137,4
134,0	60,5	62,3	59,1	85,6	112,9	164,0	74,2	76,5	72,6	105,6	138,3
135,0	61,0	62,7	59,5	86,3	113,7	165,0	74,6	76,9	73,0	106,2	139,1
136,0	61,5	63,2	59,9	87,0	114,6	166,0	75,1	77,4	73,5	106,9	140,0
137,0	61,9	63,7	60,4	87,7	115,4	167,0	75,6	77,9	73,9	107,6	140,8
138,0	62,4	64,1	60,8	88,3	116,3	168,0	76,0	78,4	74,4	108,2	141,7
139,0	62,8	64,6	61,3	89,0	117,1	169,0	76,5	78,9	74,9	108,9	142,5
140,0	63,3	65,1	61,7	89,6	118,0	170,0	77,0	79,4	76,3	109,6	143,4
141,0	63,7	66,6	62,2	90,3	118,8	171,0	77,4	79,9	75,8	110,2	144,3
142,0	64,2	66,0	62,6	91,0	119,7	172,0	77,9	80,4	76,3	110,9	145,1
143,0	64,6	66,5	63,1	91,6	120,5	173,0	78,3	80,9	76,8	111,6	146,0
144,0	65,0	67,0	63,6	92,2	121,4	174,0	78,8	81,4	77,2	112,3	146,8
145,0	65,5	67,5	64,0	92,9	122,2	175,0	79,3	81,9	77,7	113,0	147,7
146,0	66,0	67,9	64,4	93,6	123,0	176,0	79,7	82,4	78,2	113,6	148,6
147,0	66,4	68,4	64,9	94,3	123,9	177,0	80,2	82,8	78,6	114,3	149,9
148,0	66,9	68,9	65,4	94,9	124,7	178,0	80,7	83,3	79,0	115,0	150,3
149,0	67,4	69,3	65,8	95,6	125,6	179,0	81,1	83,8	79,5	115,6	151,1
150,0	67,8	69,8	66,2	96,2	126,4	180,0	81,6	84,3	80,0	116,3	152,0
151,0	68,2	70,3	66,7	96,9	127,3	181,0	82,1	84,7	80,4	117,0	152,9
152,0	68,7	70,8	67,2	97,6	128,1	182,0	82,5	85,2	80,8	117,6	153,7

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

153,0	69,2	71,2	67,5	98,2	129,0	183,0	82,9	85,7	81,3	118,3	154,6
154,0	69,6	71,7	68,0	98,8	129,8	184,0	83,4	86,2	81,8	119,0	155,4
155,0	70,0	72,2	68,5	99,5	130,7	185,0	83,9	86,6	82,2	119,7	156,3
156,0	70,5	72,7	69,0	100,2	131,5	186,0	84,4	87,1	82,6	120,3	157,1
157,0	71,0	73,2	69,4	100,8	132,4	187,0	84,8	87,6	83,1	121,0	158,0
158,0	71,4	73,6	69,8	101,5	133,2	188,0	85,3	88,1	83,6	121,7	158,8
159,0	71,9	74,1	70,3	102,2	134,1	189,0	85,7	88,5	84,0	122,4	159,7

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



Continuación:

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
250,0	114,2	118,7	112,8	163,4	211,5	280,0	128,5	133,8	127,2	183,6	237,0
251,0	114,7	119,2	113,2	164,0	212,3	281,0	129,0	134,4	127,7	184,3	237,9
252,0	115,2	119,7	113,7	164,7	213,2	282,0	129,4	134,9	128,2	185,0	238,7
253,0	115,6	120,2	114,2	165,4	214,0	283,0	129,9	135,4	128,6	185,7	239,6
254,0	116,1	120,7	114,7	166,0	214,9	284,0	130,4	135,9	129,1	186,4	240,4
255,0	116,6	121,2	115,1	166,7	215,7	285,0	130,8	136,4	129,6	187,1	241,3
256,0	117,0	121,7	115,6	167,3	216,6	286,0	131,3	136,9	130,1	187,8	242,2
257,0	117,5	122,2	116,1	168,0	217,4	287,0	131,8	137,4	130,5	188,5	243,0
258,0	118,0	122,7	116,6	168,7	218,3	288,0	132,3	137,9	131,0	189,1	243,9
259,0	118,5	123,2	117,0	169,4	219,1	289,0	132,8	138,4	131,5	189,8	244,7
260,0	119,0	123,7	117,5	170,0	220,0	290,0	133,2	138,9	132,0	190,5	245,6
261,0	119,4	124,2	118,0	170,7	220,9	291,0	133,7	139,4	132,5	191,2	246,5
262,0	119,9	124,7	118,5	171,3	221,7	292,0	134,2	140,0	133,0	191,9	247,3
263,0	120,4	125,2	118,9	172,0	222,6	293,0	134,7	140,5	133,5	192,6	248,2
264,0	120,9	125,7	119,4	172,6	223,4	294,0	135,2	141,0	134,0	193,3	249,0
265,0	121,4	126,2	119,9	173,3	224,3	295,0	135,6	141,5	134,4	194,0	249,9
266,0	121,8	126,7	120,4	174,0	225,1	296,0	136,1	142,0	134,9	194,7	250,8
267,0	122,3	127,2	120,9	174,7	226,0	297,0	136,6	142,5	135,4	195,4	251,6
268,0	122,8	127,8	121,4	175,4	226,8	298,0	137,1	143,0	135,9	196,0	252,5
269,0	123,3	128,3	121,9	176,1	227,7	299,0	137,6	143,5	136,3	196,7	253,3
270,0	123,7	128,8	122,4	176,8	228,5	300,0	138,1	144,0	136,8	197,4	254,2
271,0	124,2	129,3	122,8	177,5	229,3	301,0	138,5	144,5	137,3	198,1	255,1
272,0	124,7	129,8	123,3	178,2	230,2	302,0	139,0	145,0	137,8	198,8	255,9
273,0	125,2	130,3	123,8	178,8	231,0	303,0	139,5	145,5	138,3	199,5	256,8
274,0	125,6	130,8	124,3	179,5	231,9	304,0	140,0	146,1	138,8	200,2	257,6

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

275,0	126,1	131,3	124,7	180,2	232,7	305,0	140,5	146,6	139,3	200,9	258,5
276,0	126,6	131,8	125,2	180,9	233,6	306,0	141,0	147,1	139,7	201,6	259,4
277,0	127,1	132,3	125,7	181,6	234,4	307,0	141,6	147,6	140,2	202,3	260,2
278,0	127,6	132,8	126,2	182,3	235,3	308,0	142,0	148,1	140,7	203,0	261,1
279,0	128,0	133,3	126,7	183,0	236,1	309,0	142,5	148,6	141,2	203,7	261,9
Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
310,0	143,0	149,1	141,6	204,4	262,8	340,0	157,6	165,0	156,7	226,9	288,6
311,0	143,4	149,6	142,1	205,2	263,7	341,0	168,0	165,5	157,2	226,6	289,6
312,0	143,9	150,1	142,6	205,9	264,5	342,0	158,5	166,0	157,7	227,2	290,3
313,0	144,4	150,6	143,1	206,6	265,4	343,0	159,0	166,5	158,2	227,9	291,2
314,0	144,9	151,2	143,6	207,3	266,2	344,0	159,5	167,0	158,7	228,6	292,0
315,0	145,4	151,7	144,1	208,0	267,1	345,0	160,0	167,5	159,2	229,3	292,9
316,0	145,8	152,3	144,7	208,7	268,0	346,0	160,5	168,0	159,7	230,0	293,7
317,0	146,3	152,8	145,2	209,5	268,8	347,0	161,0	168,6	160,2	230,7	294,6
318,0	146,8	153,3	145,7	210,2	269,7	348,0	161,5	169,1	160,6	231,4	295,4
319,0	147,3	153,9	146,2	210,9	270,5	349,0	162,0	169,6	161,1	232,1	296,3
320,0	147,8	154,4	146,7	211,6	271,4	350,0	162,4	170,1	161,6	232,8	
321,0	148,2	154,9	147,2	212,3	272,3	351,0	162,9	170,6	162,1	233,5	
322,0	148,7	155,4	147,7	213,0	273,1	352,0	163,4	171,2	162,6	234,2	
323,0	149,2	155,9	148,2	213,7	274,0	353,0	163,9	171,7	163,1	234,9	
324,0	149,7	156,5	148,7	214,4	274,8	354,0	164,4	172,3	163,7	235,6	
325,0	150,2	157,0	149,2	215,2	275,7	355,0	164,9	172,8	164,2	236,3	
326,0	150,7	157,5	149,6	215,9	276,6	356,0	165,4	173,3	164,7	237,0	
327,0	151,2	158,0	150,1	216,6	277,4	357,0	165,9	173,9	165,2	237,7	
329,0	151,7	158,6	150,6	217,3	278,3	358,0	166,4	174,4	165,7	238,4	
329,0	152,2	159,1	151,1	218,0	279,1	359,0	166,9	174,9	166,2	239,1	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

330,0	152,7	159,6	151,6	218,8	280,0	360,0	167,4	175,4	166,7	239,8	
331,0	153,2	160,1	152,1	219,5	280,9	361,0	167,9	176,0	167,2	240,5	
332,0	153,6	160,7	152,6	220,2	281,7	362,0	168,4	176,5	167,7	241,2	
333,0	154,1	161,2	153,1	220,9	282,6	363,0	168,9	177,0	168,2	241,8	
334,0	154,6	161,8	153,7	221,6	283,4	364,0	169,4	177,5	168,6	242,5	
335,0	155,1	162,3	154,2	222,4	284,3	365,0	169,9	178,0	169,1	243,2	
336,0	155,6	162,8	154,7	223,1	285,5	366,0	170,4	178,6	169,6	243,9	
337,0	166,1	163,4	155,2	223,8	286,0	367,0	170,9	179,1	170,1	244,6	
338,0	156,6	163,9	155,7	224,5	286,9	368,0	171,4	179,6	170,6	245,2	
339,0	157,1	164,4	156,2	225,2	287,7	369,0	171,9	180,2	171,2	245,9	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa hidratada	Maltosa hidratada
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
370,0	172,4	180,7	171,7	246,6		400,0	187,2	196,9	187,1	268,1	
371,0	172,9	181,2	172,2	247,3		401,0	187,7	197,4	187,6	268,8	
372,0	173,4	181,8	172,7	248,0		402,0	188,3	198,0	188,1	269,6	
373,0	173,9	182,3	173,2	248,7		403,0	188,8	198,5	188,6	270,3	
374,0	174,4	182,9	173,8	249,4		404,0	189,3	199,0	189,1	271,0	
375,0	174,9	183,5	174,3	250,1		405,0	189,9	199,6	189,6	271,8	
376,0	175,3	184,0	174,8	250,8		406,0	190,3	200,1	190,1	272,6	
377,0	175,8	184,5	175,3	251,6		407,0	190,8	200,7	190,6	273,2	
378,0	176,3	185,1	175,8	252,3		408,0	191,3	201,2	191,1	274,0	
379,0	176,8	185,6	176,3	253,0		409,0	191,9	201,8	191,7	274,7	
380,0	177,2	186,1	176,8	253,7		410,0	192,4	202,4	192,3	275,5	
381,0	177,8	186,7	177,3	254,4		411,0	192,9	203,0	192,9	276,2	
382,0	178,3	187,2	177,8	255,1		412,0	193,4	203,5	193,4	276,9	
383,0	178,8	187,9	178,4	255,8		413,0	193,9	204,1	193,9	277,7	
384,0	179,3	188,4	179,0	256,6		414,0	194,4	204,6	194,4	278,4	
385,0	179,8	188,9	179,5	257,3		415,0	194,9	205,2	194,9	279,1	
386,0	180,3	189,4	180,0	258,0		416,0	195,4	205,7	195,4	279,9	
387,0	180,8	190,0	180,5	258,7		417,0	195,9	206,3	196,0	280,6	
388,0	181,3	190,5	181,0	259,5		418,0	196,4	206,8	196,5	281,4	
389,0	181,8	191,0	181,5	260,2		419,0	196,9	207,4	197,0	282,2	
390,0	182,3	191,6	182,0	260,9		420,0	197,4	208,0	197,6	283,0	
391,0	182,8	192,1	182,5	261,6		421,0	197,9	208,5	198,1	283,7	
392,0	183,3	192,6	183,0	262,3		422,0	198,4	209,1	198,6	284,5	
393,0	183,8	193,2	183,5	263,1		423,0	198,9	209,6	199,1	285,2	
394,0	184,3	193,7	184,0	263,8		424,0	199,4	210,2	199,7	286,0	
395,0	184,8	194,2	184,5	264,5		425,0	199,9	210,7	200,2	286,8	
396,0	185,2	194,8	185,0	265,2		426,0	200,5	211,3	200,7	287,6	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

397,0	185,7	195,3	185,5	265,9		427,0	201,0	211,9	201,3	288,3	
398,0	186,2	195,8	186,0	266,7		428,0	201,5	212,5	201,9	289,1	
399,0	186,7	196,4	186,6	267,4		429,0	202,0	213,0	202,4	289,9	
Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Lactosa	Óxido de cobre	Glucosa	Azúcar invertido	Sacarosa	Óxido de cobre	Glucosa	
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
430	202,5	213,6	202,9	290,7	460,0	217,9	231,0	219,5	490,0	233,4	
431	203	214,1	203,4	291,4	461,0	218,4	231,7	220,1	491,0	234,0	
432	203,5	214,7	203,9	292,2	462,0	218,9	232,3	220,7	492,0	234,5	
433	204	215,2	204,4	293,0	463,0	219,4	232,9	221,3	493,0	235,0	
434	204,5	215,8	205,0	293,8	464,0	219,9	233,5	221,8	494,0	235,5	
435	205	216,3	205,5	294,5	465,0	220,4	234,2	222,5	495,0	236,0	
436	250,5	216,9	206,0	295,3	466,0	220,9	234,0	223,1	496,0	236,6	
437	206,1	217,4	206,5	296,0	467,0	221,5	235,5	223,7	497,0	237,1	
438	206,6	218	207,6	296,8	468,0	222,0	236,1	220,3	498,0	237,6	
439	207,1	218,5	207,6	197,6	469,0	222,5	236,7	220,0	499,0	238,1	
440	207,6	219,1	208,1	298,4	470,0	223,0	237,4	225,5	500,0	238,7	
441	208,1	219,6	208,6	299,3	471,0	223,5	238,0	226,1	501,0	239,2	
442	208,6	220,2	209,2	299,9	472,0	224,1	238,6	226,7	502,0	239,7	
443	209,1	220,8	209,7	300,7	473,0	224,6	239,2	227,2	503,0	240,2	
444	209,6	221,3	210,2	301,4	474,0	225,1	239,9	227,9	504,0	240,7	
445	210,2	221,9	210,8	302,2	475,0	225,6	240,5	228,5	505,0	241,2	
446	210,7	222,4	211,3	303,0	476,0	226,1	241,1	229,0	506,0	241,8	
447	211,2	223	211,9	303,7	477,0	226,6	241,7	229,6	507,0	242,3	
448	211,7	223,6	212,4	304,5	478,0	227,2	242,3	230,2	508,0	242,9	
449	212,2	224,1	212,9	305,2	479,0	227,7	242,9	230,8	509,0	243,4	
450	212,7	224,7	213,5	306,0	480,0	228,2	243,6	231,3			
451	213,2	225,3	214,1		481,0	228,7	244,2	232,0			
452	213,7	226	214,7		482,0	229,2	244,9	232,7			
453	214,3	226,6	215,3		483,0	229,7	245,5	233,2			
454	214,8	227,2	215,8		484,0	230,2	246,2	233,9			

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

455	215,3	227,8	216,4		485,0	230,8	246,9	234,6		
456	215,8	228,4	217,0		486,0	232,3				
457	216,3	229,1	217,6		487,0	231,8				
458	216,8	229,8	218,3		488,0	232,3				

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 7

RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA POR EL MÉTODO DE FEHLING EN LA LECHE SEMIDESCREMADA DESTINADA A LA ELABORACIÓN DE LECHE DESLACTOSADA

LÁCTEOS SAN ANTONIO S.A							
PARÁMETROS							
	Fecha	Vi	Ai	Li	(%P/V) Lactosa hidratada	(%P/V) Lactosa anhidra	Promedio (%P/V)
Primer Lote	08/07/2010	5	31,770	19,1	4,775	4,536	4,501
		4,9	31,134	18,8	4,7	4,465	
Segundo Lote	11/07/2010	4,95	31,452	18,9	4,725	4,489	4,512
		5,00	31,770	19,1	4,775	4,536	
Tercer Lote	06/08/2010	4,9	31,134	18,8	4,7	4,465	4,465
		4,9	31,134	18,8	4,7	4,465	

Tabla 3: Volumen de permanganato gastado en titulación de la muestra (Vi), mg de cobre equivalente al óxido cuproso formado por el azúcar reductor (Ai), Equivalencia del Ai en lactosa en mg (Li), Porcentajes peso/volumen de lactosa hidratada, Porcentajes peso/volumen de lactosa anhidra de Leche Semidescremada destinada a la elaboración de Leche Deslactosada de los tres lotes, Promedio de los porcentajes peso/volumen de lactosa anhidra de la Leche Semidescremada de cada uno de los tres lotes.

Vi: Volumen de permanganato gastado en la titulación de la muestra.

Ai: miligramos de cobre equivalente al óxido cuproso formado por el azúcar reductor.

Li: equivalencia del Ai en lactosa en la tabla anexa.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



ANEXO 8

FICHA TÉCNICA DEL KIT ENZIMATICO UTILIZADO EN LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA EN LECHE DESLACTOSADA

Lactose/D-Galactose
UV-method

BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM
Enzymatic BioAnalysis / Food Analysis

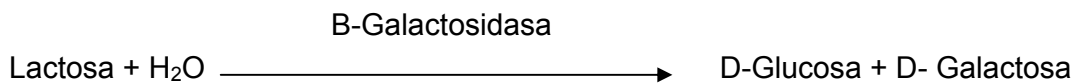
Para la determinación de lactosa y D-Galactosa en materiales comestibles y otros

Prueba para 32 determinaciones

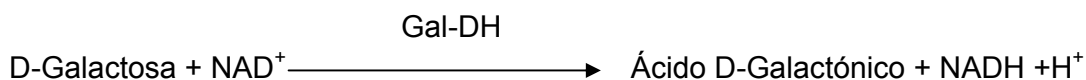
Almacenar 2-8°C

Principio:

La lactosa es hidrolizada a D-Glucosa y D-Galactosa a pH de 6.6 en presencia de la enzima galactosidasa y agua.



La D-Galactosa es oxidada a pH de 8.6 por el NAD^+ a ácido D-Galactónico en presencia de β -galactosa deshidrogenasa.



El aumento de NADH formado es estequiométricamente con el contenido de lactosa y D-galactosa, respectivamente. El incremento de NADH es medido por absorbancia a 334, 340 o 365nm.

Contenido del Test- Prueba:

1. Solución 1: 600mg de liofilizado de buffer citrato (pH 6,6), NAD (35mg), MgSO_4 y estabilizadores.
2. Solución 2: 1,7ml de suspensión de enzima de β -galactosidasa (100U).
3. Solución 3: 34ml de solución de buffer difosfato de potasio (0,51 mol/L, pH 8,6) y estabilizadores.
4. Solución 4: 1,7ml de suspensión de enzima de galactosa deshidrogenasa (40U).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

5. Solución 5: Solución Control de Lactosa



Preparación de las soluciones:

1. Disolver liofilizado de la solución 1 en 7ml de agua bidestilada antes de usar.
2. Usar la solución 2 sin diluir.
3. Usar la solución 3 sin diluir.
4. Usar la solución 4 sin diluir.

Estabilidad de los reactivos:

El contenido de la botella 1 es estable a 2-8°C

La solución 1 es estable hasta 3 meses a 2-8°C

Llevar la solución 1 a 20-25°C antes de usar

Los contenidos de las botellas 2,3 y 4 son estables a 2-8°C

Llevar las soluciones 2, 3 y 4 a 20-25°C antes de usar

Procedimiento:

Longitud de onda: 340nm, 365nm o 334nm

Cubeta: 1.00cm de paso de luz

Temperatura: 20-25°C

Volumen final: 3.300ml

Lea contra aire o con agua.

Pipetear en cubetas	Blanco de Lactosa	Muestra de Lactosa	Blanco de D-Galactosa	Muestra de D-Galactosa
Solución 1	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
Suspensión 2	0.050 ml	0.050 ml	---	---
Muestra	---	0.100 ml	---	0.100 ml
Mezclar e incubar por 20 minutos a 20-25°C				
Solución 3	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Agua bidestilada	2.000 ml	1.900 ml	2.050 ml	1.950 ml
Mezclar y después de aproximadamente 2 minutos leer la absorbancia de las soluciones (A_1).				
Suspensión 4	0.050 ml	0.050 ml	0.050 ml	0.050 ml
Mezclar, esperar hasta que la reacción se detenga, aproximadamente de 20-25 minutos, y leer las absorbancias de las soluciones (A_2). Si la reacción no se detiene después de 15 minutos, continuar las lecturas de absorbancias a intervalos de 5 minutos hasta que el incremento de absorbancias sea constante sobre los 5 minutos.				

Determinar la diferencia de absorbancias ($A_2 - A_1$) de la muestra y el blanco.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{Muestra}} - (A_2 - A_1)_{\text{Blanco}}$$

Cálculos:

$$c = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ (g/l)}$$

V: Volumen final (ml)

v: Volumen de la muestra (ml)

MW: peso molecular de la sustancia a ensayarse (g/mol)

d: paso de luz (cm)

ϵ : coeficiente de NADH a:

$$340 \text{ nm} = 6.3 \text{ (l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$$

$$365 \text{ nm} = 3.4 \text{ (l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$$

$$334 \text{ nm} = 6.18 \text{ (l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$$

Cálculo para lactosa anhidra:

$$c = \frac{0.000 \times 0.42 \times 0}{2 \times 1.00 \times 0.400 \times 1000} \times \Delta A_{\text{Lactosa}} = \frac{11.00}{2} \times \Delta A_{\text{Lactosa}} \text{ (g/l)}$$

Cálculo para lactosa monohidratada:

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

$$C = \frac{0.200 \times 260.22}{2 \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{lactosa}} = \frac{11.89}{2} \times \Delta A_{\text{lactosa}} (\text{g/l})$$

Cálculo para D-Galactosa:

$$C = \frac{0.200 \times 180.16}{2 \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A_{\text{lactosa}} = \frac{9.43}{2} \times \Delta A_{\text{galactosa}} (\text{g/l})$$

Si la muestra fue diluida durante su preparación, los resultados deben multiplicarse por el factor de dilución F.

Cuando las muestras a analizar son sólidas o semisólidas se deberá pesar para la preparación de la muestra, los resultados serán calculados de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de lactosa} = \frac{C_{\text{Lactosa}} (\text{g/l}_{\text{muestra}})}{\text{peso de la muestra} (\text{g/l}_{\text{muestra}})} \times 100 \left(\frac{\text{g}}{100\text{g}} \right)$$

$$\text{Contenido de galactosa} = \frac{C_{\text{Galactosa}} (\text{g/l}_{\text{muestra}})}{\text{peso de la muestra} (\text{g/l}_{\text{muestra}})} \times 100 \left(\frac{\text{g}}{100\text{g}} \right)$$

1. Instrucciones para la preparación de la muestra:

La cantidad de lactosa y D- galactosa presente en la muestra puede estar entre 10 – 200 µg medidos a 365nm, o 4-100 µg medidos a 340nm o 334nm, respectivamente.

Tabla de Diluciones:

Cantidad estimada de Lactosa y D-Galactosa por litro		Dilución con agua	Factor de Dilución
340 o 334nm	365nm		
< 1.0 g	<2.0 g	---	1
1.0 – 10.0 g	2.0 – 20.0 g	1 + 9	10
10.0 – 100 g	20.0 – 200 g	1 + 99	100
>100 g	>200 g	1 + 999	1000

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Si la diferencia de absorbancia medida es demasiado baja por ejemplo < 0.100 , la muestra debería ser preparada nuevamente o el volumen de la muestra deberá ser pipeteada en cubetas que puedan aumentar 0.500ml (neutralizar la muestra previamente, si es necesario).

2. Información técnica

2.1. Muchos alimentos no contienen D-galactosa libre. La determinación de D-galactosa puede omitirse por consiguiente.

2.2. Si sólo se determinará D-galactosa, el procedimiento del ensayo puede continuarse sin la incubación después de la adición de la solución de la muestra.

2.3. El cálculo de los resultados puede hacerse en base de lactosa anhidra (peso molecular 342.3), que puede ser recomendado y en base de lactosa monohidratada (peso molecular 360.32). Cuando se comparan datos, uno tiene que asegurarse que el mismo peso molecular se ha usado para el cálculo (las cifras para lactosa monohidratada son 5% superiores que aquellos para lactosa anhidra).

3. Especificidad

Aparte de la D-galactosa, la galactosa deshidrogenasa también oxida L-arabinosa. Cantidades pequeñas de D-galactosa libre y L-arabinosa sólo aparecen en alimentos, si ellos han sido liberados de su enlace glucosídico natural debido a influencias químicas o enzimáticas.

En el análisis de lactosa monohidratada comercial (peso molecular 360.32) y de D-galactosa (peso molecular 180.16) resultados de $<100\%$ tienes que ser esperados porque los materiales absorben humedad.

4. Sensibilidad y límite de detección

La más pequeña diferencia de absorbancia para el procedimiento es 0.005 unidades de absorbancia. Esto corresponde a un volumen de muestra máximo $v=0.500$ ml y medido a 340nm de una concentración de lactosa de 2 mg/l, respectivamente 1mg de D-galactosa/litro de solución de la muestra (si $v=0.100$ ml, esto corresponde a

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

10mg de lactosa/litro, respectivamente 5 mg de D-galactosa/litro de solución de la muestra).

El límite de detección de 7mg de lactosa/l, respectivamente 4mg de D-galactosa/l se deriva de la diferencia de absorbancia de 0.020 (medido a 340nm) y un volumen de muestra máximo $v = 0.500\text{ml}$.

5. Linealidad

La linealidad de la determinación existe de aproximadamente 4 μg de lactosa + D-galactosa/ensayo (7mg de lactosa + D-galactosa/l de solución de la muestra, volumen de muestra $v = 0.500\text{ ml}$) a 200 μg de lactosa + D-galactosa/ensayo (2g de lactosa + D-galactosa/l de solución de la muestra; volumen de muestra $v = 0.100\text{ml}$).

6. Precisión

En una determinación doble de D-galactosa usando una solución de la muestra, una diferencia de 0.005 a 0.010 unidades de absorbancia puede ocurrir. Con un volumen de muestra de $v = 0.100\text{ ml}$ y medido a 340 nm, esto corresponde a una concentración de D-galactosa de aprox. 5-10 mg/l. (Si la muestra es diluida durante la preparación de la muestra, el resultado debe ser multiplicado por el factor de dilución F. Si la muestra es pesada en la preparación de la muestra, por ejemplo usando 1g de muestra/ $100\text{ml} = 10\text{ g/l}$, una diferencia de 0.05-0.1 g/100g puede esperarse).

En una doble determinación de lactosa usando una solución de la muestra, una diferencia de 0.010 a 0.015 unidades de absorbancia puede ocurrir en la presencia de D-galactosa en la muestra. Con un volumen de muestra de $v = 0.100\text{ ml}$ y medido a 340 nm, esto corresponde a una concentración de lactosa de aprox. 15-25 mg/l. (Si muestra es diluida durante la preparación de la muestra, el resultado debe ser multiplicado por el factor de dilución F. Si la muestra es pesada en la preparación de la muestra, por ejemplo usando 1g de muestra/ $100\text{ml} = 10\text{ g/l}$, una diferencia de 0.15-0.25 g/100g puede esperarse).

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Los siguientes datos para la determinación de lactosa y D-galactosa han sido publicados en la literatura:

Lactosa en chocolate:

$$x = 6.01 \text{ g/100 g} \quad s = 0.04 \text{ g/100 g} \quad CV = 0.7 \%$$

$$25 \text{ } \mu\text{g D-galactosa/ensayo} \quad CV = 0.95 \%$$

$$85 \text{ } \mu\text{g lactosa/ensayo} \quad CV = 1.13 \%$$

$$50 \text{ } \mu\text{g D-galactosa/ensayo} \quad CV = 0.64 \%$$

$$170 \text{ } \mu\text{g lactosa/ensayo} \quad CV = 0.78 \%$$

Leche y derivados:

$$\text{Lactosa:} \quad r = 0.05 \times (\text{contenido}_{\text{lactosa}} \text{ en g/100 g}) \text{ g/100 g}$$

$$R = 0.06 \times (\text{contenido}_{\text{lactosa}} \text{ en g/100 g}) \text{ g/100 g}$$

$$\text{D-Galactosa:} \quad r = 0.10 \times (\text{contenido}_{\text{D-Galactosa}} \text{ en g/100 g}) \text{ g/100 g}$$

$$R = 0.12 \times (\text{contenido}_{\text{D-Galactosa}} \text{ en g/100 g}) \text{ g/100 g}$$

$$\text{Lactosa en chocolate: } r = 0.188 \text{ g/100 g} \quad s_{(r)} = \pm 0.066 \text{ g/100 g}$$

$$R = 0.434 \text{ g/100 g} \quad s_{(R)} = \pm 0.153 \text{ g/100 g}$$

7. Interferencias reconocidas durante el procedimiento del ensayo

7.1. Si la conversión de D-galactosa se ha completado según el tiempo dado bajo “Procedimiento”, puede concluirse en general que no ha ocurrido interferencia.

7.2. En la conclusión de la reacción, la determinación puede ser reiniciada por adición de D-galactosa (cualitativo o cuantitativo): si la absorbancia es alterada subsecuentemente a la adición de material estándar, esto es también una indicación de que ninguna interferencia ha ocurrido.

La reacción no puede reiniciarse con la lactosa, debido a una alteración de las condiciones de la reacción de pH 6.6 a pH 8.6 (“cambio de buffer”).

7.3. El error del operador o interferencia de la determinación por la presencia de sustancias contenidas en la muestra puede reconocerse llevando a cabo una determinación doble usando dos volúmenes de muestra diferentes (por ejemplo

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

0.100 ml y 0.200 ml): las diferencias medidas en absorbancia deben ser proporcionales a los volúmenes de muestra usados.

Al analizar muestras sólidas, se recomienda que diferentes cantidades (por ejemplo 1g y 2g) sean pesados en frascos volumétricos de 100ml. Las diferencias de absorbancia medidas y los pesos de la muestra usados deben ser proporcionales para volúmenes de muestra idénticos.

El uso de volúmenes de muestra “único” y “doble” en dobles determinaciones es el método más simple para llevar a cabo un control del ensayo en la determinación de lactosa.

7.4. Una posible interferencia causada por sustancias contenidas en la muestra puede ser reconocida usando un estándar interno como un control: además de la muestra, determinaciones de blanco y estándar, una determinación adicional debe ser llevada a cabo con la muestra y la solución control de ensayo en el mismo ensayo. La recuperación puede calcularse de las diferencias de absorbancias medidas.

7.5. Las posibles pérdidas durante la determinación pueden ser reconocidas llevando a cabo pruebas de recuperación: la muestra debe ser preparada y analizada con y sin material estándar agregado. El aditivo debe recuperarse cuantitativamente dentro del rango de error del método.

8. Información general en la preparación de muestras

Llevando a cabo el ensayo:

Usar muestras líquidas claras, descoloridas y prácticamente neutras directamente, o después de la dilución acorde a la tabla de dilución y de un volumen de hasta 0.500 ml.

Filtrar soluciones turbias;

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tratar muestras “fuertemente coloreadas” que son usadas sin diluir o con un más alto volumen de muestra con polivinilpolipirrolidona o con poliamida, por ejemplo 1g/100ml;

Triturar u homogenizar muestras sólidas o semi-sólidas, extraer con agua caliente o disolver en agua y filtrar si es necesario; respectivamente remover turbiedades o materias colorantes por la clarificación de Carrez.

Desproteinizar muestras que contienen proteínas con ácido perclórico o con ácido tricloroacético; alternativamente clarificar con los reactivos de Carrez.

Extraer muestras grasas con agua caliente (temperatura de extracción debe estar por encima del punto de fundición de la grasa involucrada). Enfriar para permitir que la grasa se separe, llevar a la marca, colocar el frasco volumétrico en un baño de hielo por 15 minutos y filtrar; alternativamente clarificar con las soluciones de Carrez después de la extracción con agua caliente.

Rompa emulsiones con ácido tricloroacético o clarifique con soluciones de Carrez.

9. Determinación de lactosa en leche bebible, leche condensada y leche cortada.

Con precisión pesar aprox. 2g de leche dentro de un frasco volumétrico de 100ml. Diluir con aprox. 20ml de agua y agregar 1 ml de ácido tricloroacético (3M) para precipitación de las proteínas. Después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente neutralizar con NaOH (1M), aforar a 100 ml con agua, filtrar y usar la solución clara, posiblemente ligeramente opalescente para el ensayo.

En el caso de leche cortada, no hay necesidad de desproteinización.

Cuando la lactosa es determinada en leche bebible o leche condensada, la clarificación puede también ser llevada a cabo con los reactivos de Carrez. Cantidad pesada: aprox. 2g.

Solución control de Lactosa

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Concentración:

La solución control de lactosa es una solución acuosa estabilizada de lactosa.

Esta sirve como una solución control para la determinación enzimática de lactosa en alimentos y otros materiales.

Aplicación:

1. Adicionar la solución control de lactosa a la mezcla de ensayo.

En vez de la solución muestra, la solución control de ensayo es usado para el ensayo.

2. Reiniciar la reacción, cuantitativamente:

Al reiniciar la reacción con la solución control de lactosa, después de completada la reacción no puede realizarse bajo las condiciones del ensayo (Difosfato de potasio, pH 8.6) ya que la lactosa no reacciona en dichas condiciones. Si es necesario, reiniciar con 0.050 ml de una solución de D-galactosa (0.5 g/l).

3. Estándar interno:

La solución control de lactosa puede ser usada como un estándar interno y se utilizará para chequear la determinación de un correcto procedimiento (errores) y observar si la muestra está libre de sustancias que pueden interferir:

Pipetear en cubetas	Blanco de Lactosa	Muestra de Lactosa	Estándar de Lactosa	Muestra de Lactosa + Estándar
Solución 1	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
Suspensión 2	0.050 ml	0.050 ml	0.050 ml	0.050 ml
Muestra	---	0.100 ml	---	0.050 ml
Solución Control de lactosa	---	---	0.100 ml	0.050 ml
Mezclar, Continuar como se describe en "Procedimiento".				

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La recuperación del estándar es calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Recuperación} = \frac{2 \times \Delta A_{\text{Muestra} + \text{Estándar}} - \Delta A_{\text{Muestra}}}{\Delta A_{\text{Estándar}}} \times 100 (\%)$$

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 9

ANÁLISIS DE LOS TANQUES (LECHE CON LA ENZIMA LACTASA)

LECHE DESLACTOSADA				
ANÁLISIS DEL PRODUCTO EN PROCESO				
PRIMER LOTE				
Hora de agregación de la enzima: 08:00 a.m				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
09:00 a.m	6,8	5	12,6	-0,552
14:00 p.m	6,78	5	12,6	-0,643
17:00 p.m	6,8	5	12,6	-0,676
19:00 p.m	6,81	6	12,6	-0,699
07:00 a.m	6,8	6	12,6	-0,745
SEGUNDO LOTE				
Hora de agregación de la enzima: 10:00 a.m				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
11:50 a.m	6,81	8	12,6	-0,599
14:00 p.m	6,77	10	12,6	-0,624
17:30 p.m	6,8	10	12,6	-0,664
04:00 a.m	6.76	9	13.05	-0,723
TERCER LOTE				
Hora de agregación de la enzima: 5:00 a.m				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
06:00 a.m	6,8	7	12,6	-0,579
07:00 a.m	6,82	7	12,6	-0,584
16:30 p.m	6,81	9	12,6	-0,680
04:30 a.m	6.8	9	12.6	-0,731

Tabla 4: pH, Temperatura (°C), Acidez (°D), Punto Crioscópico (°H) del producto en proceso (Leche Semidescremada luego de la adición de la enzima) de los tres lotes a diferentes intervalos de tiempo.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 10

ANÁLISIS DEL PRODUCTO TERMINADO

LECHE DESLACTOSADA				
ANÁLISIS DEL PRODUCTO TERMINADO				
PRIMER LOTE				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
1	6,58	8	13,95	-0,745
2	6,58	8	13,95	-0,745
3	6,58	8	13,95	-0,745
4	6,58	8	13,95	-0,745
5	6,58	8	13,95	-0,745
6	6,58	8	13,95	-0,745
7	6,58	8	13,95	-0,745
8	6,58	8	13,95	-0,745
SEGUNDO LOTE				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
05:00 a.m	6,56	24	13,95	-0,724
06:30 a.m	6,55	26	13,95	-0,730
08:00 a.m	6,53	27	13,95	-0,721
09:30 a.m	6,54	28	13,95	-0,733
11:00 a.m	6,53	28	13,95	-0,733
12:30 p.m	6,56	28	13,95	-0,737
15:30 p.m	6,54	26	14,40	-0,745
17:00 p.m	6,56	29	14,40	-0,750
TERCER LOTE				
Hora	pH	T°C	Acidez °D	Punto Crioscópico °H
05:30 a.m	6,62	23	13,95	-0,730
07:00 a.m	6,62	24	13,95	-0,733
08:30 a.m	6,59	24	13,95	-0,721
10:00 a.m	6,59	25	13,95	-0,723
12:15 a.m	6,55	24	13,95	-0,736
14:00 p.m	6,6	26	14,40	-0,733
15:30 p.m	6,65	24	13,95	-0,732
16:00 p.m	6,69	25	13,95	-0,730

Tabla 5: pH, Temperatura (°C), Acidez (°D), Punto Crioscópico (°H) de la Leche Deslactosada de las ocho muestras de cada uno de los tres lotes.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 11

RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA DESDOBLADA MEDIANTE EL MÉTODO ENZIMÁTICO DE LOS TRES LOTES EN LECHE DESLACTOSADA

PRIMER LOTE									
MUESTRA	Peso (g)	Factor	A ₁	A ₂	A ₂ -A ₁	ΔA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
1	1,999	50,033	0,079	0,370	0,291	0,274	27,038	2,704	2,717
	2,002	49,963	0,057	0,351	0,294	0,277	27,296	2,730	
2	1,990	50,254	0,06	0,358	0,298	0,281	27,851	2,785	2,800
	1,997	50,068	0,065	0,367	0,302	0,285	28,143	2,814	
3	1,995	50,118	0,063	0,368	0,305	0,288	28,468	2,847	2,831
	2,010	49,751	0,056	0,360	0,304	0,287	28,162	2,816	
4	1,992	50,193	0,055	0,360	0,305	0,288	28,511	2,851	2,867
	2,005	49,873	0,057	0,367	0,310	0,293	28,821	2,882	
5	1,996	50,095	0,063	0,371	0,308	0,291	28,752	2,875	2,892
	2,020	49,505	0,058	0,373	0,315	0,298	29,096	2,910	
6	1,999	50,025	0,066	0,383	0,317	0,300	29,599	2,960	2,948
	2,001	49,968	0,070	0,385	0,315	0,298	29,368	2,937	
7	1,982	50,454	0,059	0,376	0,317	0,300	29,853	2,985	3,003
	1,999	50,038	0,055	0,378	0,323	0,306	30,199	3,020	
8	1,991	50,226	0,040	0,366	0,326	0,309	30,610	3,061	3,039
	2,014	49,662	0,048	0,373	0,325	0,308	30,168	3,017	
Blanco			0,026	0,043	0,017				

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 6: Peso en gramos, Factor de dilución (F), Absorbancias (A_1 y A_2) de la muestra, Diferencia de absorbancias de la muestra (A_2-A_1), Resta de la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra $\Delta A=(A_2-A_1)_{\text{Muestra}}-(A_2-A_1)_{\text{Blanco}}$, Lactosa desdoblada en g/l, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de las ocho muestras del primer lote con sus repeticiones, Promedio de Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de cada una de las ocho muestras del primer lote.

SEGUNDO LOTE									
HORA	Peso (g)	Factor	A_1	A_2	A_2-A_1	ΔA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
05:00 a.m	1,981	50,469	0,073	0,356	0,283	0,266	26,478	2,648	2,582
	1,991	50,218	0,075	0,346	0,271	0,254	25,158	2,516	
06:30 a.m	1,996	50,098	0,068	0,362	0,294	0,277	27,370	2,737	2,717
	2,012	49,709	0,063	0,355	0,292	0,275	26,961	2,696	
08:00 a.m	1,993	50,173	0,069	0,351	0,282	0,265	26,223	2,622	2,614
	2,021	49,493	0,075	0,359	0,284	0,267	26,063	2,606	
09:30 a.m	1,999	50,020	0,079	0,370	0,291	0,274	27,031	2,703	2,723
	1,999	50,038	0,090	0,385	0,295	0,278	27,436	2,744	
11:00 a.m	2,042	48,979	0,090	0,397	0,307	0,290	28,014	2,801	2,828
	1,990	50,254	0,087	0,392	0,305	0,288	28,545	2,855	
12:30 p.m	2,022	49,449	0,032	0,362	0,330	0,313	30,526	3,053	3,015
	2,040	49,015	0,045	0,370	0,325	0,308	29,775	2,977	
15:30 p.m	1,989	50,284	0,077	0,399	0,322	0,305	30,248	3,025	2,991
	1,968	50,816	0,080	0,392	0,312	0,295	29,566	2,957	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

17:00 p.m	1,968	50,808	0,062	0,384	0,322	0,305	30,564	3,056	3,083
	2,017	49,591	0,060	0,395	0,335	0,318	31,103	3,110	
Blanco			0,022	0,039	0,017				



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 7: Peso en gramos, Factor de dilución (F), Absorbancias (A_1 y A_2) de la muestra, Diferencia de absorbancias de la muestra (A_2-A_1), Resta de la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra $\Delta A=(A_2-A_1)_{\text{Muestra}}-(A_2-A_1)_{\text{Blanco}}$, Lactosa desdoblada en g/l, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de las ocho muestras del segundo lote con sus repeticiones, Promedio de Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de cada una de las ocho muestras del segundo lote.

TERCER LOTE									
HORA	Peso (g)	Factor	A_1	A_2	A_2-A_1	ΔA	Lactosa desdoblada (g/l)	Lactosa desdoblada (%P/V)	PROMEDIO (%P/V)
05:30 a.m	2,030	49,261	0,075	0,370	0,295	0,278	27,010	2,701	2,718
	1,997	50,068	0,080	0,374	0,294	0,277	27,353	2,735	
07:00 a.m	2,045	48,893	0,058	0,367	0,309	0,292	28,158	2,816	2,836
	2,009	49,778	0,063	0,371	0,308	0,291	28,570	2,857	
08:30 a.m	1,960	51,018	0,066	0,349	0,283	0,266	26,766	2,677	2,646
	2,021	49,480	0,070	0,355	0,285	0,268	26,154	2,615	
10:00 a.m	2,040	49,020	0,124	0,423	0,299	0,282	27,264	2,726	2,712
	1,997	50,088	0,105	0,395	0,290	0,273	26,969	2,697	
12:15 a.m	2,069	48,340	0,075	0,401	0,326	0,309	29,460	2,946	3,008
	1,991	50,221	0,088	0,415	0,327	0,310	30,706	3,071	
14:00 p.m	2,080	48,077	0,103	0,417	0,314	0,297	28,162	2,816	2,785
	1,940	51,538	0,081	0,369	0,288	0,271	27,547	2,755	
15:30 p.m	2,001	49,968	0,192	0,493	0,301	0,284	27,988	2,799	2,815
	2,020	49,507	0,084	0,391	0,307	0,290	28,317	2,832	

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

16:00 p.m	2,005	49,880	0,012	0,310	0,298	0,281	27,644	2,764	2,762
	1,995	50,138	0,020	0,316	0,296	0,279	27,589	2,759	
Blanco			0,022	0,039		0,017			

Tabla 8: Peso en gramos, Factor de dilución (F), Absorbancias (A_1 y A_2) de la muestra, Diferencia de absorbancias de la muestra (A_2-A_1), Resta de la diferencia de absorbancias del blanco de la diferencia de absorbancias de la muestra $\Delta A=(A_2-A_1)_{\text{Muestra}}-(A_2-A_1)_{\text{Blanco}}$, Lactosa desdoblada en g/l, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de las ocho muestras del tercer lote con sus repeticiones, Promedio de Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen de cada una de las ocho muestras del tercer lote.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 12

PORCENTAJES DE HIDRÓLISIS DE LACTOSA OBTENIDOS POR EL MÉTODO DE FEHLING Y EL MÉTODO ENZIMÁTICO DE LOS TRES LOTES.

LOTES	Muestra	Lactosa Total % (P/V)	Lactosa Desdoblada % (P/V)	Lactosa presente en Leche deslactosada % (P/V)	% Hidrólisis
PRIMER LOTE	1	4,501	2,717	1,784	60,364
	2	4,501	2,800	1,701	62,208
	3	4,501	2,831	1,67	62,897
	4	4,501	2,867	1,634	63,697
	5	4,501	2,892	1,609	64,252
	6	4,501	2,948	1,553	65,497
	7	4,501	3,003	1,498	66,719
	8	4,501	3,039	1,462	67,518
SEGUNDO LOTE	05:00 a.m	4,512	2,582	1,93	57,225
	06:30 a.m	4,512	2,717	1,795	60,217
	08:00 a.m	4,512	2,614	1,898	57,934
	09:30 a.m	4,512	2,723	1,789	60,350
	11:00 a.m	4,512	2,828	1,684	62,677
	12:30 p.m	4,512	3,015	1,497	66,822
	15:30 p.m	4,512	2,991	1,521	66,290
	17:00 p.m	4,512	3,083	1,429	68,329
TERCER LOTE	05:30 a.m	4,465	2,718	1,747	60,873
	07:00 a.m	4,465	2,836	1,629	63,516
	08:30 a.m	4,465	2,646	1,819	59,261
	10:00 a.m	4,465	2,712	1,753	60,739
	12:15 a.m	4,465	3,008	1,457	67,368
	14:00 p.m	4,465	2,785	1,68	62,374
	15:30 p.m	4,465	2,815	1,65	63,046
	16:00 p.m	4,465	2,762	1,703	61,859
PROMEDIO				1,662	

Tabla 9. Lactosa total en porcentaje peso/volumen presente en Leche Semidescremada, Lactosa desdoblada en porcentaje peso/volumen durante el proceso de deslactosamiento, Lactosa en porcentaje peso/volumen presente en la Leche Deslactosada, Porcentaje de Hidrólisis de lactosa de la Leche Deslactosada de las ocho muestras de cada uno de los tres lotes, Promedio de Lactosa en

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

porcentaje peso/volumen presente en Leche Deslactosada de las muestras de los tres lotes.

ANEXO 13

LÁCTEOS “SAN ANTONIO” C.A

TABLA DE VALORES NORMALES DEL PRODUCTO EN PROCESO Y PRODUCTO TERMINADO ESTABLECIDO EN LA EMPRESA DE LÁCTEOS “SAN ANTONIO” C.A.

LÁCTEOS SAN ANTONIO C.A.							
	pH	Grasa %	Acidez °D	Agua %	PC °H	PA	T °C
Leche	6,50-	1,1-	13,05-		-0.530 a		
Semidescremada	6,80	2,3	14,4	0	-0.560	Negativa	5-35°C
Leche	6,50-	1,1-	13,05-				
Deslactosada	6,80	2,3	14,4	0	Máx. -0,720	Negativa	5-35°C

Tabla 10. Valores establecidos por la empresa de Lácteos “San Antonio” de pH, Grasa (%), Acidez (°D), PC: Punto Crioscópico (°H), PA: Prueba del Alcohol, Temperatura (°C) de la Leche Semidescremada y de la Leche Deslactosada en base a la Norma INEN 708.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

GLOSARIO

CALOSTRO: Es el producto obtenido de los animales lecheros dentro de los quince (15) días anteriores y los siete (7) posteriores al parto.

LECHE DESLACTOSADA: Es la leche que ha sido sometida a un proceso de transformación parcial de la lactosa, por medios enzimáticos, en glucosa; y galactosa; conservando el resto de sus características y aportes nutricionales de acuerdo a las especificaciones técnicas de la leche que se denomine.

LECHE PASTEURIZADA: Es el producto obtenido al someter la leche cruda, a una adecuada relación de temperatura y tiempo para destruir su flora patógena y la casi totalidad de flora banal, sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas.

LECHE ULTRA-ALTA-TEMPERATURA UAT (UHT): Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo, aplicado a la leche cruda a una temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 y 4 segundos, de tal forma que se compruebe la destrucción eficaz de las esporas bacterianas resistentes al calor, seguido inmediatamente de enfriamiento a temperatura ambiente y envasado aséptico en recipientes estériles, cerrados herméticamente, para su posterior almacenamiento, con el fin de que se asegure la esterilidad comercial sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual puede ser comercializada a temperatura ambiente.

ENLACE GLUCOSÍDICO: Cierta tipo de grupo funcional que ensamble una molécula del carbohidrato (azúcar) a otra, que puede ser otro carbohidrato. En términos específicos, un enlace glucosídico se forma entre el grupo del hemiacetal de un sacárido (o de una molécula derivada de un sacárido) y el grupo de hidróxido de algún compuesto orgánico tal como un alcohol.

CRISTALIZACIÓN: La cristalización es un proceso en donde los iones, átomos o moléculas que constituyen la red cristalina crean enlaces hasta formar cristales, que se emplea en química con bastante frecuencia para purificar una sustancia sólida.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

SOLUCIÓN SATURADA: Solución que contiene la máxima cantidad de soluto que el solvente puede disolver a esa presión y esa temperatura.

ÁCIDO LÁCTICO: El ácido láctico, o su forma ionizada, el lactato (del latín: *lactis*, leche), es un compuesto químico que juega importantes roles en diversos procesos bioquímicos, como la fermentación láctica.

POLIMORFISMO: Fenómeno consistente en el hecho de que una misma sustancia puede tomar distintas formas cristalinas o distintas estructuras moleculares, según las condiciones eventuales.

B-GALACTOSIDASA O LACTASA: Es una enzima perteneciente a la familia de las disacaridasas, que se produce en el intestino delgado y que se sintetiza durante la infancia de todos los mamíferos. Su acción es imprescindible en el proceso de conversión de la lactosa, azúcar doble (disacárido), en sus componentes glucosa y galactosa.

MELANOIDES: Polímeros nitrogenados, no saturados, de color pardo, que se forman como resultado de las reacciones de Maillard.

BACTERIAS LÁCTICAS: Es un grupo muy heterogéneo de bacterias Gram positivas no esporuladas que tienen en común la capacidad de producir ácido láctico por fermentación de azúcares.

PROPIEDADES COLIGATIVAS: Aquellas propiedades de una solución que dependen únicamente de la concentración molal, es decir, de la cantidad de partículas de soluto por partículas totales, y no de la naturaleza o tipo de soluto.

SOLUCIONES VERDADERAS: En estos sistemas las partículas dispersas son moléculas o iones, su tamaño es menor a $0.001\mu\text{m}$. No son visibles ni siquiera con ultramicroscopio, y son sistemas homogéneos.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

KLUYVEROMYCES LACTIS: Es una levadura usada para estudios genéticos y aplicaciones industriales. Su nombre viene de la habilidad de asimilar la lactosa y convertirlo en el ácido láctico.

AUTORAS:

Daniela Juca C.
Patricia Pérez P.