



**TOGETHER**  
*for a sustainable future*

## OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50<sup>th</sup> anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



**TOGETHER**  
*for a sustainable future*

## DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

## FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

## CONTACT

Please contact [publications@unido.org](mailto:publications@unido.org) for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at [www.unido.org](http://www.unido.org)

19927

1/65

19927

26 p.  
tablas  
graficos

**DESARROLLO TECNOLOGICO PARA LA OBTENCION DE UNA ENZIMA QUE  
HIDROLICE LACTOSA DE LECHE Y SUERO**

**Proyecto : ONUDI/DP/RLA/83/003  
CONTRATO 91/089G**

**INFORME II - TERCER AÑO  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**

**Responsables:**

**YOLANDA RICO R.  
MARTHA L. MALAGON M.**

**Santafé de Bogotá, Diciembre 1992**

## TABLA DE CONTENIDO

### INTRODUCCION

1. ESTUDIOS DE ACEPTACION DE LA LECHE HIDROLIZADA EN POLVO
  - 1.1 Detección de una población adulta intolerante a la lactosa.
  - 1.2 Detección de la dosis máxima tolerada.
  - 1.3 Efectos de la sustitución de leche corriente por leche con lactosa hidrolizada.
  - 1.4 Estudio estadístico
  
2. DETERMINACION CROMATOGRAFICA DEL PORCENTAJE DE HIDROLISIS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

APENDICE A.

\*\*\*\*\*

## INTRODUCCION

Este trabajo corresponde al segundo informe (II) del tercer año, con lo cual concluimos el proyecto. Con este informe se da cumplimiento a los objetivos F y H, de los términos de referencia.

Los objetivos B, C, D, E y G se consignaron en el informe I del tercer año, enviado a Méjico el 29 de noviembre de 1991 via DHL conocimiento aéreo No. 52843016 2. También se enviaron muestras de la leche hidrolizada en polvo, con el Doctor Rodolfo Quintero el 27 de noviembre de 1991.

En este informe también se amplian los análisis fisicoquímicos realizados a la leche, especificando el porcentaje de hidrólisis obtenido, en la producción industrial de leche en polvo hidrolizada, el cual fue determinado empleando el método cromatográfico HPLC.

A continuación se detallan los términos de referencia:

- A. Firma del contrato.
- B. Hidrólisis y secado de 1000L de leche con la enzima de Méjico. Suministro de 1.5 Kg de enzima de 2000 U/g a partir de febrero.
- C. Análisis de costos del producto.
- D. Caracterización de la leche hidrolizada en polvo: contenido de humedad, densidad, índice de solubilidad, contenido de proteína, grasa y acidez titulable.
- E. Evaluación de la calidad microbiológica y organoléptica de la leche hidrolizada en polvo.
- F. Estudios de aceptación de la leche hidrolizada en polvo.
  - F.1. Detectar una población que requiera la leche hidrolizada.
  - F.2. Evaluar los beneficios del uso de la leche hidrolizada en dicha población.
- G. Informe I
- H. Informe II.

## **1. ESTUDIOS DE ACEPTACION DE LA LECHE HIDROLIZADA EN POLVO**

Con el fin de evaluar los beneficios de la leche en polvo con lactosa hidrolizada, se diseñó una metodología para:

- Detectar una población adulta intolerante.
- Determinar en dicha población el porcentaje máximo de lactosa tolerado.
- Evaluar los efectos en esta población al sustituir la leche corriente, sin hidrolizar, por leche con el 74 % de lactosa hidrolizada.<sup>1</sup>

### **1.1 Detección de una población adulta intolerante a la lactosa.**

Se seleccionó una población universitaria porque ella nos aseguraba seriedad en el trabajo, dado su alto nivel cultural, su formación investigativa y su responsabilidad para participar en los experimentos.

Se les hizo un llamado por medio de avisos, como el que se adjunta en el apéndice A. Como respuesta a este llamado se presentaron 35 personas que manifestaron sufrir algunos de los siguientes síntomas cuando ingerían leche o preparaciones con leche: distensión abdominal, náuseas, flatulencia, diarrea, malestar general, etc.

Se diseñó un cuestionario "Detección de población intolerante a la lactosa" para conocer antecedentes de la personas que se declararon intolerantes a la lactosa y el único criterio de exclusión fue hipoglicemia o diabetes.

Con el cuestionario (Apéndice A) se obtuvo la siguiente información:

- Cantidad de leche consumida y frecuencia diaria o semanal de consumo.

---

<sup>1</sup> Esta leche se nombrará en el resto del informe "leche en polvo con lactosa hidrolizada".

- Disminución o abolición del consumo de leche y/o preparaciones con leche. Edad y causa.
- Síntomas presentados después de ingerir leche y/o preparaciones con leche.
- Enfermedades intestinales padecidas.
- Antecedentes personales y familiares de hipoglicemia y diabetes.

## 1.2 Detección de la dosis máxima tolerada

Para determinar la dosis máxima tolerada, característica de cada persona, se elaboró un cuestionario llamado "Test de intolerancia" (Apéndice A), en el cual se registraron los síntomas presentados cuando ingirieron la leche con la dosis ensayada y se clasificaron de acuerdo con su magnitud en ligeros (1 punto), moderados (2 puntos), fuertes (3 puntos) y severos (4 puntos). A cada persona se le asignó un código, el cual comprende dos letras que corresponden a las iniciales del apellido y del nombre y un número que indica la edad.

Para iniciar estos ensayos se recomendó no consumir alimentos lácteos, ni preparaciones con leche, durante el período comprendido entre la víspera del ensayo y los dos días posteriores. También se les recomendó no consumir alimentos que les ocasionan trastornos digestivos.

Cada persona ensayó con dosis de 250 mL de leche sin hidrolizar (5% lactosa) y reportó los síntomas en el cuestionario de acuerdo con el grado de intensidad en el que se presentaron. Si la persona presentaba vómito o diarrea con la primera dosis se dió por concluido este ensayo y se designó ésta como la máxima dosis tolerada. Si estos síntomas no se presentaron, se les suministró una segunda dosis que consistía en 250 mL de leche sin hidrolizar, con adición de lactosa para llegar al 7,5%. A las personas que toleraron la segunda dosis, se les suministró una tercera dosis con el 10% de lactosa. Los resultados se presentan en la tabla No.1

De acuerdo con la literatura (3), cuando en los síntomas aparece vómito o diarrea, la persona se considera intolerante. Por esto a estos dos parámetros se les asignó 35% a cada uno, es decir para cada uno independientemente un valor mayor del total del "resto de síntomas" (30%).

Se calcularon los diferentes porcentajes de la siguiente manera:  
El primer dato (código Aa22) de la tabla No.2, tiene un puntaje de 7 para síntomas generales (SG) entonces, el porcentaje es:

$$\% \text{ SG} = (30\% \times 7) / 16 = 13.13\%$$

Para náuseas que tiene un puntaje de 1, el porcentaje se calcula:

$$\% \text{ N} = (35\% \times 1) / 4 = 8.75\%$$

y así para los demás.

Posteriormente se realizó la sumatoria de estos porcentajes, como se muestra en la tabla No.2.

Cuando la sumatoria para cada individuo, con diferentes dosis es menor a 18 %, se considera que los individuos no presentan intolerancia, aunque los individuos con códigos Pe28 y Pa50 que sufrieron náuseas presentaron un porcentaje total de 10,6% y 16,3% respectivamente. Una dosis mayor suministrada a estos individuos permite observar que Pa50 bajó a 5,6% y Pe28 subió a 23,1% permitiéndonos confirmar que se requiere un porcentaje mayor de 16,3% para definir si el individuo presenta intolerancia con la dosis ensayada.

### 1.3 Efectos de la sustitución de leche corriente por leche con lactosa hidrolizada.

Detectada la máxima dosis tolerada en la población seleccionada de 12 personas, se les suministró un formulario llamado "Test para leche hidrolizada".

La muestra consistió en leche en polvo con lactosa hidrolizada, la cual debería ser reconstituída adicionando a 13 g de leche con 100 mL de agua potable. Cada persona debió tomar la dosis de leche correspondiente al porcentaje de lactosa detectado como la máxima dosis tolerada.

Los resultados se muestran en la Tabla No.3, observándose que para todos los individuos la sumatoria calculada para los síntomas presentados, es menor a 18%. Por lo tanto en todos los casos desaparecen los síntomas de intolerancia cuando se consumió leche hidrolizada al 75%.



#### 1.4 Análisis estadístico

Posteriormente se realizó un análisis estadístico con los resultados de las Tablas Nos. 1 y 3, para determinar si existe diferencia entre los ensayos con leche sin hidrolizar y leche hidrolizada en polvo. Se utilizó un método no paramétrico, porque los datos se alejan de la normalidad, debido a que la variable tiene un intervalo finito.

Se aplicó la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney para dos muestras independientes de tamaño  $n_1$  y  $n_2$ , donde  $n_1 \leq n_2$ .

Para el análisis estadístico se estudiaron los datos que aparecen a continuación.

Intolerante a la lactosa Código	Leche sin hidrolizar (LSH) Porcentaje	Leche hidrolizada (LH) Porcentaje
Aa22	21,9	3,8
Ca30	21,3	1,9
Cs38	34,4	3,8
Ga30	23,8	0,0
Gc47	18,8	1,9
Lr51	21,3	0,0
Pa28	28,8	0,0
Pe28	23,1	0,0
Pm12	44,4	0,0
Ph57	41,3	0,0
Sg54	23,8	1,9
Sr34	20,0	0,0

Para determinar si hay diferencia entre los dos ensayos se plantea la hipótesis nula ( $H_0$ ) que dice: no hay diferencia entre los dos ensayos.

Inicialmente se asignaron rangos a las observaciones de ambas muestras en orden ascendente, así:

Para leche sin hidrolizar

18,8 (LSH).1; 20,0 (LSH).2; 21,3 (LSH).3; 21,9 (LSH).4; 23,1 (LSH).5; 23,8 (LSH).6; 28,8 (LSH).7; 34,4 (LSH).8; 41,3 (LSH).9; 44,4(LSH).10

Para leche hidrolizada

0,0 (LH).11; 1,9 (LH).12; 3,8 (LH).13.

Como el tamaño de las muestras es el mismo, se calculó un rango promedio (T).

$$T = (10 + 13) / 2 = 11,5$$

Se calculó  $T'$  teniendo en cuenta el tamaño de las muestras y el rango para comparar con los valores reportados en tabla, para esta prueba estadística.

$$T' = n_1 (n_1 + n_2 - 1) - T$$

$$T' = 12 (12 + 12 - 1) - 11,5$$

$$T' = 264,5$$

El valor tabulado para tamaños de muestras  $n_1 = 12$  y  $n_2 = 12$ , a un nivel de significancia de 0,01 es  $T' = 106$ . Como el valor calculado de  $T'$  es mayor que el esperado, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto se concluye que existe diferencia significativa entre los dos ensayos, leche sin hidrolizar y leche en polvo con lactosa hidrolizada, al nivel de significancia de 0,01.

**TABLA No.1**  
**PUNTAJES ASIGNADOS A LOS SINTOMAS PRESENTADOS CON LAS**  
**DIFERENTES DOSIS DE LACTOSA**

Código	Distens. Abdominal	Flatu- lencia	Náuseas	Diarrea	Malestar General	Dolor abdom.	Dosis max tolerada	Σ
Aa22 1D	2	2	1	0	1	2		8
2D	0	1	0	1	0	0	X	2
Bp36 1D	0	0	0	0	0	-	-	0
Ca30 1D	0	2	1	1	0	0	X	4
Cs38 1D	2	2	0	0	1	0	-	5
Ga30 1D	2	4	0	1	0	2	X	9
Gc47 1D	3	3	0	0	1	1		8
2D	3	4	0	0	1	2		10
3D	3	3	0	0	2	2	X	10
Gc58 1D	0	2	0	0	0	2	X	4
L155 1D	1	2	0	0	0	0		3
2D	1	3	0	0	0	0	-	4
Lr51 1D	0	2	0	2	0	0	X	4
Mj30 1D	0	1	0	0	0	0		1
2D	0	1	0	0	0	0		1
3D	0	1	0	0	0	0	-	1
Pa28 1D	2	2	0	2	2	0	X	8

1D: Dosis de 250 mL de leche (5,0% lactosa)  
2D: Dosis de 250 mL de leche (7,5% lactosa)  
3D: Dosis de 250 mL de leche (10,0% lactosa).

**TABLA No. 1**  
**PUNTAJES ASIGNADOS A LOS SÍNTOMAS PRESENTADOS CON LAS**  
**DIFERENTES DOSIS DE LACTOSA**  
**(Continuación)**

Código	Distens. Abdominal	Flatulencia	Náuseas	Diarrea	Malestar General	Dolor abdom.	Dosis max tolerada	Σ
Pa50 1D	2	2	0	0	2	1		7
2D	1	2	1	0	0	1	-	5
Pc30 1D	0	0	0	0	0	0		0
2D	0	0	0	0	0	0		0
3D	3	3	0	0	0	0	X	6
Pc47 1D	0	0	0	0	0	0		0
2D	1	1	0	0	0	0	-	2
Pe28 1D	0	1	1	0	0	0		2
2D	1	1	0	2	1	0	X	5
Ph57 1D	2	2	1	2	2	2	X	11
Pm12 1D	0	2	4	0	3	0	X	9
Sg54 1D	2	2	1	0	2	2	X	9
Sr34 1D	0	0	0	0	0	0	-	0
2D	0	2	0	0	0	0		2
3D	0	1	0	1	2	3	X	7
Um41 1D	2	2	0	0	0	2	X	6
2D	0	3	0	0	0	0	-	3

1D: Dosis de 250 mL de leche (5,0% lactosa)  
 2D: Dosis de 250 mL de leche (7,5% lactosa)  
 3D: Dosis de 250 mL de leche (10,0% lactosa).

**TABLA No.2**  
**INFLUENCIA DE LOS SINTOMAS EN EL ENSAYO**  
**CON LECHE SIN HIDROLIZAR**

CODIGO	Sínt. Gene- rales (SG)		Náuseas(n)		Diarrea (D)		Σ %	INTOLERANCIA Conclusión		
	Ptos.	%	Ptos.	%	Ptos.	%		SI	NO	DOSIS
Aa22 1D	7	13.1	1	8,8	0	0,0	21.9	X		1
Bp36 1D										
2D	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0		X	-
Ca30 1D	2	3,8	1	8,8	1	8,8	21,3	X		1
Cs38 1D	5	9.4	0	0,0	0	0,0	9.4			
2D	4	7,5	0	0,0	0	0,0	7,5			
3D	9	16,9	1	8,8	1	8,8	34,4	X		3
Ga30 1D	8	15,0	0	0,0	1	8,8	23,8	X		1
Gc47 1D	8	15,0	0	0,0	0	0,0	15,0			
2D	10	18,8	0	0,0	0	0,0	18,8			
3D	10	18,8	0	0,0	0	0,0	18,8	X		3
Gc58 1D	4	7,5	0	0,0	0	0,0	7,5		X	-
L155 1D	3	5,6	0	0,0	0	0,0	5,6			
2D	4	7,5	0	0,0	0	0,0	7,5		X	-
Lr51 1D	2	3,8	0	0,0	2	17,5	21,3	X		1
Mj30 1D	2	3,8	0	0,0	0	0,0	3,8			
2D	2	3,8	0	0,0	0	0,0	3,8			
3D	2	3,8	0	0,0	0	0,0	3,8		X	-

1D: Dosis de 250 mL de leche (5,0% lactosa)  
 2D: Dosis de 250 mL de leche (7,5% lactosa)  
 3D: Dosis de 250 mL de leche (10,0% lactosa).

SG: 16 puntos = 30%  
 n: 4 puntos = 35%  
 D: 4 puntos = 35%

-----  
 Σ 24 puntos 100%

**TABLA No.2**  
**INFLUENCIA DE LOS SINTOMAS EN EL ENSAYO**  
**CON LECHE SIN HIDROLIZAR**

(Continuación)

CODIGO	Sínt. Gene- rales (SG)		Náuseas(n)		Diarrea (D)		Σ %	INTOLERANCIA Conclusión		
	Ptos.	%	Ptos.	%	Ptos.	%		SI	NO	DOSIS
Pa28 1D	6	11,3	0	0,0	2	17,5	28,8	X		1
Pa50 1D	7	13,2	0	0,0	0	0,0	13,2			
2D	4	7,5	1	8,8	0	0,0	16,3		X	-
Pc30 1D	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0			
2D	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0			
3D	6	11,3	0	0,0	0	0,0	11,3		X	-
c47 1D	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0			
2D	2	3,8	0	0,0	0	0,0	3,8		X	-
Pe28 1D	1	1,9	1	8,8	0	0,0	10,6			
2D	3	5,6	0	0,0	0	0,0	23,1	X		2
Ph57 1D	8	15,0	1	8,8	2	17,5	41,2	X		1
Pm12 1D	5	9,4	4	35,0	0	0,0	44,4	X		1
Sg54 1D	8	15,0	1	8,8	0	0,0	23,8	X		1
Sr34 1D	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0			
2D	2	3,8	0	0,0	0	0,0	3,8			
3D	6	11,3	0	0,0	1	8,8	20,0	X		3
Um41 1D	6	11,3	0	0,0	0	0,0	11,3			
2D	3	5,6	0	0,0	0	0,0	5,6		X	-

1D: Dosis de 250 mL de leche (5,0% lactosa)  
2D: Dosis de 250 mL de leche (7,5% lactosa)  
3D: Dosis de 250 mL de leche (10,0% lactosa).

SG: 16 puntos = 30%  
n: 4 puntos = 35%  
D: 4 puntos = 35%

-----  
Σ 24 puntos 100%

TABLA No. 3  
 RESULTADOS DEL ENSAYO CON LECHE EN POLVO CON  
 LACTOSA HIDROLIZADA

CODIGO	Síntomas Generales (SG)				Diarrea (D)	Náuseas (n)	Σ %
	Distens. Abdominal	Flatu- lencia	Dolor abdom.	Malestar General			
Aa22	0	1	0	1	0	0	3,8
Ca30	0	1	0	0	0	0	1,9
Cs38	0	1	0	1	0	0	3,8
Ga30	0	0	0	0	0	0	0
Gc47	1	0	0	0	0	0	1,9
Lr51	0	0	0	0	0	0	0
Pa28	0	0	0	0	0	0	0
Pe28	0	0	0	0	0	0	0
Ph57	0	0	0	0	0	0	0
Pm12	0	0	0	0	0	0	0
Sg54	0	1	0	0	0	0	1,9
Sr34	0	0	0	0	0	0	0

SG: 16 puntos = 30%

n: 4 puntos = 35%

D: 4 puntos = 35%

-----  
 Σ 24 puntos 100%

## **2. DETERMINACION CROMATOGRAFICA DEL PORCENTAJE DE HIDROLISIS**

Para complementar el análisis fisicoquímico realizado a la leche en polvo hidrolizada, se determinó el porcentaje de hidrólisis por medio de cromatografía de alta eficiencia HPLC.

Se prepararon soluciones patrón de lactosa, glucosa y galactosa y se cuantificaron estos tres (3) azúcares, para calcular el porcentaje de lactosa hidrolizada.

### **Materia prima**

Leche en polvo con lactosa hidrolizada a escala industrial.

### **Materiales y métodos**

#### **Equipo**

Cromatógrafo de alta eficiencia marca Waters  
Columna: Sugar-pack I  
Detector: índice de refracción  
Fase móvil: acetato de calcio  $1 \times 10^{-4}$  M.

#### **Condiciones de operación**

Temperatura de trabajo:  $70^{\circ}\text{C}$   
Flujo:  $0,5 \text{ mL/min}$ .  
Temperatura interna del detector:  $35^{\circ}\text{C}$ .

#### **Preparación de las muestras**

Una muestra de leche en polvo y una muestra de leche en polvo con lactosa hidrolizada, se reconstituyeron en agua a una concentración del 13% p/v, se desproteinizaron agregando a 5mL de leche un mL de solución saturada de acetato de plomo. Se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se pasó por un filtro Whatman<sup>R</sup> 42, se hicieron diluciones al 25% y posteriormente se pasaron por un cartucho de limpieza de muestras Sep-pack<sup>R</sup> C-18.

Una vez realizado este tratamiento las muestras se pasaron por membranas de  $0,45 \mu\text{m}$  para retirar partículas, antes de ser inyectadas en el cromatógrafo de alta eficiencia.



### Preparación de estándares

Se prepararon soluciones de glucosa R.A., galactosa R.A. y lactosa R.A. al 0,2% p/v y una solución de la mezcla de los tres azúcares al 0,2% p/v en agua HPLC y se inyectaron en el cromatógrafo.

### Procedimiento

Se utilizó como fase móvil acetato de calcio  $1 \times 10^{-4}$  M y se inyectaron 10  $\mu$ L de las soluciones patrón para cuantificar el contenido de lactosa en la leche. Posteriormente se inyectaron 10  $\mu$ L de las muestras de leche.

### Cálculos y resultados

Los cálculos se realizaron de acuerdo a los datos obtenidos de los cromatogramas Nos. 1, 2 y 3 como se muestra a continuación.

El factor de respuesta RF es igual a:

$$RF = \frac{Ast}{[ ]st}$$

Donde Ast: área del estándar  
[ ]st: concentración del estándar

Leche en polvo sin hidrolizar

- Determinación de lactosa

$$RF = \frac{Ast}{[ ]st} = \frac{1247723}{0,2} = 6238615$$

$$[ ] \text{ lactosa} = \frac{Apr}{RF} = \frac{4511470}{6238615} = 0,72 \text{ (dilución 1:4)}$$

$$0,72 \times 4 = 2,88\%$$

$$\frac{2.88 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times \frac{6 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL H}_2\text{O}}{13 \text{ g leche}} \times 100 \text{ g leche} = 26.70\%$$

Concentración de lactosa en la muestra de leche sin hidrolizar en polvo: 26.70%

Leche en polvo hidrolizada

- Determinación de lactosa

$$[ \quad ] \text{ lactosa} = \frac{\text{Apr}}{\text{RF}} = \frac{1177092}{6238615} = 0.189 \times 4 = 0.76 \%$$

$$\frac{0.76 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times \frac{6 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL H}_2\text{O}}{13 \text{ g leche}} \times 100 \text{ g leche} = 6.97\%$$

Concentración de lactosa en la muestra de leche con lactosa hidrolizada en polvo: 6.97%

Si el 26.7% es la lactosa total en la leche en polvo, entonces el porcentaje de hidrólisis (%H) en la leche hidrolizada en polvo es:

$$\frac{100}{26.70} \times 6.97 = 26.10 \%$$

$$\text{Porcentaje de hidrólisis} = 100 - 26.10 = 73.9 \%$$

$$\% \text{ H} \approx 74\%$$

## CONCLUSIONES

1. Se diseñó un método para detectar una población adulta intolerante, que permitió asignar a cada individuo la máxima dosis de lactosa tolerada.
2. Se confirmó con un nivel de significancia del 0,01, que al suministrar la leche con un porcentaje de hidrólisis de la lactosa del 74% a individuos intolerantes, éstos no presentaron los síntomas sufridos cuando consumieron la leche sin hidrolizar.
3. El porcentaje de hidrólisis de la leche en polvo obtenida en el ensayo industrial es 74 % determinada por cromatografía de alta eficiencia HPLC.

## BIBLIOGRAFIA

1. Barnes, Lewis A. (1981). "Nutrition & Medical Practice" USA.
2. Cavalli-Sforza, L.; Strata, A.; Barone, A.; Cucurachi, L. (1987). "Primary Adult Lactose Malabsorption in Italy: regional differences in prevalence and relationship to lactose intolerance and milk consumption". American Journal Clinical Nutrition Vol. 45, pp:748-54.
3. Lee, Ch.; Hardy, C. (1989). "Cocoa feeding and human lactose intolerance"intolerance and milk consumption". American Journal Clinical Nutrition Vol. 49, pp:840-4.
4. Steel, R.; Torrie, J. (1988) Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda edición. Editorial Mc Graw-Hill. México.

**APENDICE A**

## LE HACE DAÑO LA LECHE ?

Si cuando usted ingiere leche presenta síntomas como distensión abdominal, náuseas, vómito, flatulencia, diarrea, malestar general, etc..., es posible que padezca el síndrome conocido como " Intolerancia a la lactosa " que se presenta porque no se digiere la lactosa, azúcar de la leche.

El Instituto de Biotecnología con la colaboración del ICTA y los departamentos de Química, Farmacia y Nutrición, está produciendo leche libre de lactosa. Con el fin de evaluar el efecto de la sustitución de leche común por leche SIN Lactosa, necesitamos detectar una población adulta que padezca este síndrome.

Si desea participar en la investigación, por favor comuníquese con MARTHA LUCIA MALAGON en el Instituto de Biotecnología, Edificio Manuel Ancizar, Tel. 2687621 ext. 113 de 8-12 a.m. , LEONOR MUÑOZ DE CORREAL of. 212 Depto. Farmacia o YOLANDA RICO of. 431 Dpto. Química.

**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PROYECTO LACTASA**

**DETECCION DE POBLACION INTOLERANTE A LA LACTOSA**

Fecha \_\_\_\_\_  
 Nombre \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_  
 Dirección \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_  
 Lugar de Nacimiento \_\_\_\_\_

1. **Consumo Usted actualmente.**

	Cantidad (Vasos)					Frecuencia	
	0	1/2	1	2	3	Diaria	Semanal
Leche	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Café con leche	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Chocolate con leche	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Jugos con leche	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Coladas	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Otros Lácteos	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

2. **Ha suspendido alguna vez el consumo de leche y/o preparaciones con leche?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

A qué edad? \_\_\_\_\_

Por qué la suspendió? \_\_\_\_\_

3. **Después de tomar leche y/o preparaciones con leche presenta:**

	Nunca	Ocasionalmente	Siempre
Distensión abdominal	_____	_____	_____
Flatulencia (gases)	_____	_____	_____
Dolor abdominal	_____	_____	_____
Diarrea	_____	_____	_____
Malestar General	_____	_____	_____

4. **Ha sufrido alguna enfermedad intestinal Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_**  
 Cuál? \_\_\_\_\_

5. **Es diabético Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No sé \_\_\_\_\_**

6. **Hay en su familia antecedentes de diabetes**  
 Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No sé \_\_\_\_\_

7. **Es hipoglicémico Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No sé \_\_\_\_\_**

Le agradecemos su amable participación.

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PROYECTO LACTASA

TEST DE INTOLERANCIA

Nombre \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Instrucciones: Por favor no consuma ningún alimento lácteo, ni preparaciones a las que se les haya adicionado leche, durante el periodo comprendido entre la víspera del ensayo y los (2) días posteriores. Tampoco consuma alimentos que usted conoce le ocasionan trastornos digestivos.

Marque con una equis (X) el grado en el que se presentaron los siguientes síntomas, después de ingerir la leche suministrada en el ensayo.

Dosis \_\_\_\_\_ Forma de Suministro \_\_\_\_\_

No    Ligera    Moderada    Fuerte    Severa

Distensión abdominal    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Flatulencia (gases)    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Náuseas    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Dolor abdominal    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Diarrea    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Malestar general    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Observaciones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Por favor entregue el formulario diligenciado en la Secretaría del Instituto de Biotecnología (Edificio Manuel Ancizar) o en los laboratorios 116 o 121 del Departamento de Química, durante la semana del ensayo.

Le agradecemos su amable participación.



INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PROYECTO LACTASA

TEST PARA LECHE HIDROLIZADA

Nombre \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Instrucciones: Por favor no consuma ningún alimento lácteo, ni preparaciones a las que se les haya adicionado leche, durante el periodo comprendido entre la víspera del ensayo y los (2) días posteriores. Tampoco consuma alimentos que usted conoce le ocasionan trastornos digestivos.

Para reconstituir la leche hidrolizada en polvo, por cada 250 mL. de agua potable, adicione 10 cucharadas rasas y licué hasta solubilización completa. Si la dosis es mayor incremente en forma proporcional las cantidades de agua y de leche en polvo.

Marque con una equis (X) el grado en el que se presentaron los siguientes síntomas, después de ingerir la LECHE HIDROLIZADA suministrada en el ensayo.

Dosis \_\_\_\_\_ Forma de Suministro \_\_\_\_\_

No    Ligera    Moderada    Fuerte    Severa

Distensión abdominal    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Flatulencia (gases)    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Náuseas    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Dolor abdominal    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Diarrea    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

Malestar general    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_    \_\_\_\_\_

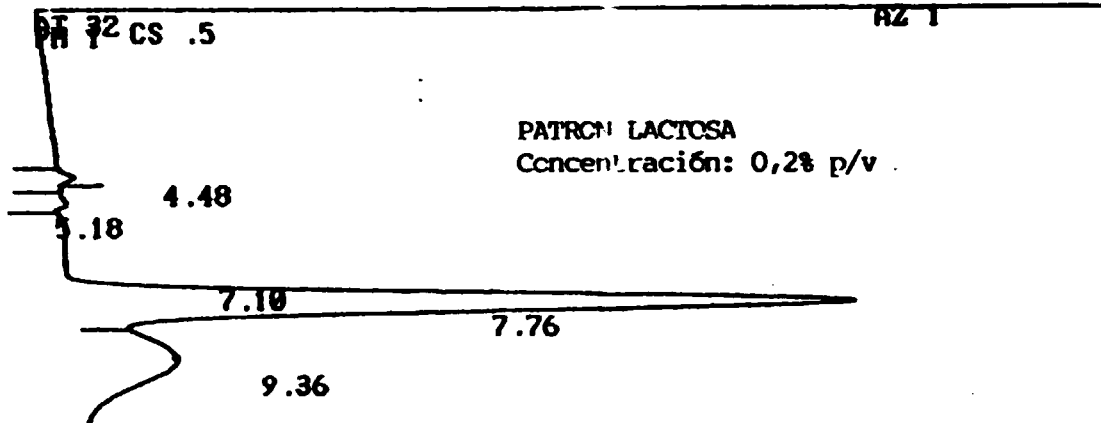
Observaciones \_\_\_\_\_

Por favor entregue el formulario diligenciado en la Secretaría del Instituto de Biotecnología (Edificio Manuel Ancizar) o en los laboratorios 116 o 121 del Departamento de Química, durante la semana del ensayo.

Le agradecemos su amable participación.

CROMATOGRAMA No. 1

CHANNEL B INJECT 05/15/92 09:32:15 STORED TO BIN # 65



DATA SAVED TO BIN # 65

FILE	METHOD	RUN	INDEX	BIN
1.	0.	1	1	65

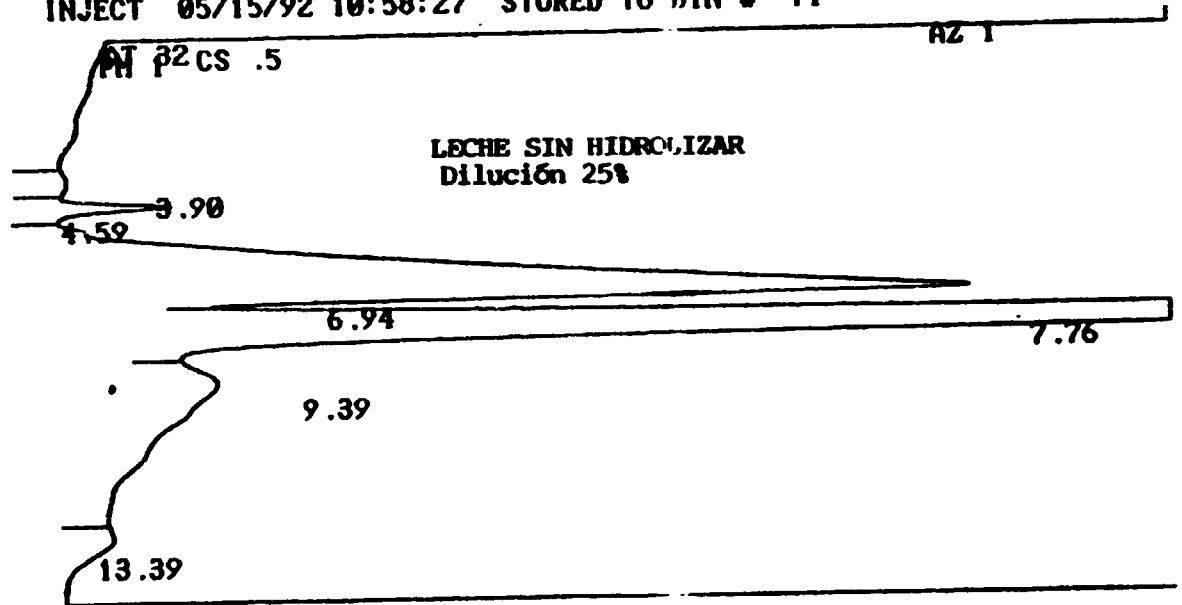
  

PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1	0.485	4.48	8141	01
2	0.339	5.18	5688	02
3	0.986	7.1	16573	02
4	74.266	7.76	1247723	02
5	23.924	9.36	401939	03
TOTAL	100.		1680064	

LACTASA 05/15/92 09:32:15 CH= "B" PS= 1.

CROMATOGRAMA No. 2

CHANNEL B INJECT 05/15/92 10:58:27 STORED TO BIN # 71



DATA SAVED TO BIN # 71

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.119	3.9	9670 02
2	0.875	4.59	71301 02
3	28.037	6.94	2285113 02
4	55.354	7.76	4511470 02
5	14.003	9.39	1141268 02
6	1.612	13.39	131408 03
TOTAL	100.		8150230

LACTASA 05/15/92 10:58:27 CH= "B" PS= 1.  
 FILE 1. METHOD 0. RUN 7 INDEX 7 BIN 71

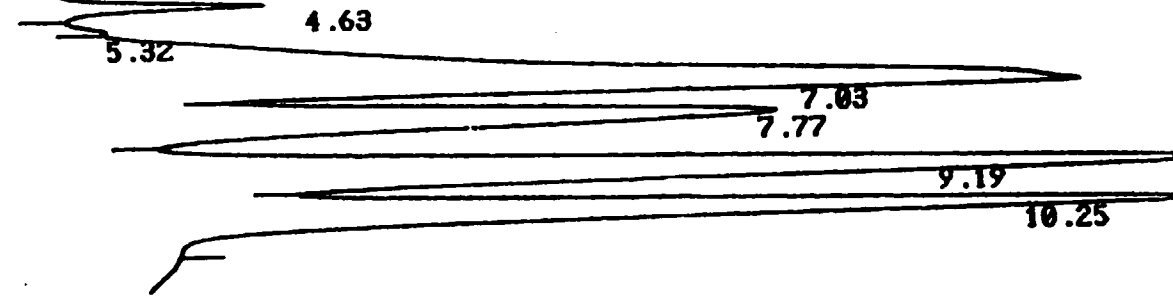
CROMATOGRAMA No. 3

CHANNEL B INJECT 05/15/92 10:44:50 STORED TO BIN # 70

AZ 1 AT 32

PH 1 CS .5

LECHE HIDROLIZADA  
Dilución 25%



DATA SAVED TO BIN # 70

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	1.702	4.63	126068 02
2	0.294	5.32	21770 02
3	34.761	7.03	2574378 02
4	15.894	7.77	1177092 02
5	25.678	9.19	1901641 02
6	21.671	10.25	1604907 03
TOTAL	100.		7405856

LACTASA 05/15/92 10:44:50 CH= "B" PS= 1.  
 FILE 1. METHOD 0. RUN 6 INDEX 6 BIN 70