Formulación, fabricación y evaluación de una fórmula láctea para el Programa Nacional de Alimentación Complementaria en Chile

Judith King Ch.¹; Saturnino de Pablo V.¹;
Fernando Montes de Oca A.¹; Ricardo Uauy D.¹

Modified cow's milk formula for infants: design and quality control

The complementary feeding national programme (PNAC) delivers 2 kg-month of dried full-fat cow's milk (LP) to 0-1 year old infants. The purpose of this work was to design, produce and evaluate nutrient stability and shelf life of a modified LP milk formula (LPM), which seems nutritionally more adequate for infants and is of similar cost than LP, to be included into the PNAC. LPM has the following attributes: P% 12,0 (LP 21,8%); casein/whey proteins ratio: 40 to 50/60 to 50 (LP 80/20); more digestible fats; essential fatty acids: $\geq 4\%$ of total calories; vitamins and minerals which cover 100% daily requirements for 0 to 6 months old infants; protein and energy can be modulated between 1,5 and 2,25 g/100 ml and 50-75 kcal/100 ml respectively. Forty tons of LPM were produced in accordance with our specifications for a field study. Quality controls on the product showed the production feasibility of such a formula at a lower price than LP. To determine shelf life, periodical analysis of peroxides, available lysine, ascorbic acid and linoleic acid were carried out in LPM stored for 1 year at 20°C and 37°C. It was found that LPM has an optimum shelf life of 7 months when packed in the same material that is now being in use for LP. It is suggested that 3 kg-month of LPM could be delivered if the product is to be included into the PNAC, because in comparison with 2 kg-month of LP, this would mean an adequate protein supply, a 50% increase in energy supply and an additional cost of only 20%.

(Key words: infant formula, design, shelf life, quality control).

El Ministerio de Salud de Chile, a través del "Programa Nacional de Alimentación Complementaria" (PNAC) entrega 2 kg por mes de leche entera de vaca en polvo (LP) a los niños de 0 a 1 año.

La LP reconstituida a 10% aporta 2,7 g proteínas/100 ml, que equivalen a 5,45 g proteínas/100 kcal, muy por encima de las recomendaciones para niños de esta edad, que son entre 1,2 y 1,9 g proteínas/100 ml y 1,8 a 2,8 g proteínas/100 kcal¹. El aporte de proteínas, expresado como porcentaje de las calorías (P%), es considerablemente mayor para la leche de vaca (P% 21,8) que para la leche materna (P% 6,6), mientras las recomendaciones sugieren P% máximo de 11,2¹. El exceso de proteínas es potencialmente peligroso, ya que puede provocar aumento de amonio, aminoácidos y urea en la sangre, lo que contribuye a aumentar la carga osmótica renal. La entrega de 2 kg de LP a los

niños de 0 a 12 meses significa ofrecerles, en promedio, 17,98 g proteínas-día, que, según tablas de cobertura del Ministerio de Salud, sobrepasan los requerimientos proteicos diarios en rangos de 126% a 233%², mientras la cantidad de energía entregada (330 kcal-día) cubre, según las mismas tablas, entre 38,5% y 68,0% de los requerimientos diarios para niños de 6 a 11 y 0 a 2 meses, respectivamente². El exceso de proteínas obliga a diluir la leche para los lactantes menores, en muchos casos a 7 u 8% en vez de 10%, lo que implica aun menor cobertura diaria de energía por la leche, e indicaciones a la madre para agregar, como fuentes calóricas, azúcar (5%) y aceite (2%). Esta práctica presenta dificultades, como son la obtención de una mamadera que no es homogénea, cuyas fases tienden a separarse y a adherirse a las paredes con la consecuente reducción de las calorías disponibles y una manipulación adicional que aumenta los riesgos de contaminación microbiológica. Además la leche entera de vaca no cubre los requerimientos de vitaminas, minerales y ácidos grasos esenciales para este grupo etario.

¹ Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile.

Nos propusimos diseñar una fórmula para niños de 0 a 1 año de edad, que fuera nutricionalmente más balanceada pero a la vez no costara mucho más que la LP en uso para el PNAC, fabricar la fórmula diseñada y evaluarla química y nutricionalmente. En esta forma el proyecto abarcó globalmente las etapas de formulación, fabricación y control de calidad; evaluación nutricional en terreno (estudio longitudinal de crecimiento y evaluación del estado nutricional en lactantes sanos; calidad nutricional de LPM en lactantes sanos; aceptabilidad y tolerancia; balance metabólico; biodisponibilidad del hierro en LPM); estudio de la estabilidad de los nutrientes en la fórmula durante su almacenamiento.

Se presentan los resultados de formulación, fabricación y estabilidad del producto. Los restantes aspectos se presentarán en artículos separados.

Material y Métodos

Diseño de la fórmula. Se diseñó una fórmula en base a las recomendaciones para el grupo etario (ESPGAN¹, FAO/OMS/UNU², Codex 1976³) que se denominó LPM. La selección de materias primas para esta fórmula se hizo según la disponibilidad en el mercado, costo, composición y seguridad de calidad nutricional de los ingredientes. Se elaboraron las especificaciones técnicas para su fabricación y los controles de calidad necesarios para asegurar un producto óptimo al ser distribuido por el PNAC.

Fabricación de LPM. Una vez elaboradas las especificaciones técnicas, el Ministerio de Salud llamó a licitación y adjudicó la fabricación de 40 ton de LPM a una industria especializada. Las especificaciones fueron las siguientes:

LPM es una fórmula compuesta de leche entera de vaca, maltodextrinas, aceites vegetales, suero de leche, vitaminas y minerales. Su composición porcentual es: humedad 3,5; proteínas 15,0; grasas 26,0; cenizas 4,5; carbohidratos por diferencia y energía 500 kcal. Fuentes de proteínas: la totalidad de las proteínas proviene de leche con una relación caseína/lactosuero 40 a 50% de caseína y 60 a 50% de proteína de suero.

Fuentes de grasas: las grasas deben ser de origen lácteo en mínimo 25% y el resto de origen vegetal como maravilla, soya y maíz. El contenido de ácido linoleico debe corresponder como mínimo a 4% del total de las calorías.

Fuentes de carbohidratos: el alimento debe contener entre 30 a 40% de lactosa, un contenido máximo de 8% de sacarosa y el resto de los carbohidratos deben ser maltodextrinas provenientes exclusivamente de almidón.

Vitaminas y minerales: deben estar en cantidades suficientes por 100 g de producto para cubrir los requerimientos diarios de niños de 0 a 6 meses. Vitamina

A 1.500 UI, vitamina D 320 UI, vitamina E mínimo 0,7 mg-g PUFA, vitamina C 40 mg, vitamina B1 0,25 mg, vitamina B2 0,35 mg, niacina 5,0 mg, vitamina B6 0,25 mg, ácido fólico 25 microgramos, vitamina B12 0,95 microgramos, calcio 500 mg, fósforo 350 mg, magnesio 40 mg como cloruro, hierro 7 mg como sulfato, zinc 2,5 mg como acetato, yodo 32 microgramos como yoduro de potasio, cobre 0,45 mg como sulfato de cobre. Se fijan, además, los siguientes límites: sodio, no más de 450 mg y no menos de 100 mg-100 g de producto; potasio, no más de 1.200 mg y no menos de 400 mg-100 g de producto; cloruros, no más de 750 mg y no menos de 270 mg -100 g de producto. Relación Ca/P=1,2 a 2,0. Osmolalidad, no mayor de 300 mOsm/kg agua.

Una vez fabricada, la leche fue sometida a rigurosos controles de calidad con análisis microbiológico⁴, proximal⁵, de contenido de lactosa⁷, maltodextrinas⁸, lisina disponible⁹, ácido linoleico, ácido eláidico, ácidos grasos de cadena larga (> C 20) y ácido butírico⁹, grasa libre¹⁰, calcio, sodio, fósforo, potasio, cloruros, hierro, zinc⁶, ácido ascórbico¹¹, osmolalidad e índice de acidez⁹.

Evaluación de la estabilidad de nutrientes de LPM. La LPM se envasó en unidades de 1 kg utilizándose el mismo envase que para LP (caja de cartón y bolsa de polietileno). Durante el procesamiento y almacenamiento pueden ocurrir interacciones entre los diferentes componentes de un alimento lo que, a su vez, puede implicar la pérdida de su valor nutritivo. Las reacciones entre las proteínas y los azúcares reductores es la causa principal del daño nutricional de las proteínas, especialmente en productos lácteos. Lisina es el aminoácido que primero pierde su biodisponibilidad en estas reacciones por bloqueo de su grupo ϵ -amino^{12,13}. Las grasas sufren alteraciones especialmente por reacciones de oxidación de ácidos grasos insaturados. La LPM tiene un contenido mayor de ácidos grasos insaturados que la LP y mayor contenido de Fe, que a su vez tiene propiedades prooxidantes. Por lo tanto, era importante evaluar la estabilidad de los ácidos grasos mediante el índice de peróxidos y el contenido de ácido linoleico en la LPM, determinando así la duración de esta fórmula, en el mismo envase de polietileno empleado para LP, que es permeable a oxígeno y agua y que se utilizó para no aumentar el costo de la leche modificada. Por otra parte, la LPM, a diferencia de la LP, tiene mayor contenido de vitaminas, algunas de las cuales son más inestables en las condiciones de elaboración y almacenamiento: se eligió medir el ácido ascórbico por considerarse la vitamina más lábil bajo las condiciones de almacenamiento establecidas¹⁴.

Se determinó índice de peróxidos¹⁵ cada 15 días, lisina disponible⁹, ácido ascórbico¹¹ y ácido linoleico⁹ mensualmente durante su almacenamiento a 20°C y 37°C por un período de un año.

Resultado y discusión

Fabricación de LPM: control de calidad. Con estas especificaciones técnicas se fabricaron 40 ton para su evaluación en terreno. El control

de calidad del producto obtenido midió todos los parámetros indicados en materiales y métodos, ratificando los valores estipulados en las especificaciones técnicas y demostrando que es tecnológicamente posible fabricar una fórmula infantil, como la propuesta, para el PNAC.

El hecho de disminuir la proteína de P% 21,8 a P% 12 es en sí un avance en la fórmula. Actualmente varias fórmulas infantiles comerciales tienen la proporción de caseína: lactosuero = 40:60. Sin embargo, no está claro si esta relación tiene ventajas sobre la proporción 80:20 para los niños¹⁶. La relación 40:60 significa mejor balance aminoácido de la fracción proteica, mejor digestibilidad y absorción intestinal por el niño, especialmente el prematuro¹⁷. La caseína, a diferencia de las proteínas de suero, tiene contenido bajo de cistina, con relación metionina/cistina 7,7 comparada con 0,7 en el suero de leche. A veces la cistina no puede ser sintetizada a partir de metionina en recién nacidos, por tanto cistina, en estos casos, es esencial¹.

Prematuros alimentados con fórmulas con proteínas de leche modificadas y no modificadas, muestran diferentes concentraciones plasmáticas de aminoácidos, expresados como la razón aminoácido esencial individual: aminoácidos esenciales totales. En el caso de la ingesta de proteínas de leche modificadas, dicha relación es más semejante a la aminoácida del plasma sanguíneo después de consumir leche humana¹⁸.

Algunos autores han planteado que con una mayor exposición a β -lactoglobulina, principal proteína del suero de la leche de vaca, podría dar origen a reacciones alérgicas^{19,20}, sin embargo, estos temores podrían ser infundados ya que las fórmulas comerciales modificadas contienen como promedio 0,9 g proteínas suero/100 ml mientras la leche de vaca fluida contiene casi la misma cantidad (0,7 g proteínas suero/100 ml)²¹. Por otra parte, tanto caseína como β -lactoglobulina, α -lactalbúmina y albúmina han sido descritas como las proteínas antigénicas más importantes de la leche^{22,23}. De ellas, caseína y β -lactoglobulina mantienen sus propiedades antigénicas después de tratamientos térmicos²³. La caseína en medio ácido precipita y produce, dependiendo del proceso tecnológico al cual es sometida la leche, precipitados de diferentes características y digestibilidad²⁴. Las proteínas de suero no coagulan en medio ácido.

Si bien la cantidad de niños entre 0 y 3 meses

que recibiría esta fórmula es mínima, ya que este grupo etario debería estar con lactancia materna, es importante asegurar la adecuada calidad proteica también para ellos: con estas consideraciones se eligió una relación 40:60 y, por consideraciones económicas, se definieron rangos de 40 a 50:60 a 50.

Con respecto al tipo de grasa a utilizar en este tipo de fórmulas no existen recomendaciones precisas, aunque se sabe que la grasa de leche humana es mejor absorbida que la vegetal y la de leche de vaca²⁵. Las grasas animales y vegetales de diferente origen tienen distintas composiciones de ácidos grasos y distribuciones de ellos en triglicéridos. Estas diferencias influyen directamente en su absorción¹. Las grasas y aceites sufren transformaciones durante los procesos de hidrogenación e interesterificación, métodos que son muy utilizados en la industria de alimentos. La hidrogenación altera la configuración molecular y el número y ubicación de dobles enlaces que pueden tener importancia nutricional. Esto implica pérdida de ácidos grasos esenciales, transformación de la configuración cis a trans y posibles cambios de posición de dobles enlaces.

En el caso de aceites vegetales como maravilla, maíz y soya, estas transformaciones están bien identificadas: a partir del ácido linoleico cis-cis se pueden formar los isómeros cis-trans, trans-trans y el ácido elaídico (isómero trans del ácido oleico) en cantidades que van a depender del grado de hidrogenación. El ácido elaídico, a diferencia del ácido linoleico, es sólido a temperatura ambiente y se ha demostrado que, en lo que respecta a su incorporación al tejido adiposo y metabolismo, tiene un comportamiento intermedio entre ácido graso saturado e insaturado. Con los procesos de hidrogenación es posible obtener hasta 50% de ácido elaídico a partir de ácido linoleico u oleico²⁶. Para controlar esto, en el control de calidad para LPM, se estipula un contenido máximo de ácido elaídico de 20% de la grasa.

El contenido máximo de lactosa se fijó para no sobrepasar el valor de la lactosa presente en la LP (38%). Es importante, además, establecer el contenido mínimo, ya que la lactosa es el único carbohidrato que más tarde recibirá en forma regular el niño, evitando así posibles rechazos en el futuro al ingerir leche o alimentos lácteos. Además se ha descrito que la lactosa promueve más eficientemente la absorción de

calcio, magnesio y manganeso que los hidrolizados de almidón²⁷.

Si bien está demostrado el rol de la sacarosa en la patogénesis de caries dentales y se discute activamente su rol en el desarrollo de la obesidad y la arteriosclerosis²⁸, ella es incorporada normalmente a las mamaderas de LP para aumentar la ingesta calórica y endulzar el producto, en una concentración de 5% (p/v). Un contenido de 8 g de sacarosa por 100 g de LPM se consideró adecuado. Al reconstituir la LPM al 15% para los lactantes menores significa sólo 1,2% de sacarosa.

Estabilidad. La tabla 1 muestra los resultados de las mediciones destinadas a evaluar la estabilidad de la LPM. Se encontró alta estabilidad al cabo de 12 meses de almacenamiento a 20°C: lisina disponible 98,7% de retención; ácido linoleico 96,6% de retención y ácido ascórbico 93,3% de retención. La estabilidad disminuía al almacenar la LPM a 37°C. En lo que respecta al índice de peróxidos, por tratarse de un alimento para lactantes y no existir normas al respecto, establecimos como límite máximo aceptable un valor de 5 mEq O₂/kg grasa. De acuerdo a los resultados, dicho límite se alcanza al cabo de 7 meses de almacenamiento a 20°C.

Los resultados de estabilidad de los nutrientes durante el almacenamiento permiten concluir que la LPM elaborada para su evaluación en terreno, envasada en bolsa de polietileno y caja de cartón, tiene una duración máxima de 7 meses. Esto es muy importante para la programación de adquisiciones por parte del Ministerio de Salud. Sin embargo, hemos demostrado, en otro estudio posterior, que la LPM alcanza una duración máxima de 1 año bajo

condiciones de envasado que aumenten la protección frente a la oxidación de las grasas²⁹.

Leche entera (LP) versus LPM. La figura 1 muestra el aporte de proteínas, grasas, carbohidratos y cenizas de la leche humana, de LP reconstituida al 10% y de la LPM en dos fórmulas de reconstitución (10% y 15%) y como se comparan estos aportes con las recomendaciones para el grupo etario de 0 a 1 año de edad. Cabe hacer notar que la recomendación mínima de proteínas es superior al aporte proteico de la leche humana debido a que como el requerimiento proteico mínimo para un lactante menor de seis meses no se conoce con exactitud, se ha calculado un porcentaje de seguridad por sobre una ingesta conocida de leche materna que asegura un buen crecimiento. Estudios experimentales con proteínas de leche de vaca han demostrado que una ingesta de 1,74 g·kg·día es adecuada. La recomendación mínima está por sobre este valor¹. Se observa el desequilibrio de los macronutrientes de la LP en comparación con LPM. La LPM puede reconstituirse entre 10 y 15%, dependiendo de la edad y requerimientos energéticos del lactante. En la tabla 2 se compara el aporte de energía de estas leches. La energía disponible en LPM al 10% es semejante a LP. Sin embargo, al concentrarla al 15% para el lactante menor, se logra una densidad ideal sin sobrecarga proteica. Esto le otorga a LPM una ventaja muy importante, cual es la de ser modular. Para todos los parámetros de la tabla 2 se aprecia que la LPM se ajusta mejor a las recomendaciones que la LP.

La menor carga renal de solutos que implica LPM, por dilución de sodio, potasio, cloruros y proteínas, asegura mayor cantidad de agua libre

Tabla 1

Contenido de lisina disponible, ácido linoleico, ácido ascórbico e índice de peróxidos de LPM almacenada a distintas temperaturas

Tiempo (meses)	Lisina disponible (g/100 g proteína)		Ácido linoleico (g/100 g grasa)		Ácido ascórbico (mg/100 g LPM)		Índice de peróxidos (mEq O ₂ /kg grasa)	
	20°C	37°C	20°C	37°C	20°C	37°C	20°C	37°C
0	8,0	8,0	11,8	11,8	44,9	44,9	0,3	0,3
3	8,0	7,4	11,8	11,7	44,7	44,0	1,4	2,9
6	8,0	6,7	11,7	11,7	44,2	43,5	3,3	5,4
7	7,9	6,6	11,7	11,7	43,9	42,8	4,8	6,2
9	7,9	6,5	11,5	11,4	42,7	42,2	6,1	7,9
12	7,9	6,3	11,4	11,0	41,9	40,6	8,0	9,6

Fig. 1: Distribución de proteínas, grasas, carbohidratos y cenizas de leche humana, LP al 10% y de LPM al 10% y 15% de dilución.

Tabla 2

Análisis comparativo de LP y LPM

Energía		Kcal/100 ml	
• Recomendación (1)	:	64-72	
• LP al 10%	:	49,6	
• LPM al 10%	:	50,0	
• LPM al 15%	:	75,0	
		Contenido Acido Linoleico	Relación Calcio/Fósforo
• Recomendación (1)	:	≥ 3% del total de calorías	1,2 - 2,0
• LP	:	1,2% del total de calorías	1,27
• LPM	:	≥ 4% del total de calorías	1,50
Carga Soluta Renal		mOsm/lit	mOsm/100 kcal
• Máximo Recomendable	:	180	30,0
• LP	:	260	52,0
• LPM	:	107-160	21,4
• Leche humana	:	103	13,0

y permite mejor adaptación a situaciones donde las pérdidas de agua están aumentadas (fiebre, diarrea, altas temperaturas ambientales), disminuyendo el riesgo de deshidratación hipertónica.

Incorporación de LPM al PNAC. Al analizar la posible inclusión de la LPM al PNAC para niños de 0 a 1 año en sustitución de la LP, es necesario comparar la cobertura de proteínas y calorías de ambos productos en función de la cantidad distribuida. La tabla 3 muestra la cobertura de 2 kg.-mes de LP versus 3 kg.-mes de LPM. De ella se deduce que el reemplazo de LP por LPM no debiera ser por una cantidad menor a 3 kg.-mes de este último producto.

Consideraciones económicas. Dentro del objetivo de formular y desarrollar un alimento lácteo más adecuado para niños entre 0 y 12 meses se planteó que el costo del nuevo producto no debía ser mucho mayor al de la leche de vaca entera actualmente en uso, para que no implicara un costo mayor para el Programa.

De acuerdo a los costos de fabricación presentados por la mayoría de las industrias lecheras del país en el llamado a licitación pública que hizo el Ministerio de Salud por las 40 ton de LPM necesarias para el estudio de evaluación, la distribución de 3 kg.-mes de LPM habría implicado en ese momento un costo adicional para el Programa de 20% con respecto al de 2 kg.-mes de LP; esto representa un aumento de alrededor de 5% del costo del Programa completo, con los beneficios de aportes más adecuados de proteínas y aumento de 50% del aporte calórico.

Resumen

El Programa Nacional de Alimentación Complementaria (PNAC) entrega 2 kg.-mes de leche entera de vaca en polvo (LP) a niños de 0 a 1 año. El objetivo del trabajo fue diseñar, fabricar y evaluar la estabilidad de una fórmula láctea nutricionalmente más balanceada para este grupo etario y de costo similar al de LP para ser incorporada al PNAC. La fórmula, denominada LP Modificada (LPM), se caracteriza por: P% 12,0 (LP 21,8%); relación caseína/lactosuero: 40-50/60-50 (LP 80/20); grasas de mayor digestibilidad; ácidos grasos esenciales: 4% de calorías totales; vitaminas y minerales cubren 100% de los requerimientos diarios para 0 a 6 meses de edad; que permite modular aporte proteico entre 1,5 y 2,25 g.-100 ml y el aporte calórico entre 50 y 75 kcal.-100 ml. Se fabricaron 40 ton de LPM para el estudio en terreno de acuerdo a especificaciones técnicas elaboradas por nosotros. El control de calidad del producto demostró la factibilidad tecnológica de producirlo a un costo inferior a LP. Para determinar la estabilidad se analizaron peróxidos, lisina disponible, ácido ascórbico y ácido linoleico en LPM almacenada a 20°C y 37°C por un año, encontrándose que LPM en el mismo envase que LP tiene una duración óptima de 7 meses. La incorporación de LPM al PNAC debería considerar la entrega mínima de 3 kg.-mes al grupo de 0 a 1 año. Esto significa en relación a 2 kg.-mes de LP un aporte adecuado de proteínas y un aumento del aporte calórico de 50% con un costo adicional de 20%.

Tabla 3

Cobertura de energía y proteínas de LP y LPM

Edad (meses)	2 kg LP % cubierto/día		3 kg LPM % cubierto/día	
	Proteínas	Energía	Proteínas	Energía
0 - 1	210,3	66,0	175,4	100,0
1 - 2	196,3	60,0	163,8	90,9
2 - 3	173,6	54,1	144,8	82,0
3 - 4	152,2	50,4	127,0	76,3
4 - 5	137,4	47,5	115,2	71,9
5 - 6	128,1	45,2	106,8	68,5
6 - 9 ^a	121,1	38,6	101,0	58,5
9 - 12 ^b	120,9	31,4	100,9	47,6

Requerimientos y Peso Promedio según FAO/OMS/UNU (3).

^a Se consideró Peso Promedio de niños de 9 meses.

^b Se consideró Peso Promedio de niños de 12 meses.

(Palabras clave: leche de vaca modificada, fórmula láctea, alimentos para lactantes, composición, diseño, control de calidad, duración, almacenamiento.)

Referencias

1. *ESPGAN Committee on Nutrition: Guidelines on Infant Nutrition. I. Recommendations for the composition of an adapted formula. Acta Paed Scand* 1977; Suppl 262.
2. *Min. Salud, Chile: Manual del Programa Nacional de Alimentación Complementaria. 1988.*
3. *FAO/OMS/UNU: Energy Protein Requirements. Final draft. Rome 1983.*
4. *Codex Alimentarius Commission: Recommended International standards for foods for infants and children. FAO/WHO publication, CAC/RS 72/74-1976: 1976.*
5. *Thatcher, F.S. & Clark, D.S. Microorganisms in Foods. U. of Toronto Press, 1973.*
6. *AOAC. 1980. "Official Methods of Analysis". 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.*
7. *Banham, D. and Trinder, P.: Analyst* 1972; 97: 142-144.
8. *Hurrell, R.; Lerman, P. and Carpenter, K.: Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye binding procedure. J Food Science* 1979; 44: 1221-1225.
9. *FAO: Food Analysis: quality, adulteration and tests of identity. FAO Food and Nutrition Paper 14/8. Rome, 1986.*
10. *Stistrup, K. and Andreasen, J.: The influence of emulsifying and stabilizing agents on dispersity. A Grindsted Technical Paper, TP 203-1e. 1963; 3-14. Método adaptado.*
11. *Schmidt-Hebbel, H.: Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 1973. Editorial Universitaria.*
12. *Mauron, J.: Interaction between food constituents during processing. En: Research in Food Science and Nutrition Vol. 5 Food Science and Technology: Present status and future direction. Editado por McLoughlin, J., McKenna, B. Proceedings of the Sixth International Congress of Food Science and Technology, Dublin, September, 18-23, 1983. 1984, pp. 301-322.*
13. *Hurrell, R.; Carpenter, K.: Maillard reactions in foods. En: Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing. Editado por Hoyem, T., Kvale, O. Applied Science Publishers, 1977 pp. 168-184.*
14. *Benterud, A.: Vitamin losses during thermal processing. En: Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing. Editado por Hoyem, T., Kvale, O. Applied Science Publishers, 1977, pp. 185-201.*
15. *AOCS. 1971. "Official and Tentative Methods". 3rd ed. American Oil Chemists Society. Champaign, IL.*
16. *Fomon, S.: Reflections on infant feeding in the 1970s and 1980s. Am J Clin Nutr* 1987; 46: 171-182.
17. *Raiha, N.; Heinonen, K.; Rassin, D.; Gaul, G.: Milk protein quantity and quality in low birth-weight infants. I. Metabolic responses and effects on growth. Pediatrics* 1976; 57: 659-670.
18. *Heird, W.; Dell, R.; Winters, R.: Food and metabolism in infancy. Acta Paed Scand* 1982 Suppl 299: 24-32.
19. *Freier, S.; Kletter, B.; Gery, I.: Intolerance to milk protein. J Paediatr* 1969; 75: 623-631.
20. *Ratner, B.; Dvoretzky, M.; Oguri, S.: Studies on allergenicity of cow's milk. The allergenic properties of alpha casein, beta lactoglobulin and alpha lactalbumin. Pediatrics* 1958; 22: 449-452.
21. *Wharton, B.: Food for the suckling: Revolution and development. Acta Paed Scand* 1982 Suppl 299: 5-10.
22. *Goldman, A.; Anderson, D.; Sellers, W. et al.: Milk Allergy I. Oral challenge with milk and isolated milk proteins in allergic children. Pediatrics* 1963; 32: 425-443.
23. *Spies, J.: Milk allergy. J. Milk Food Technol* 1973; 36: 225-231.
24. *Anderson, S.; Chin, H. and Fisher, K.: History and current status of infant formulas. The American Journal of Clinical Nutrition* 1982; 35: 381-397.
25. *Metzler, A.: Infant formula. Acta Paed Scand* 1982 Suppl 299: 58-76.
26. *Gurr, M.: Trans fatty acids: Metabolic and nutritional significance. FIL-IDF Bulletin Nutrition and Metabolism. 1983 Document 166, 5-18.*
27. *Anderson, T.; Meenwisse, G.; Fomon, S.: Carbohydrates. En: Infant nutrition. Editado por Fomon, S. 1974, W.B. Saunders Company, p. 182.*
28. *Zeman, F.: Clinical nutrition and dietetics. The Collamore Press, 1983, pp. 126, 569.*
29. *King, J.; De Pablo, S.: Estudio de estabilidad de Leche Purita Modificada en tres envases diferentes. 1987. Informe presentado a COLUN.*