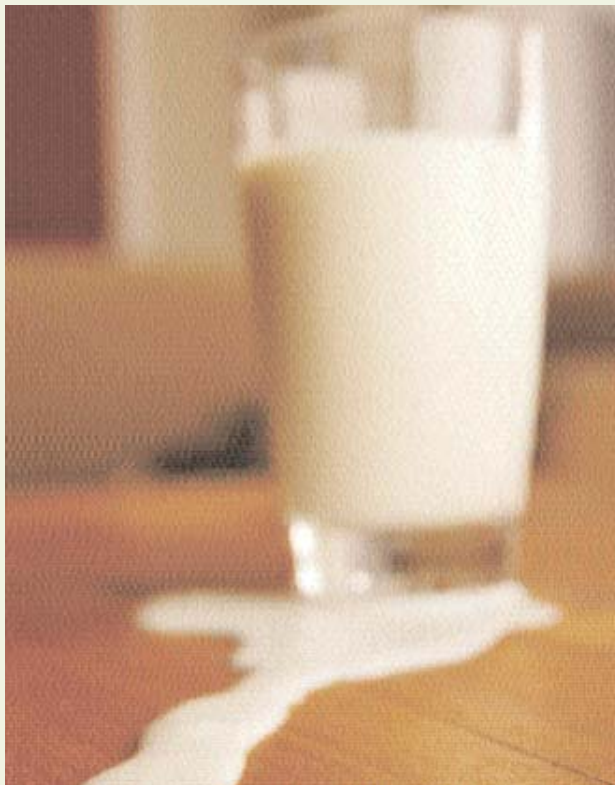


Intolerancia a la lactosa.

Productos lácteos modificados

Vénica C. I.; Perotti M. C.; Wolf I. V.; Bergamini C. V.; Zalazar C. A.
 Instituto de Lactología Industrial (INLAIN) - Universidad Nacional del Litoral (UNL) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Santa Fe, Argentina



Lactosa: definición e intolerancia

La leche es un alimento natural, esencial y bien balanceado para la alimentación del ser humano, ya que es fuente de proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerales y lactosa, entre otros componentes. Si nos referimos específicamente a la fracción glucídica, la lactosa -denominada comúnmente "azúcar de leche"- es única en la naturaleza, ya que se halla sólo en la leche de los mamíferos (vaca, cabra, oveja, etc.). La concentración en la cual se encuentra es muy variable, la leche humana tiene un elevado contenido de aprox. 7g/100 mL, mientras que en la leche bovina su nivel es inferior, 4,5-5g/100 mL [1, 2].

Desde el punto de vista nutricional, la lactosa es la principal fuente de energía en los primeros años de vida del ser humano, aportando prácticamente la mitad de la energía que requieren los infantes[3]. Al igual que otros azúcares, actúa como transportador de minerales, facilitando la absorción de los mismos, y es fuente de galactosa, nutriente esencial en la formación de galactolípidos cerebrales[1, 4].

Luego de su ingestión, la lactosa no se asimila directamente en el tracto digestivo, sino que necesita de una enzima denominada lactasa (o b-galactosidasa) que se encuentra en la mucosa de la parte superior del intestino delgado. Esta enzima actúa desdoblándola en sus componentes glucosa y galactosa, los cuales son transportados al hígado para ser utilizados finalmente como fuente de energía[1, 5, 6].

La lactasa ya está presente en el feto durante la segunda mitad del embarazo, alcanzando su máxima actividad poco después del nacimiento[7]. Posteriormente, es normal que se produzca una disminución progresiva de la enzima, la que se inicia en la infancia, adolescencia o en la edad adulta. La persistencia de la enzima está genéticamente controlada y varía entre las diferentes razas y grupos étnicos. De hecho, en poblaciones como las nórdicas los niveles de la enzima en la adultez son similares a los encontrados en la infancia. Se ha observado una variación en los niveles de enzima entre las diferentes personas; algunos adultos son capaces de digerir grandes cantidades de leche mientras que otros presentan síntomas de mala absorción de lactosa tras la ingesta de pequeñas cantidades.

Asimismo, se puede producir una disminución (reversible) de la enzima debido a una agresión a la mucosa intestinal provocada por virus, infecciones bacterianas o parasitarias, antibióticos, diarreas infecciosas, enfermedad celíaca, ingesta excesiva de alcohol, etc. Por otro lado, también puede ocurrir una deficiencia congénita de la enzima, es decir que la enzima falta desde el nacimiento, aunque este hecho no es muy común[4, 6, 8].

Cuando se tiene una disminución o ausencia de lactasa, la lactosa no digerida en el intestino delgado pasa al intestino grueso y allí es fermentada por las bacterias de la flora intestinal produciendo desórdenes intestinales, problema que se denomina intolerancia a la lactosa.

Los individuos con este problema sufren de molestos síntomas, tales como diarreas, distensión abdominal, náuseas, flatulencias, pérdida de apetito, cólicos intestinales, etc. La presencia de estos desórdenes depende de varios factores, tales como la cantidad de lactosa ingerida, la sensibilidad del individuo, la velocidad de vaciado gástrico, el tiempo de tránsito gastrointestinal y el tipo de flora del intestino grueso[3, 9, 10]. Otra consecuencia desfavorable, además de la disminución o ausencia de absorción de la lactosa, es la mala absorción de minerales, que en el caso particular del calcio podría ocasionar una descalcificación del esqueleto[11].

Muchas veces la intolerancia a la lactosa se confunde con la alergia a la leche de vaca, ya que los síntomas son a menudo similares, sin embargo ambos problemas no están relacionados. La alergia a la leche de vaca es una reacción hacia las proteínas (principalmente hacia una de las proteínas solubles de la leche, la b-lactoglobulina) provocada por el sistema inmune; a diferencia de la intolerancia a la lactosa que es un problema causado por el sistema digestivo, como ha sido mencionado. Esta reacción alérgica ocurre casi exclusivamente en los infantes^[12].

La intolerancia a la lactosa es una patología común en muchas partes del mundo; se estima que alrededor del 70% de la población mundial se ve afectada por este problema. En América del Sur, África y Asia la prevalencia es del 50%, pudiendo alcanzar un 100% en países como Japón y China. En Estados Unidos existen unos 50 millones de personas con este problema, variando la prevalencia desde un 15% en la población blanca hasta un 80% en la población negra. Solamente hay una escasa incidencia de personas intolerantes en Europa del Norte y Central, Islas Británicas, Australia y Nueva Zelanda^[3, 9, 13, 14].

Tratamientos para eliminar o reducir los síntomas de intolerancia a la lactosa

La solución al problema de la intolerancia a la lactosa consiste en eliminar parcial o totalmente de la dieta aquellos alimentos que contengan lactosa en su composición, tales como leche y productos lácteos, debido a que no existe ningún tratamiento para aumentar la habilidad del organismo para sintetizar la enzima lactasa. Sin embargo, dejar de consumir leche y sus productos derivados ocasiona que no se incorporen al organismo los niveles de calcio necesarios y otros nutrientes esenciales que la leche provee, por lo que encontrar un sustituto a la misma no resulta una tarea fácil^[15].

A las personas intolerantes usualmente se les recomienda regular el consumo de leche. La mayoría de los sujetos son capaces de digerir una pequeña cantidad sin sufrir síntomas, especialmente si la leche se consume junto a otro alimento^[8].

Por otro lado, existen en el mercado preparaciones farmacéuticas de la enzima b-galactosidasa que se han desarrollado para tratar este problema. Estas preparaciones en forma de tabletas se ingieren junto con los alimentos o pueden ser utilizadas para preparar en el hogar una leche con un menor contenido de lactosa^[3, 4]. Para ello se adiciona la enzima a la leche y se la deja toda una noche en el refrigerador^[16]. Si bien existen evidencias que el empleo de estas preparaciones provoca una disminución o alivio de los síntomas, las diferentes enzimas disponibles en el mercado parecen variar en su efectividad^[3].

La solución más efectiva y conveniente para tratar el problema de la intolerancia a la lactosa es con-

sumir leche y productos lácteos cuyo contenido de lactosa se ha reducido durante su proceso de obtención^[4]. De esta manera, los individuos intolerantes continuarían incorporando a la dieta los importantes nutrientes que aporta la leche.

La industria láctea ha trabajado incesantemente para brindar productos lácteos en los cuales el contenido de lactosa se reduce antes de su empaque y venta^[5, 14, 16]. Estos alimentos especiales están cada vez más al alcance del consumidor en todo el mundo. Los productos más difundidos son las leches fluidas pasteurizadas o esterilizadas (UHT), aunque también se pueden conseguir leches en polvo y, en algunos países, cremas, helados y leches fermentadas^[13]. Las líneas de productos más populares en los mercados de Europa y Estados Unidos incluyen los siguientes: "Lactaid", "Dairy Ease", "Mootopia", "HYLA®" de Valio Ltd. (Finlandia), "Emmi", "Kaiku" (España) y "Lacto-free" de Arla^[16]. Los primeros productos se lanzaron al mercado hace aproximadamente 30 años, a partir de lo cual las ventas se incrementaron lentamente y se espera que continúen haciéndolo.

En la Argentina, actualmente sólo una empresa láctea (www.laserenisima.com.ar/productos) fabrica productos con un contenido de lactosa inferior al encontrado naturalmente en la leche, entre ellos leches UHT y en polvo. El rótulo de estos productos indica que los mismos contienen 1g de lactosa en 100 mL.

Métodos aplicados en la industria láctea para reducir el contenido de lactosa

Varios métodos pueden emplearse para reducir o incluso eliminar en su totalidad la lactosa presente en los productos lácteos, de manera de obtener un alimento aceptable para las personas que no pueden digerir adecuadamente este azúcar. Uno de los procesos biotecnológicos más difundidos es la hidrólisis enzimática de la lactosa con la enzima b-galactosidasa en forma soluble o fijada a un soporte. El primero de estos métodos es el más ampliamente utilizado a escala industrial en procesos batch, debido a su fácil implementación y menor costo. En el mismo la lactasa se adiciona a la leche (o mezcla) a tratar y luego de la hidrólisis la enzima se inactiva por las condiciones de proceso aplicadas, por lo que no se la puede reutilizar. Esto constituye una desventaja para su implementación a nivel industrial. En el segundo método la enzima se localiza físicamente sobre una matriz sólida (reactor enzimático) que se incorpora a un proceso continuo, permitiendo su reutilización^[17, 18, 19].



Otras tecnologías empleadas incluyen la separación de la lactosa por métodos físicos como la ultrafiltración y la cromatografía. La ultrafiltración es un método de separación de membranas que separan los diferentes componentes de una mezcla fluida, basados en el tamaño molecular y las interacciones químicas entre los componentes del fluido y el material de membrana. Este proceso se usa para concentrar selectivamente algunas macromoléculas de la leche como proteínas, grasa, vitaminas liposolubles (corriente que se denomina concentrado o retentado), mientras que el agua, lactosa, minerales, urea, aminoácidos y vitaminas hidrosolubles atraviesan los poros de la membrana (corriente que se denomina permeado o filtrado)^[20, 21, 22]. El proceso de separación cromatográfica, desarrollado y patentado por una empresa finlandesa, se basa en la absorción/desorción selectiva de los componentes presentes en la leche en una resina de gran capacidad absorbente, lo que permite la eliminación completa de la lactosa. Con el mismo se obtiene una leche que contiene un nivel de lactosa inferior a 0,01%^[16, 23, 24].

Yogur: características y propiedades beneficiosas

Las leches fermentadas, incluido el yogur, son alimentos muy antiguos, cuyo origen no es preciso. Algunos les atribuyen el descubrimiento del yogur a los pueblos que habitaban la región de los Balcanes en la actual Bulgaria. Otros creen que las poblaciones nómades de Asia fueron los primeros en obtener este producto como resultado de conservar la leche en recipientes hechos a partir de pieles de animales. La leche se acidificaba por el desarrollo microbiano y se formaba un coágulo que aumentaba su consistencia a medida que el suero fluía a través de la piel y se evaporaba. De esta manera, se obtenía un producto que mantenía los valiosos nutrientes de la leche y que se conservaba por un tiempo más prolongado^[25, 26].

El efecto beneficioso de las leches fermentadas data de los trabajos del bacteriólogo ruso Elie Metchnikoff, quien en su libro "La prolongación de la vida" (publicado en 1908) atribuía el buen estado de salud y longevidad de la población de los Balcanes al consumo regular de grandes cantidades de leches fermentadas^[13, 27]. A lo largo de los años, muchos trabajos científicos han confirmado esta teoría. El yogur y leches fermentadas aportan efectos positivos hacia la salud del ser humano, sobre el metabolismo del colesterol, sistema inmune, enfermedades intestinales, cáncer de colon, actividad antioxidante, erradicación del *Helicobacter pylori*, enfermedades cardiovasculares y actividad antimutagénica^[25, 26, 27]. También varios estudios demuestran que la digestión de la lactosa mejora con el consumo de yogur, a pesar de que es un alimento que tiene un alto porcentaje, ya que durante el proceso de obtención

solamente se fermenta aproximadamente un 20% de la lactosa presente en la leche de partida. Esta mejor absorción de la lactosa en el tracto digestivo se cree que es debido en parte a que los microorganismos adicionados en la elaboración de yogur liberan la enzima *β*-galactosidasa durante el tránsito del alimento por el tracto intestinal. Además, al presentar el yogur una mayor consistencia en comparación con la leche, tiene la ventaja adicional de que su tránsito intestinal es más lento^[11, 28].

El yogur se obtiene por fermentación ácido láctica de la lactosa por la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, los que crecen en forma sinérgica en la leche. Estas bacterias degradan la lactosa produciendo ácido láctico, lo que provoca un cambio en la consistencia, partiendo de la leche líquida hasta obtener el yogur de aspecto firme o viscoso^[25, 26]. Una condición para que este producto lácteo pueda ser definido como yogur según el Código Alimentario Argentino^[29], es que los microorganismos en el producto final deben encontrarse en gran número y estar activos.

Este producto lácteo es reconocido como una excelente fuente de vitaminas del grupo B, tales como riboflavina (B2), tiamina (B1), ácido fólico (B9) y la vitamina B12^[30], y de minerales como calcio, magnesio, fósforo y zinc^[31]. Las altas concentraciones de minerales encontradas en el yogur sugieren un rol esencial como transportador de nutrientes. La absorción de los minerales no sólo depende del nivel en el cual se encuentren en el alimento sino también de la biodisponibilidad, que está relacionada con la solubilidad de la forma química del nutriente^[32, 33]. Como es bien conocido, la leche y el yogur contienen cantidades significativas de calcio, el cual se encuentra en un estado biodisponible. En particular, la baja acidez del yogur mejora la biodisponibilidad ya que los minerales están en forma iónica, lo que facilita la absorción intestinal^[31, 34].





El yogur contiene proteínas de alto valor biológico y digestibilidad, como resultado de los cambios en la matriz proteica que ocurren por el tratamiento térmico y producción de acidez durante el proceso de elaboración^[31]. Más recientemente, se ha puesto especial atención en el rol nutricional de ciertos componentes funcionales, tales como los galacto-oligosacáridos, péptidos bioactivos y ácido linoleico conjugado, los cuales se pueden generar in situ en la matriz alimentaria en ciertas condiciones o se pueden agregar como aditivos.

Los galacto-oligosacáridos (GOS) son carbohidratos no digeribles, ya que son resistentes a las enzimas pancreáticas y salivares, son estables al medio ácido del estómago y las enzimas del intestino delgado no los pueden digerir. Por otro lado, estos compuestos pueden ejercer un efecto positivo hacia la salud, ya que son fermentados por la flora beneficiosa del intestino grueso como las bifidobacterias (efecto prebiótico), evitando de esta manera el desarrollo de la flora indeseable^[35, 36, 37, 38], protegiendo de infecciones y facilitando las funciones intestinales. Pueden mencionarse además otros efectos beneficiosos, tales como la reducción de los niveles de colesterol en sangre, la prevención del cáncer de colon y el mejoramiento en la absorción del calcio^[38,39]. Los GOS están naturalmente presentes en la leche humana y en la de vaca, aunque en esta última se han encontrado en menor cantidad^[40]. Está bien documentada la adición de estos componentes en las fórmulas maternizadas, debido a su efecto prebiótico, y simular de esta manera lo más posible la leche humana^[41, 42].

Otro grupo importante de compuestos bioactivos es el de los péptidos, que presenta una gran diver-

sidad y múltiples actividades biológicas descritas como: antimicrobiana, antihipertensiva, inmunomodulante, antitrombótica, opiácea, antioxidante, anticariogénica, etc. Estos péptidos corresponden a fragmentos inactivos dentro de la proteína precursora, pero que pueden ejercer actividades biológicas específicas luego de su liberación in vivo durante la digestión gastrointestinal, y/o in vitro, mediante la acción de enzimas específicas o durante la elaboración del alimento^[43]. Dentro de este grupo de compuestos, los péptidos fosforilados derivados de las caseínas (proteína mayoritaria de la leche), han demostrado actividad anticariogénica, antioxidante, y además tienen una influencia en el metabolismo de varios minerales, mejorando su biodisponibilidad y absorción a nivel intestinal. La concentración de estos péptidos en yogur es mayor que en leche debido a la actividad proteolítica de las bacterias del fermento^[44].

El grupo de los ácidos linoleico conjugados (CLA) es una mezcla de isómeros del ácido linoleico, siendo su fuente principal los alimentos derivados de los animales rumiantes. Son considerados ácidos grasos esenciales, es decir que el organismo no los puede sintetizar sino que los debe incorporar con la dieta; su efecto positivo hacia la salud está asociado a que presentan propiedades anticarcinogénicas, disminución de la arterioesclerosis, estimulación del sistema inmune, reducción de la grasa corporal y de los niveles de colesterol. Los niveles de CLA en los productos lácteos son bajos y altamente variables, dependiendo de los métodos de producción y procesamiento empleados en la obtención del alimento^[45, 46]. En este sentido, la suplementación de las vacas con aceites (por ej. aceite de soja) ha mostrado un incremento en CLA en la leche^[47]. Se ha observado que los productos lácteos fermentados como el yogur pueden contener niveles elevados de CLA, ya que muchas de las bacterias que componen los fermentos tienen la capacidad para producirlos^[48, 49]. Por las razones mencionadas, el yogur es considerado un "alimento funcional". Los alimentos funcionales son los que cumplen una función beneficiosa en el cuerpo además del valor nutricional básico que se espera del mismo^[13, 27, 50].

Existen una gran variedad de leches fermentadas en el mercado mundial. Entre ellos, el yogur tiene una gran popularidad y su consumo ha experimentado un notable incremento en los últimos años. Esta tendencia ha motivado que la industria láctea desarrolle nuevas variedades de yogur como los adicionados con cereales y frutas, bajos en grasa, o los saborizados. También existen en la actualidad yogures en los que se han incorporado bacterias probióticas y sustancias prebióticas. Los probióticos son microorganismos vivos que luego de su ingestión ejercen un efecto beneficioso en el huésped^[13]. Los prebióticos son sustancias que estimulan selectivamente el crecimiento de la flora intestinal beneficiosa, favorecen la absorción de nutrientes como el calcio, disminuyen los niveles de colesterol sanguí-



neo e incluso reducirían el riesgo de cáncer intestinal^[1, 38]. Un ejemplo de prebiótico es la inulina, que se utiliza como un ingrediente natural dado que se extrae de varias especies vegetales (ajo, achicoria, cebolla).

En la actualidad, el mercado argentino posee una gran variedad de yogures que presentan las características mencionadas. Sin embargo, no se encuentran disponibles productos como leches fermentadas y yogur con una concentración reducida en lactosa. Ante esta situación, el desarrollo de un producto con estas características sería útil para satisfacer las necesidades de un sector de la población con problemas de intolerancia a la lactosa, a fin de que estas personas puedan consumir este alimento dada las importantes propiedades nutricionales y funcionales que este producto lácteo aporta.

Yogur reducido en lactosa

Los antecedentes publicados relacionados a la obtención de yogur reducido en lactosa son escasos. Algunos de ellos emplearon el proceso de hidrólisis enzimática, en el cual se hidrolizó la leche de partida adicionando una lactasa de origen microbiano y luego se aplicó el proceso de fermentación. Los porcentajes de hidrólisis de lactosa fueron menores al 70%^[51]. También se han elaborado yogures a partir de concentrados de leche por ultrafiltración. La leche descremada se sometió a ultrafiltración, luego se estandarizó el contenido de grasa y

proteína del concentrado y se llevó a cabo la fermentación. Los yogures obtenidos presentaron porcentajes de lactosa variables, entre 0,5 y 2,5%, en función de las condiciones de proceso utilizadas (tamaño de poro de la membrana, temperatura y presión)^[21, 52].

Como se mencionó anteriormente, existe en nuestro país un potencial mercado para el yogur deslactosado que no ha sido satisfecho hasta el presente. En este sentido, en el Instituto de Lactología Industrial (UNL/CONICET) se están llevando a cabo estudios con el propósito de desarrollar una tecnología para obtener yogur reducido en lactosa, ya que en el yogur tradicional se retiene prácticamente el 80% de la concentración de lactosa presente en la leche. Para ello se aplicó el proceso de hidrólisis enzimática empleando lactasa proveniente de *Kluyveromyces lactis*. Se realizaron experiencias de elaboración de yogur en las que se ensayaron diferentes variables tecnológicas a fin de establecer las condiciones más favorables para llevar a cabo el proceso de hidrólisis/fermentación: dosis de lactasa a adicionar a la leche, momento de agregado de la misma, pH de la leche y adición de ingredientes en polvo (sacarina, leche en polvo descremada, proteína de suero en polvo). Los productos obtenidos se compararon con yogures control sin adición de la enzima y se analizó el porcentaje de hidrólisis.

Los resultados obtenidos hasta el momento fueron muy satisfactorios, ya que se logró una reducción entre el 70% y el 90% en el contenido de lactosa presente en la leche de partida, dependiendo de las condiciones de proceso empleadas. De esta manera, se obtuvieron yogures con un nivel de lactosa inferior a 1,4%, valores similares a los declarados en las leches deslactosadas disponibles en nuestro país. Según la reglamentación del Código Alimentario Argentino, a estos productos se los rotularía como "yogur reducido en lactosa", ya que el contenido de lactosa se ha reducido como mínimo en un 70%. También el CAA establece los productos "bajos en lactosa", en los cuales dicho azúcar debe reducirse en un 95% como mínimo^[53].

De acuerdo a las experiencias realizadas hasta el momento, se considera que la tecnología desarrollada puede ser aplicada a nivel industrial para ampliar la gama de productos deslactosados presentes en el mercado lácteo de nuestro país.

Referencias

- 1 Schaafsma G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *Int Dairy J* 2008; 18: 458-65.
- 2 Fox P. Lactose: Chemistry and properties. In: McSweeney P, Fox P, Eds. *Advances dairy chemistry. Volume 3. Lactose, water, salts and minor constituents*. 3rd ed. United States: Springer 2009; pp. 1-13.
- 3 Vesa T, Marteau P, Korpela R. Lactose intolerance. *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 165S-75S.
- 4 Mlichová Z, Rosenberg M. Current trends of β -galactosidase application in food technology. *J Food Nutr Res* 2006; 45: 47-54.
- 5 Mahoney R. Enzymes exogenous to milk in dairy technology. *Beta-*

- D-Galactosidase. In: Roginski H, Fuquay J, Fox P, Eds. *Encyclopedia of Dairy Science*. London: Academic Press 2003; pp. 907-26.
- 6 Ingram C, Swallow D. Lactose malabsorption. In: McSweeney P, Fox P, Eds. *Advances dairy chemistry*. Volume 3. Lactose, water, salts and minor constituents. 3rd ed. United States: Springer 2009; pp. 203-22.
- 7 Schaafsma G. Lactose/Nutritional Significance of Lactose and Lactose Derivatives. In: Roginski H, Fuquay J, Fox P, Eds. *Encyclopedia of Dairy Science*. Volume 3. London: Academic Press 2003; pp. 1529-33.
- 8 Alm L. Lactose Intol. In: Roginski H, Fuquay J, Fox P, Eds. *Encyclopedia of Dairy Science*. Volume 3. London: Academic Press 2003; pp. 1533-9.
- 9 De Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics-compensation for lactase ins. *AJ. Clin Nutr* 2001;73:421-9.
- 10 Hertzler S, Clancy S. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 582-7.
- 11 Pochart P, Dewit O, Desjeux J F, Bourlioux P. Viable starter culture, b-galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 828-31.
- 12 Tuure T. Lactose Intolerance: From the origin to treatment. *IDF Symposium Lactose & its derivatives*. Moscow 2007.
- 13 Saxelin M, Korpela R, Mäyrä-Mäkinen A. *Func. Dairy Prod.* In: Gerrit Smit, Ed. *Dairy processing. Improving Quality*. Eng.: CRC Press 2003; pp. 229-44.
- 14 Messia M, Candigliota T, Marconi E. Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolysed milk. *Food Chem* 2007; 104: 910-7.
- 15 Brand J, Holt S. Relative effectiveness of milks with reduced amounts of lactose in alleviating milk intolerance. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 148-51.
- 16 Shakeel-Ur-Rehman. Reduced lactose and lactose-free dairy products. In: McSweeney P, Fox P, Eds. *Advances dairy chem*. Vol. 3 Lactose, water, salts and minor constituents. 3rd ed. USA: Springer 2009; pp. 98-103.
- 17 Grosová Z, Rosenberg M, Rebroš M. Perspectives and Applications of immobilized b-Galactosidase in food ind. *Czech J Food Sci* 2008; 26: 1-14.
- 18 Haider T, Husain Q. Hydrolysis of milk/whey lactose by b-galactosidase: a comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. *Chem Eng Process* 2009; 48: 576-80.
- 19 Song Y, Lee J, Kang S, Kim S. Performance of b-galactosidase pretreated with lactose to prevent activity loss during the enzyme immobilization process. *Food Chem* 2010; 123: 1-5.
- 20 Limsawat P, Pruksasri S. Separation of lactose from milk by ultrafiltration. *As J Food Ag-Ind* 2010; 3: 236-43.
- 21 Rinaldoni N, Campderrós M, Menéndez C, Pérez Padilla A. "Low lactose content yogurt by ultrafiltration". *Proceeding of 2nd Mecosur Congress on Chemical Engineering*. Rio de Janeiro, Brazil 2005.
- 22 Kelly, P. M. Membrane separation. In: Roginski H, Fuquay J, Fox P, Eds. *Encyclopedia of Dairy Sc*. Vol. 3. London: Academic Press 2003; pp. 1777-86.
- 23 Bargeman G. Separation technologies to produce dairy ingredients. In: Smit G, Ed. *Dairy processing. Improving Quality*. England: CRC Press 2003; pp. 366-87
- 24 Jelen P, Tossavainen O. Low lactose and lactose-free milk and dairy products – prospects, technologies and applications. *Aust J Dairy Tech* 2003; 58: 161-5.
- 25 Tamime A. Fermented milks: a historical food with modern applications – a review. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: S2-S15.
- 26 Prajapati J, Nair B. The history of fermented foods. In: Farnworth E, Ed. *Handbook of fermented funct. foods*. 2^o ed. USA: CRC Press 2008; pp. 1-24.
- 27 Ibeagha-Awemu E, Liu J, Zhao X. Bioactive components in yogurt products. In: Park Y, Ed. *Bioactive components in milk and dairy products*. Singapore: Wiley-Blackwell. 2010; pp. 235-250
- 28 Drouault S, Anba J, Corthier G. *Streptococcus thermophilus* is able to produce a b-Galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice. *Appl environ microbiol* 2002; 938-41.
- 29 Código Alimentario Argentino (CAA). Cap. VIII: Alimentos lácteos. Art. 576. www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp.
- 30 McKinley M. The nutrition and health benefits of yogurt. *Int J Dairy Tech* 2005; 58: 1-12.
- 31 Adolfsson O, Nikbin Meydani S, Russell RM. Yogurt and gut function. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 245-56.
- 32 Delisle J, Amiot J, Doré F. Biological availability of calcium and magnesium from dairy products. *Int Dairy J* 1995; 5: 87-96.
- 33 de la Fuente MA, Montes F, Guerrero G, Juárez M. Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yogurts. *Food Chem* 2003; 80: 573-8.
- 34 Singh G, Muthukumarappan K. Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *LWT-Food Sci Techno* 2008; 41: 1145-52.
- 35 Kunz C, Rudloff S. Health promoting aspects of milk oligosaccharides. *Int Dairy J* 2006; 16: 1341-6.
- 36 Gosling A, Stevens G, Barber A, Kentish S, Gras S. Recent advances refining galactooligosaccharides production from lactose. *Food Chem*. 2010; 121: 307-18.
- 37 Park A-R., Oh D-K. Galacto-oligosaccharide production using microbial b-galactosidase: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2010; 85: 1279-86.
- 38 Sako T, Matsumoto K, Tanaka R. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int Dairy J* 1999; 9: 69-80.
- 39 Splechtna B, Nguyen T-H, Steinböck M, Kulbe K, Lorenz W, Haltrich D. Production of prebiotic galacto-oligosaccharides from lactose using b-galactosidase from *Lactobacillus reuteri*. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 4999-5006.
- 40 Mussatto S, Mancilha I. Non-digestible oligosaccharides – a review. *Carbohydrate Polymers* 2007; 68: 587-97.
- 41 Playne M, Crittenden R. Galacto-oligosaccharides and other products derived. In: McSweeney P, Fox P, Eds. *Advances dairy chemistry*. Volume 3. Lactose, water, salts and minor constituents. 3rd ed. United States: Springer 2009; pp. 121-88.
- 42 Vandenplas Y. Oligosaccharides in infant formula. *Br J Nutr* 2002; 87: S293-S6.
- 43 Korhonen H, Pihlanto A. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int Dairy J* 2006; 16: 945-60.
- 44 Ferrazzano GF, Cantile T, Quarto M, Ingenito A, Chianese L, Addeo F. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization in vitro. *Aust Dent J* 2008; 53: 314-9.
- 45 Shanta NC, Ram LN, O'Leary J, Hicks CL, Decker EA. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J Food Sci* 1995; 60: 695-7.
- 46 Akalin AS, Tokusoglu Ö, Gönc S, Aycan S. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. *Int Dairy J* 2007; 17: 1089-95.
- 47 Boylston TD, Beitz DC. Conjugated linoleic acid and fatty acid composition of yogurt produced from milk of cows fed soy oil and conjugated linoleic acid. *J Food Sci* 2002; 67: 1973-8.
- 48 Sieber R, Collomb M, Aeschlimann A, Jelen P, Eyer H. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products. *Int Dairy J* 2004; 14: 1-15.
- 49 Lin TY. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. *Food Chem* 2000; 69: 27-31.
- 50 Korhonen, H. Bioactive components in bovine milk. In: Park Y, Ed. *Bioactive components in milk and dairy products*. Singapore Wiley-Blackwell. 2010; pp. 15-42
- 51 Nagaraj M, Sharanagouda B, Manjunath H, Manafi M. Standardization of different levels of lactose hydrolysis in the preparation of lactose hydrolysed yogurt. *Iranian J Veterinary Res* 2009; 10: 132-6.
- 52 Kosikowski F. Low lactose yogurts and milk beverages by ultrafiltration. *J Dairy Sci* 1979; 62: 41-6.
- 53 Código Alimentario Argentino (CAA). Cap. XVII: Alimentos de régimen o dietéticos. Art. 1372. www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp.