



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

PROYECTO TERMINAL

**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL:
PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y SENSORIALES**

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de los Alimentos

PRESENTA

Q.A. Carolina Guerrero Aguilar

Director

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Codirector

M. en C. Xóchitl Alejandra Pérez Marroquín

Comité tutorial

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Tulancingo de Bravo, Hidalgo, 18 de abril de 2023



COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

**Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos
 Apertura:**

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: “Elaboración de una bebida funcional: propiedades antioxidantes y sensoriales”, que desarrolla el estudiante Carolina Guerrero Aguilar

Asistentes:

- Dr. Gabriel Aguirre Álvarez**
- M. en C. Xóchitl Alejandra Pérez Marroquín**
- Dr. Rafael Germán Campos Montiel**
- Dr. Rubén Jiménez Alvarado**

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Carolina Guerrero Aguilar, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 18 de abril de 2023

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

M. en C. Xóchitl Alejandra Pérez Marroquín

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dr. Rubén Jiménez Alvarado



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,
 Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
 Teléfono +52 (771) 71 72000 ext. 2425
maestria_alimentos@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada (CVU 1076685) para la realización de los estudios de Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Gracias a mi director de tesis, el Dr. Gabriel Aguirre por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y formar parte de este proyecto de investigación, por el tiempo y apoyo brindado a mi formación profesional. Igualmente a mis compañeras del laboratorio por acompañarme en mi aprendizaje.

Muchas gracias a mi familia por su cariño y a mi esposo por apoyarme en mis sueños y estar conmigo en cada logro.

“Porque el Señor es bueno. Y su gran amor es eterno;
su fidelidad está con nosotros para siempre”.

Salmos 100:5 NBV

DEDICATORIA

*Al Dios Eterno que me da la vida
y mi amado Gael por creer en mí.*

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Lactosuero.....	2
2.1.1 Definición y generalidades.....	2
2.1.2 El lactosuero como residuo contaminante.....	2
2.1.3 Tipos de lactosuero lácteo.....	3
2.1.4 Composición del lactosuero lácteo.....	4
2.1.5 Proteínas del lactosuero.....	4
2.1.6 Aplicaciones industriales y tecnológicas.....	7
2.2 Compuestos bioactivos.....	10
2.3 Bioactividad.....	10
2.4 La leche y sus derivados como fuentes de péptidos bioactivos.....	11
2.4.1 Liberación de péptidos.....	11
2.5 Actividad antioxidante.....	14
2.5.1 Radicales libres.....	14
2.5.2 Estrés oxidativo.....	15
2.5.3 Péptidos de lactosuero lácteo con actividad antioxidante.....	16
2.6 Alimentos funcionales.....	17
2.6.1 Alimentos funcionales elaborados a partir de lactosuero.....	17
.....	19
2.6.2 Bebidas de lactosuero.....	19
2.6.3 Tipos de bebidas de lactosuero y sus ingredientes.....	20

3 JUSTIFICACIÓN	22
4 OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos específicos	23
5 HIPÓTESIS	24
6 MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1 Caracterización de la leche	26
6.2 Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce.....	26
6.3 Caracterización y almacenamiento del lactosuero	27
6.4 Elaboración de bases de lactosuero	27
6.5 Análisis proximal de bases de lactosuero	28
6.6 Determinación de actividad antioxidante de bases y bebidas de lactosuero 28	
6.6.1 Ensayo de inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)..	28
6.6.2 Ensayo de inhibición del radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfónico (ABTS).....	28
6.7 Determinación de peso molecular de proteína en bases y bebidas de lactosuero	29
6.8 Determinación de punto isoeléctrico en bases y bebidas de lactosuero ..	29
6.9 Determinación de potencial Z y tamaño de partícula en bases y bebidas de lactosuero	29
6.10 Determinación de propiedades térmicas en bases y bebidas de lactosuero 29	
6.11 Determinación de viscosidad en bases y bebidas de lactosuero	30
6.12 Determinación de color bases y bebidas de lactosuero	30

6.13	Ensayo de digestibilidad <i>in vitro</i>	30
6.14	Análisis microbiológico de bases y bebidas de lactosuero	30
6.15	Elaboración de bebidas de lactosuero	31
6.16	Caracterización de las bebidas de lactosuero.....	31
6.17	Análisis sensorial de bebidas de lactosuero	31
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
7.1	FASE 1: Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce .	33
7.1.1	Caracterización de la leche	33
7.1.2	Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce	33
7.1.3	Caracterización fisicoquímica del lactosuero	33
7.2	FASE 2: Elaboración y caracterización de cuatro bases de lactosuero ...	34
7.2.1	Caracterización de cuatro bases de lactosuero	34
7.2.2	Ensayos de determinación de actividad antioxidante por inhibición de radicales DPPH y ABTS en cuatro bases de lactosuero	36
7.2.3	Determinación de peso molecular de proteína en cuatro bases de lactosuero.....	38
7.2.4	Determinación de punto isoeléctrico de proteína en cuatro bases de lactosuero.....	39
7.2.5	Determinación de potencial Z y tamaño de partícula de cuatro bases de lactosuero.....	40
7.2.6	Determinación de propiedades térmicas de cuatro bases de lactosuero 41	
7.2.7	Determinación de viscosidad de cuatro bases de lactosuero	42
7.2.8	Determinación de color de cuatro bases de lactosuero	42
7.2.9	Ensayo de digestibilidad <i>in vitro</i> de cuatro bases de lactosuero.....	43

7.2.10	Análisis microbiológico de cuatro bases de lactosuero	44
7.3	FASE 3: Elaboración y caracterización de tres formulaciones de bebidas de lactosuero	45
7.3.1	Ensayos de determinación de actividad antioxidante por inhibición de radicales DPPH y ABTS en tres formulaciones de bebidas de lactosuero.....	45
7.3.2	Determinación de peso molecular de proteína en tres formulaciones de bebidas de lactosuero	46
7.3.3	Determinación de punto isoeléctrico de proteína en tres formulaciones de bebidas de lactosuero	47
7.3.4	Determinación de potencial Z y tamaño de partícula de tres formulaciones de bebidas de lactosuero	47
7.3.5	Determinación de propiedades térmicas de tres formulaciones de bebidas de lactosuero	48
7.3.6	Determinación de color de tres formulaciones de bebidas de lactosuero	49
7.3.7	Ensayo de digestibilidad in vitro de tres formulaciones de bebidas de lactosuero.....	50
7.3.8	Análisis microbiológico de tres formulaciones de bebidas de lactosuero	50
7.3.9	Análisis sensorial de tres formulaciones de bebidas de lactosuero ...	51
8	CONCLUSIONES.....	53
9	BIBLIOGRAFÍA.....	54
10	ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Composición del lactosuero dulce y ácido 4

Tabla 2. Principales fuentes de proteínas y sus péptidos con actividad biológica 13

Tabla 3. Tratamientos a realizar para obtener cuatro bases de lactosuero 27

Tabla 4. Ingredientes de tres formulaciones de bebidas de lactosuero 31

Tabla 5. Punto isoeléctrico de la proteína de cuatro bases de lactosuero. 40

Tabla 6. Potencial Z en mV y Tamaño de partícula (r.nm) de cuatro bases de lactosuero..... 41

Tabla 7. Propiedades térmicas de cuatro bases de lactosuero..... 42

Tabla 8. Parámetros Ciel*a*b de cuatro bases de lactosuero..... 43

Tabla 9. Porcentaje de digestibilidad de cuatro bases de lactosuero. 44

Tabla 10. Conteo de UFC/mL en tres diluciones de cuatro bases de lactosuero.. 44

Tabla 11. Propiedades térmicas de tres bebidas de lactosuero..... 49

Tabla 12. Parámetros Cel*a*b de tres bebidas saborizadas a base de lactosuero 49

Tabla 13. Porcentaje de digestibilidad de tres bebidas de lactosuero 50

Tabla 14. Conteo de UFC/mL de tres bebidas de lactosuero. 51

Tabla 15. Aprobación de los atributos sensoriales de tres bebidas de lactosuero 52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Alternativas de procesamiento para la creación de subproductos de lactosuero.....	9
Figura 2. Aplicaciones del lactosuero de acuerdo con su composición fisicoquímica.	19
Figura 3. Fases de la metodología para elaborar una bebida funcional a base de lactosuero.....	25
Figura 4. Composición fisicoquímica de cuatro bases de lactosuero.	35
Figura 5. Contenido de lactosa de cuatro bases de lactosuero obtenido por el método de azúcares totales con curva de lactosa.....	36
Figura 6. Cuantificación de la capacidad antioxidante de cuatro bases de lactosuero por inhibición de los radicales ABTS y DPPH.	38
Figura 7. Estimación de peso molecular de proteína de cuatro bases de lactosuero en geles de poliacrilamida.....	39
Figura 8. Cuantificación de la capacidad antioxidante de tres bebidas de lactosuero por inhibición de los radicales ABTS y DPPH.	46
Figura 9. Estimación de peso molecular de proteína de tres bebidas de lactosuero en geles de poliacrilamida.....	47

ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

°SH	grados Soxhlet-Henkel
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
B1	bebida 1
B2	bebida 2
B3	bebida 3
BAL	bacterias acidolácticas
BSA	albúmina de suero bovino
BSC	cloruro de bencenosulfonilo
CMP	caseinomacropéptido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
GMP	glicomacropéptido
GSH	glutación
HHL	histidil-hipuril-leucina
IC50	concentración inhibitoria al 50%
IG	inmunoglobulinas
kDa	kilodaltons
LF	lactoferrina
LP	lactoperoxidasa
PP	proteasa-peptona
RNS	especies reactivas de nitrógeno
ROS	especies reactivas de oxígeno
SH	suero hidrolizado
SHD	suero hidrolizado deslactosado
SN	suero nativo
SND	suero nativo deslactosado
TCA	ácido tricloroacético
Td	temperatura de desnaturalización
Tg	temperatura de transición vítrea
α-LA	α-lactoalbúmina
β-LG	β-lactoglobulina

RESUMEN

El lactosuero es un residuo agroindustrial que se obtiene de la elaboración de queso, representando un problema de contaminación ambiental debido a su alto contenido de nutrientes. En este proyecto se buscó atender dos problemas al elaborar una bebida funcional: el primero, aprovechar el lactosuero producido en la zona (la cuenca lechera de Tulancingo, Hgo.), y el segundo, atender la alta incidencia de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Sin embargo, uno de los principales problemas que tienen las bebidas de lactosuero que existen en el mercado es la baja aceptación del consumidor por el sabor astringente que presentan. Por ello, se elaboraron cuatro bases de lactosuero, nativas, deslactosadas e hidrolizadas con el fin de obtener péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes, y con ellas se propusieron tres formulaciones de bebidas saborizadas con café. Las bases y las bebidas se caracterizaron físicoquímica, funcional, microbiológica y sensorialmente para determinar el contenido de proteína, lactosa, lípidos, minerales, pH, peso molecular, propiedades térmicas, viscosidad, punto isoeléctrico, potencial Z, tamaño de partícula, actividad antioxidante y antihipertensiva, calidad microbiológica, parámetros Ciel*a*b y aceptación sensorial. Las proteínas nativas fueron hidrolizadas exitosamente, reflejando una reducción de peso molecular y tamaño de partícula (fracciones menores a 15 kDa y de 137 a 160 r.nm en las bases SH y SHD), mejorando la capacidad antioxidante hasta en un 84.82% (ABTS) en la base SHD. También se redujo la concentración de lactosa un 76% en las bases deslactosadas (SND y SHD). Se encontró que el punto isoeléctrico de las bases hidrolizadas y de las bebidas disminuyó y el potencial Z aumentó, siendo consistente con los valores esperados para las fracciones peptídicas. Sin embargo, se observó una desnaturalización térmica indeseable en las bebidas, posiblemente por el segundo tratamiento térmico al que fueron sometidas. Esto también afectó su estabilidad coloidal provocando agregación. Sin embargo, las bebidas tuvieron una buena calidad microbiológica y sensorial, siendo mejor aceptada por los panelistas la formulación B3, pues ocultó satisfactoriamente los sabores astringentes y amargos característicos del lactosuero.

1 INTRODUCCIÓN

En México y en el mundo, la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas se ha ido incrementando a través de los años. Por esto, la tendencia actual de los consumidores lleva a la búsqueda de alimentos saludables que les ayude a mejorar su calidad de vida. Es por esto por lo que este trabajo pretende desarrollar una formulación y elaborar una bebida con propiedades funcionales antioxidantes a base de suero lácteo hidrolizado, aprovechando este subproducto de la industria quesera dado que contiene compuestos con propiedades funcionales que se han estudiado previamente. Lamentablemente, aunque en el mercado ya existen bebidas fermentadas a base de lactosuero, la mayoría no tienen la aceptación del consumidor por considerar que sus propiedades sensoriales no son las adecuadas, como es el caso del sabor mayoritariamente. Para lograr obtener una bebida con las propiedades funcionales y sensoriales deseadas, se propone realizar tres formulaciones para la elaboración del producto, generarlo y caracterizarlo fisicoquímicamente a través de un análisis de proteína, grasa, carbohidratos y ceniza, medir el peso moléculas de las fracciones proteínicas obtenidas en la hidrólisis, cuantificar su viscosidad, color, biodisponibilidad, propiedades térmicas y antioxidantes para finalmente llevar a cabo pruebas de análisis sensorial de la bebida funcional final para evaluar apariencia, color, olor, y sabor, conociendo así el nivel de aceptación de la misma por el consumidor meta.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Lactosuero

2.1.1 Definición y generalidades

El lactosuero es el líquido acuoso y ligero de color amarillento que queda después de la remoción de la caseína y de la grasa de la leche a través de la coagulación isoeléctrica o inducida por cuajo. Generalmente se obtiene como un subproducto de la fabricación de queso o caseínas y caseinatos (Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2017). En la industria alimentaria, durante la fabricación de quesos y lácteos, se genera un volumen enorme de desechos líquidos, incluido el lactosuero. Por ejemplo, durante la elaboración de queso, casi el 90% de los residuos consiste en lactosuero (Khezri, Seyedsaleh, Emami, & Dehghan, 2016). En función de los cambios en el proceso de fabricación del producto lácteo primario hay variables en la composición del lactosuero resultante. Estas variaciones en los procesos de fabricación pueden alterar de forma importante los componentes que terminan en el lactosuero (de Wit, 2001).

2.1.2 El lactosuero como residuo contaminante

A nivel mundial, alrededor de un tercio de la leche se consume fresca; una cuarta parte se destina a la elaboración de queso y una quinta parte se transforma en mantequilla, leche en polvo y caseína. Lo demás se procesa en productos congelados, leche condensada y evaporada, entre otros (Durham & Hourigan, 2007). La demanda de mantequilla y sobre todo de queso se ha incrementado, minimizando el personal operario y aumentando el tamaño de las plantas productoras utilizando equipos automatizados y altamente eficientes, siendo que estos sofisticados sistemas de control de procesos han permitido ahorrar costos y mejorar la producción (OECD, 2021).

La producción mundial total actual de lactosuero se estima en alrededor de 180 a 190 millones de toneladas/año. Esta fabricación de productos lácteos a gran escala aumenta la carga ambiental sobre todo en áreas pequeñas, dificultando la eliminación de desechos líquidos, y permitiendo la proliferación del ruido y las

emisiones de gases en las cercanías de las plantas productoras (Yadav et al., 2015). En 2018, la producción industrial de queso en México fue de 453,553 toneladas y se estima que por 1 kg de queso producido se generan de 9 litros de lactosuero, lo que produciría cerca de 4 millones y medio de toneladas de lactosuero (CANILEC, 2018; Osorio-González et al., 2019).

Cada millón de toneladas de lactosuero contienen 50 mil toneladas de lactosa y 5 mil toneladas de proteína, constituyendo una riqueza nutricional potencialmente utilizable. De forma tradicional, el lactosuero se había considerado un desecho y para eliminarlo se buscaban los métodos más sencillos y menos costosos, por ejemplo, como alimento para animales (generalmente cerdos) vertido en tierra y cuerpos de agua. Aunque en muchas partes estas prácticas se siguen llevando a cabo, es inaceptable seguir con ellas (Fox et al., 2017). En México, el 85% es desechado y cerca del 47% del lactosuero lácteo es descargado al drenaje causando un serio problema de contaminación -expresado como DBO (demanda biológica de oxígeno) está entre 30.000 y 50.000 mg/L y como DQO (demanda química de oxígeno) entre 60.000 y 80.000- al llegar a ríos y suelos, en estos últimos disminuye el rendimiento de las cosechas y se dan fenómenos de lixiviación. (Parra Huertas, 2009; Valencia-Dencia & Ramírez-Castillo, 2009).

Por dichas razones medioambientales y gracias a la tecnología actual, es posible recuperar los componentes del lactosuero de una manera rentable. Es por esto que se busca aprovechar este residuo al generar ingresos extra a las empresas, disminuir la carga contaminante y asegurar la cobertura de las necesidades alimentarias de fuentes proteínicas de calidad (Araujo-Guerra, Monsalve-Castro, & Quintero-Tovar, 2013).

2.1.3 Tipos de lactosuero lácteo

De acuerdo con el procedimiento de fabricación del producto principal, se producen dos tipos principales de lactosuero:

- El lactosuero dulce se obtiene de la fabricación de queso o caseína mediante la coagulación de la leche con cuajo a un pH de aproximadamente 5.6 a 6.58.

Este lactosuero generalmente resulta de la producción de quesos duros y semiduros, por ejemplo, el queso Cheddar (Alsaed et al., 2013; Khezri et al., 2016).

- El lactosuero ácido resulta de la producción de quesos frescos como el requesón y de caseínas y caseinatos a través de la acidificación directa de la leche mediante cultivos de lactobacilos o ácidos minerales a un pH máximo de 5.1. El lactosuero obtenido tiene un pH de aproximadamente 3.5 a 5.1 (Khezri et al., 2016; Tsakali, Petrotos, D'Alessandro, & Goulas, 2010).

2.1.4 Composición del lactosuero lácteo

La composición de los lactosueros dulce y ácido, así como sus características sensoriales, varían dependiendo de la alimentación del animal que produjo la leche, la época del año y etapa de lactancia. De forma general, la composición de cada tipo de lactosuero se lista en la tabla 1 (Tsakali et al., 2010).

Tabla 1. Composición del lactosuero dulce y ácido

Constituyente	Lactouero dulce	Lactosuero ácido
Agua	93-94%	94-95%
Materia seca	6-6.5%	5-6%
Lactosa	4.5-5%	3.8-4.3%
Ácido láctico	Trazas	mayor a 0.8%
Proteínas totales	0.8-1.0%	0.8-1.0%
Proteínas de suero	0.6-0.65%	0.6-0.65%
Ácido cítrico	0.1%	0.1%
Minerales	0.5-0.7%	0.5-0.7%
pH	6.4-6.2	5.0-4.6
°SH *	cerca de 4	20-25

*donde 1 °SH= 0.0225% de ácido láctico. Adaptado de Tsakali et al. (2010)

2.1.5 Proteínas del lactosuero

Las proteínas del lactosuero son la parte soluble del sistema proteínico de la leche y constituyen el 20% del mismo. En el lactosuero, las proteínas son globulares con una gran cantidad de estructuras α -hélice, asimismo, sus cadenas polipeptídicas poseen aminoácidos ácidos-básicos e hidrófobos-hidrófilos distribuidos de manera balanceada. Estas proteínas globulares representan el 55% de la totalidad del

lactosuero, son estables ya que no coagulan por cambios de pH y para separarlas de la cuajada se requieren métodos manuales, mecánicos o térmicos (Madureira, Pereira, Gomes, Pintado, & Xavier Malcata, 2007). De acuerdo con Deeth y Banzal (2019), las proteínas del lactosuero pueden clasificarse en proteínas principales y secundarias, en gran medida por su abundancia en la leche, como se muestra a continuación:

2.1.5.1 Proteínas mayoritarias

β -lactoglobulina (β -LG)

Tiene un peso molecular de 18.266 kDa y es la proteína más abundante del lactosuero (~58-65%). Con una gran cantidad de estructuras β -hoja, presenta dos isoformas (β -LG A y β -LG B), con diferencias en dos aminoácidos: en la posición 64 el ácido aspártico y en la posición 118 la valina. Tiene un contenido bajo de aminoácido prolina y presencia de residuos de cisteína, metionina y cistina, que se han descrito como causantes de la baja estabilidad de la β -LG frente al tratamiento térmico. Sin embargo, ante los ácidos y enzimas proteolíticas presentes en el estómago, la estructura globular de esta proteína es notablemente estable (Hernández-Ledesma, Recio, & Amigo, 2008). En la β -LG está presente una estructura proteínica capaz de unirse al retinol, lo que la hace una buena portadora de moléculas hidrófobas pequeñas como el ácido retinoico. Esta proteína también puede unirse a ligandos hidrófobos como los ácidos grasos (Gupta & Prakash, 2017). También representa la proteína con mayor índice de alergenicidad en los consumidores (Araujo-Guerra et al., 2013).

α -lactoalbúmina (α -LA)

Tiene un peso molecular de 14.2 kDa. Es la segunda proteína más abundante (~25%) y se conforma por una cadena polipeptídica de 123 aminoácidos variados, incluidos aminoácidos esenciales y de cadena ramificada altamente disponibles. La enzima lactosa-sintasa está constituida por α -LA, de forma que la cantidad de lactosa en la leche se relaciona directamente con la cantidad de α -LA. Su estructura está bien estabilizada por puentes disulfuro, lo que significa que por sí sola puede

desplegarse cuando se calienta y replegarse a algo parecido a su forma nativa. En presencia de otras proteínas reactivas, como la β -LG, se pueden formar enlaces cruzados entre las proteínas, lo cual conduce a que se vuelvan inestables (Madureira et al., 2007).

Inmunoglobulinas (IG)

También llamados anticuerpos debido a su función biológica de dar protección contra toxinas y microorganismos patógenos. Se encuentran en mayor concentración en el calostro, pero en el lactosuero las IG representan cerca del 15-20%, siendo las IGG₁, IGG₂, IGGa e IGM los tipos mayoritarios presentes. Todas las IG tienen una estructura básica similar, ya que están compuestas por dos cadenas ligeras idénticas (cada una con un peso molecular de 23 kDa aproximadamente) y dos cadenas pesadas idénticas (cada una con cerca de 53 kDa) (Marnila & Korhonen, 2011).

Albúmina de suero bovino (BSA)

Es una proteína grande que constituye aproximadamente el 10-15% de la proteína de suero total. Está integrada por aminoácidos esenciales, tiene un peso molecular de 69 kDa, posee 17 grupos disulfuro y un grupo sulfhidrilo libre, y no contiene fósforo. La molécula de la BSA tiene sitios de unión específicos para moléculas hidrofóbicas lo cual también sucede en la leche (Chacón-Gurrola, Chávez-Martínez, Rentería-Monterrubio, & Rodríguez-Figueroa, 2017; Kilara & Vaghela, 2018).

2.1.5.2 Proteínas secundarias

Lactoperoxidasa (LP)

Es la enzima más abundante en el lactosuero pues representa entre el 0.25 y el 0.5% de la proteína total. Funciona como catalizador en reacciones como la reducción de peróxido de hidrógeno, la peroxidación del tiocianato y algunos haluros como el yodo y el bromo, generando productos antibacterianos. La lactoperoxidasa es termoestable y no se inactiva durante la pasteurización, siendo un excelente conservador natural (Kumar, Kumari Chauhan, Shinde, Subramanian, & Nadanasabapathi, 2018).

Glicomacropéptido (GMP)

Representa entre un 20% y 25% de la proteína total presente en el lactosuero. Es la porción glicosilada e hidrosoluble del caseinomacropéptido (CMP) que está presente en el lactosuero dulce y ausente en el lactosuero ácido. Se deriva de quesos obtenidos por la acción de la quimosina, la cual produce dos fracciones al romper el enlace Phe-Met (105-106) de la κ -caseína: una es el GMP, la porción hidrofílica de carácter ácido, constituida por 64 aminoácidos (f106-169), y la segunda es la paracaseína- κ , la porción hidrofóbica, de carácter básico, compuesta por 105 aminoácidos (Alvarado Carrasco & Guerra, 2010).

Proteasa-peptona (PP)

Son una mezcla de proteínas y péptidos que conforman la fracción proteínica que permanece en solución después de calentar la leche por 20 min hasta 95 °C disminuyendo el pH a 4.7 con ácido tricloroacético (TCA) (Gupta & Prakash, 2017). Los principales productos de la proteólisis de la PP son: proteosa peptona 5 (PP5), proteosa peptona 8 (lenta) (PP8s) y proteosa peptona 8 (rápida) (PP8f). En el lactosuero, sólo existe en su forma de proteosa-peptona 3 (PP3), y no se asocia con la caseína. Es una proteína glicosilada que contiene más del 17% de carbohidratos y tiene un peso molecular de 20 kDa (Kilara & Vaghela, 2018; O'Mahony & Fox, 2013).

2.1.6 Aplicaciones industriales y tecnológicas

En la actualidad, el lactosuero se ha convertido en un popular suplemento de proteína dietética para mejorar la composición corporal, la fuerza muscular, posee actividad antimicrobiana, previene enfermedades como la osteoporosis y problemas cardiovasculares y aumenta la respuesta inmunitaria. Se han desarrollado diversos productos a partir del lactosuero gracias a los avances de las tecnologías de procesamiento como la ultra y microfiltración, la ósmosis inversa y el intercambio iónico. Algunos ejemplos de estos productos son los concentrados de proteína de lactosuero (con un 80 a 95% de proteína), los aislados de proteína, el lactosuero reducido en lactosa, el lactosuero desmineralizado y lactosuero hidrolizado (Marshall, 2004).

El lactosuero, sus concentrados y formas secas se utilizan en muchas formulaciones de productos alimenticios pues muestran propiedades deseables a nivel tecnológico como la mejora de textura, aumenta las propiedades de unión al agua, de emulsificación y formación de espumas, se reducen costos de producción al disminuir el gasto de materias primas (decrece la adición de leche en polvo, por ejemplo). También contribuye al desarrollo de productos con propiedades funcionales y a la fabricación de nuevos alimentos para consumo humano y animal, producción de alcohol, bebidas y medios de fermentación, como se observa en la figura 1 (Ghosh, Prasad, & Saha, 2017; Skrzypczak et al., 2020). En la actualidad, se han desarrollado tecnologías de procesamiento que permiten aislar y purificar los componentes del lactosuero para su uso en las formulaciones de diversos sistemas alimentarios (ver figura 1).

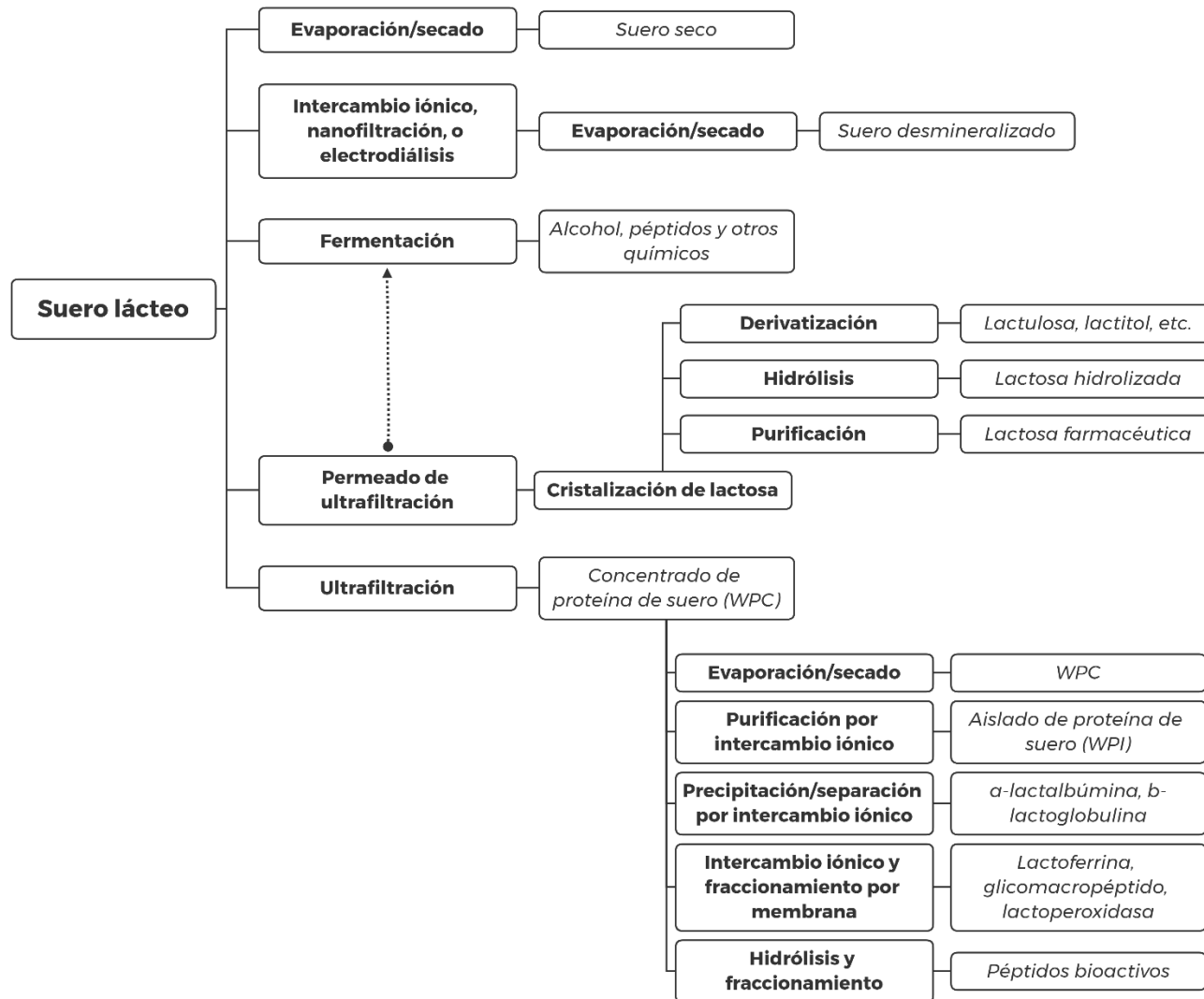


Figura 1. Alternativas de procesamiento para la creación de subproductos de lactosuero.

Adaptado de Durham & Hourigan (2007).

2.2 Compuestos bioactivos

La palabra bioactivo, de “bios” (vida) y “activus” (dinámico, lleno de energía), se refiere a una sustancia con actividad biológica en las formas de vida, que involucra el funcionamiento o los procesos de estas. Normalmente se encuentran de forma natural en pequeñas cantidades en productos vegetales y alimentos ricos en lípidos. Estas sustancias tienen una estructura definida, causan reacciones o disparan respuestas en los tejidos vivos y se encuentran dentro de la cadena alimentaria. Estos efectos pueden ser positivos o negativos y están en función del tipo de sustancia, la dosis y su biodisponibilidad (Abdelkarim, Benaicha, Elmajdoub, Bellaoui, & Hamal, 2014; Kris-Etherton et al., 2002).

Los efectos de los compuestos bioactivos pueden ser muy diversos, así como pueden ayudar a mantener la salud también pueden llegar a ser peligrosos o fatales, dependiendo de la cantidad en que sean ingeridos, aunque algunos autores mencionan que las sustancias bioactivas deben definirse en función de que sean beneficiosos a la salud (Biesalski et al., 2009). Pueden provenir de fuentes vegetales (fitoquímicos) como los compuestos fenólicos o de fuentes animales, como los péptidos resultantes de la hidrólisis de algunas proteínas (Kitts, 1994).

2.3 Bioactividad

La bioactividad o actividad biológica es "la capacidad de una entidad molecular específica para lograr un efecto biológico definido" en un objetivo (Jackson, Esnouf, Winzor, & Duewer, 2007).

La actividad biológica de estas sustancias tiene potencial preventivo y terapéutico para tratar enfermedades en el ser humano gracias a sus propiedades anticancerígenas, reductoras del colesterol o antioxidantes, fungiendo como sustratos en la síntesis de biomoléculas y bioestructuras, efectos de conservación contra microbios, portadores de medicamentos, enzimas y otros nutrientes (Kilara & Vaghela, 2018; Kitts, 1994; Zhang, Chen, & Wang, 2014).

2.4 La leche y sus derivados como fuentes de péptidos bioactivos

Las proteínas de la leche y el lactosuero conforman una fuente de péptidos bioactivos con diversos efectos beneficiosos para la salud. Se han descrito una gran variedad de péptidos bioactivos, siendo los encontrados en la leche y sus derivados los más estudiados. La mayoría de ellos tienen propiedades estructurales en común, como una cadena corta de entre 2 y 9 aminoácidos, residuos hidrofóbicos de aminoácidos en adición a grupos arginina, lisina y prolina y presentan resistencia a la acción de peptidasas digestivas (Alvarado Carrasco & Guerra, 2010).

Inicialmente, dichos péptidos no están activos pues se hallan encerrados dentro de las estructuras de las proteínas nativas, por lo que las secuencias de sus formas activas pueden ser liberadas través de enzimas digestivas al hidrolizar la proteína contenedora con algunos cultivos iniciadores lácteos, por ejemplo, el sistema de las bacterias ácido lácticas (enzimas proteolíticas) durante el proceso de fermentación (Skrzypczak et al., 2020). Una vez liberados, los péptidos bioactivos exhiben diferentes funciones fisiológicas como actividad antihipertensiva, antimicrobiana, antioxidante, antitrombótica, opioide, antiapetitiva, inmunomoduladora y de unión a minerales en los sistemas gastrointestinal, cardiovascular, inmunológico, endocrino y nervioso del cuerpo humano (Park & Nam, 2015).

2.4.1 Liberación de péptidos

De acuerdo con Korhonen (2009), para activar estos péptidos, pueden liberarse de tres formas de la secuencia de la proteína madre:

2.4.1.1 Hidrólisis por enzimas digestivas

Haciendo uso de enzimas como pepsina, tripsina y quimotripsina, es la forma más común de producir péptidos bioactivos a partir de moléculas de proteína completas. También se emplean enzimas proteolíticas, como alcalasa, termolisina, subtilisina y conjugando tratamientos subsecuentes simuladores de la digestión con pepsina y tripsina para la liberación de los péptidos de interés. A continuación, se muestran dos ejemplos de obtención de péptidos por hidrólisis enzimática en leche y lactosuero, respectivamente;

A partir de proteínas de lactosuero como la α -lactoalbúmina (α -LA), β -lactoglobulina (β -LG) y glicomacropéptido (GMP) es posible obtener péptidos reductores de la presión arterial, que inhiben la enzima convertidora de angiotensina I (ECA), siendo los más estudiados (Mota et al., 2004).

2.4.1.2 Hidrólisis de proteínas por microorganismos proteolíticos

Se generan péptidos bioactivos durante la fabricación de productos lácteos fermentados con cultivos iniciadores altamente proteolíticos. Durante la fermentación de la leche con cultivos industriales individuales como las bacterias del yogur, los iniciadores del queso y las bacterias probióticas comerciales, se producen diferentes péptidos bioactivos en la fracción de lactosuero. Esta actividad se correlaciona positivamente con el grado de proteólisis, lo que sugiere que los péptidos eran responsables de la propiedad antioxidante (Korhonen, 2009).

Algunas de los microorganismos que se han reportado como generadores de péptidos con actividad biológica son: *Lactobacillus helveticus*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus delbrueckii*, combinaciones de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* y *Lactococcus lactis* biovar. *diacetylactis*, bacterias acidolácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus casei* (Sharma, Trivedi, & Gat, 2017).

2.4.1.3 Por acción de enzimas proteolíticas derivadas de microorganismos o plantas

Partiendo de bacterias ácido lácticas, se aíslan enzimas proteolíticas para emplearse en la liberación de péptidos bioactivos de las proteínas de la leche. También se ha registrado la utilización de una proteasa aislada de *Aspergillus oryzae*, mostrando una de las mayores actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en ensayos in vitro (Ghosh et al., 2017).

En la tabla 2 se enlistan las principales proteínas del lactosuero, así como sus respectivos péptidos derivados con actividad biológica y sus efectos en la salud humana.

Tabla 2. Principales fuentes de proteínas y sus péptidos con actividad biológica

Proteína	% de la proteína de lactosuero ^a	Péptidos derivados	Efectos en la salud humana
β -LG	50-55	β -lactoforina	Enzima convertidora de angiotensina I (ECA) Inhibición para bajar la presión arterial Potenciador del apetito Supresor de apetito
α -LA	20-25	β -lactotensina	Utilizado en fórmula infantil Agonista opioide Aumentar los niveles séricos de triptófano para mejorar la calidad del sueño, el rendimiento cognitivo en situaciones de estrés y el estado de ánimo en situaciones de estrés Disminuye la presión arterial
IG	10	α -lactoforina	Ayuda a proteger contra enfermedades como infecciones microbianas orales o intestinales
Albúmina de suero bovino	5-10	Albutensina	Prevención del cáncer
Proteosa peptona 3 (PP3)	12	Seroforina	Supresor de apetito Agonista opioide
Lactoferrina	~1-2	Lactoferricina	Propiedades antimicrobianas y antivirales Promotor de crecimiento óseo Actividad contra el cáncer
Lactoperoxidasa	~0.5		Protección contra la infección microbiana Prevención de la caries dental Conservación de la leche cruda
GMP	10-15 (sólo en lactosuero dulce)	N/A	Actividades antitrombóticas Aditivo nutricional en fórmulas infantiles Se utiliza en la formulación de alimentos para personas con fenilcetonuria Supresor de apetito

^a En función del tipo de lactosuero (ácido o dulce) (Ryan & Walsh, 2016)

2.5 Actividad antioxidante

Como su nombre lo sugiere, antioxidante significa "contra la oxidación". Se le denomina así a cualquier sustancia que retrasa o previene significativamente la oxidación de un sustrato, y se requiere en concentraciones bajas en comparación de dicho sustrato (Sehwag & Das, 2013). Los antioxidantes actúan como secuestradores de especies generadoras de estrés oxidativo, como las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS). Cualquiera de los dos mecanismos genera estrés oxidativo destructivo para los organismos vivos, por lo cual los compuestos antioxidantes son importantes por su capacidad de preservación de la calidad de los alimentos y en poder mantener la salud humana. Las propiedades antioxidantes se estudian tanto por sus interacciones biológicas y químicas como por su papel en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos (Brainina, Stozhko, & Vidrevich, 2019).

2.5.1 Radicales libres

Son átomos o moléculas que en la capa de valencia contienen uno o más electrones desapareados que los vuelven inestables. Son capaces de existir de forma independiente, tienen una corta duración y son altamente reactivos. Esta última característica les permite extraer electrones de otros compuestos buscando estabilidad. De esta forma, la molécula atacada se convierte en un radical libre al perder su electrón y da paso a una cascada de reacciones en cadena que dañas a las células vivas (Aejazuddin & Khurshid, 2018).

Los radicales libres y otras especies reactivas no radicales están constituidos por especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), las cuales se desempeñan a la vez como compuestos beneficiosos y tóxicos en las células. Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno a bajas concentraciones son necesarias en algunas funciones fisiológicas y poseen efectos beneficiosos, por ejemplo, su actividad como defensa contra microorganismos patógenos (función inmune), la señalización celular y la regulación redox. Sin embargo, a concentraciones más altas, producen estrés oxidativo y estrés nitrosativo,

respectivamente, causando daño potencial a las biomoléculas una como los lípidos, las proteínas y el ADN. Esto conduce a enfermedades humanas como artritis reumatoide, cataratas, diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y respiratorias y aceleran el proceso de envejecimiento (Alujoju, Jestadi, & Periyasamy, 2014).

2.5.1.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS)

Los radicales derivados del oxígeno representan la clase más importante de especies de radicales generadas en los sistemas vivos en los que inician y participan en reacciones en cadena. El oxígeno molecular (O_2) es en sí mismo un radical gracias a su configuración electrónica única. El radical anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) se forma ocurre principalmente dentro de las mitocondrias de una célula con la adición de un electrón al dióxido de carbono en los procesos metabólicos o después "activar" el oxígeno por irradiación física. Los ROS "primarios" pueden interactuar con otras moléculas a través de procesos catalizados por enzimas o metales para generar ROS "secundarios". En las células animales, la cadena de transporte de electrones mitocondrial es esencial para la vida pues es la principal fuente de ATP. Durante la transducción de energía, una pequeña cantidad de electrones se filtran al oxígeno de manera prematura formando el superóxido, identificado en la fisiopatología de diversas enfermedades (Lone et al., 2013).

2.5.1.2 Especies reactivas de nitrógeno (RNS)

El NO^{\bullet} es una molécula pequeña que contiene un electrón desapareado en el orbital anti enlazante $2\pi^*y$. El radical NO^{\bullet} se sintetiza a través de una reacción oxidativa de cinco electrones con óxido nítrico específicas, generándose en los tejidos biológicos por la metabolización de la arginina en citrulina con la formación de NO^{\bullet} (Lone et al., 2013).

2.5.2 Estrés oxidativo

Es un proceso que se da cuando la producción de ROS supera la capacidad de los sistemas de defensa antioxidantes. Las cascadas de ROS en general comienzan al formarse el anión superóxido (O_2^-) por reducción de un electrón del oxígeno

molecular por vía enzimática o no enzimática. En el O_2^- hay un electrón desapareado, convirtiendo a la especie en un inestable radical libre que reacciona con otras especies que contienen oxígeno y también consigo mismo. Afecta de forma directa e indirecta moléculas orgánicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando los sistemas reguladores (Sverdlov, Ngo, & Colucci, 2020).

2.5.3 Péptidos de lactosuero lácteo con actividad antioxidante

Los péptidos antioxidantes (fragmentos específicos de proteínas con actividad antioxidante) han recibido mucha atención en la industria alimentaria en los últimos tiempos, pues su capacidad de mitigar el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica causada por los radicales libres puede utilizarse para mantener la salud humana y la seguridad y calidad de los alimentos (Alujo et al., 2014). El lactosuero es una rica fuente de antioxidantes altamente estables en forma de fracciones proteínicas y péptidos (500-3000 Da), permaneciendo en la leche cruda o pasteurizada almacenada a 4 °C hasta por 5 días. Son responsables de cerca del 90% de la actividad antioxidante del lactosuero (Kumar et al., 2018). De acuerdo con la composición de los aminoácidos, así como su hidrofobicidad, secuencia y peso molecular, los péptidos liberados tienen una determinada actividad antioxidante. Los que muestran una fuerte actividad antioxidante tienen un peso molecular inferior a 3 kDa y contienen de 2 a 20 aminoácidos incluyendo prolina, valina, triptófano y fenilalanina (aminoácidos hidrófobos), (Tadesse & Emire, 2020).

La actividad antioxidante en el lactosuero se debe a las proteínas ricas en cisteína que ayudan en la síntesis del potente antioxidante intracelular llamado glutatión (GSH), el cual está compuesto de cisteína, glicina y glutamato. La cisteína contiene sulfhidrilo, el cual es un grupo tiol que previene la oxidación y el daño tisular. Como antioxidante, el glutatión es más eficaz en su inicio reducido (Marshall, 2004). Cuando se procesan a bajas temperaturas, las proteínas de lactosuero contienen altos niveles de dipéptidos específicos como la glutamilmisteína, los cuales son capaces de promover la síntesis de glutatión (un antioxidante importante en los procesos de protección y reparación celular) (Park & Nam, 2015).

La α -LA es capaz de reducir el estrés oxidativo por sus propiedades quelantes del hierro y a diferencia de β -LG, no tiene grupo tiol libre. La albúmina de suero bovino tiene un grupo cistina libre que puede facilitar las interacciones disulfuro intramoleculares. La lactoferrina contiene 34 aminoácidos cistina y todos participan en enlaces disulfuro. Es probable que la capacidad de unión al hierro contribuya a su potencial antioxidante, pues cada monómero de lactoferrina puede unirse a iones Fe^{3+} , con una afinidad de unión de 10 a 20 M (Corrochano, Buckin, Kelly, & Giblin, 2018; Marshall, 2004). Dependiendo de la fuente proteínica y del método, se pueden obtener diversos péptidos con actividad antioxidante (Skrzypczak, Fornal, Waśko, & Gustaw, 2019).

2.6 Alimentos funcionales

En la actualidad, la creciente preocupación por la relación entre la alimentación y la salud ha hecho surgir el término “alimento funcional” el cual es aquel que contiene un compuesto bioactivo con funciones fisiológicas comprobadas, adicionalmente a sus propiedades nutrimentales principales (Agarkova, Kruchinin, Glazunova, & Fedorova, 2019; Mudgil & Barak, 2019). Gracias a los cambios en el estilo de vida de la población y las tendencias socioeconómicas se ha incrementado la necesidad de alimentos con mayores beneficios para la salud, haciendo énfasis en que los alimentos no sólo deben presentar los nutrientes esenciales para mantener la vida sino también ayudar a prevenir o curar diversas formas de enfermedades (Tadesse & Emire, 2020).

2.6.1 Alimentos funcionales elaborados a partir de lactosuero

Como se ha mencionado, las proteínas de lactosuero fraccionadas permiten el diseño de aplicaciones funcionales, nutricionales y nutracéuticas específicas. Los productos enriquecidos varían en contenido de proteína, desde 2.5 a más del 90% de su composición más los nutrientes no proteínicos como el agua, lactosa, lípidos, minerales y otros compuestos producidos por las bacterias provenientes de los cultivos iniciadores del queso. La composición del lactosuero determina la funcionalidad de la proteína y las interacciones entre los demás compuestos (Foegeding, Luck, & Vardhanabhuti, 2011). Algunas de las aplicaciones de las

proteínas del lactosuero incluyen: yogures y helados, cárnicos, productos reducidos en grasa, productos de panadería, confitería y pastelería, quesos, fórmulas infantiles y bebidas de lactosuero (Królczyk, Dawidziuk, Janiszewska-Turak, & Sołowiej, 2016).

La funcionalidad de los alimentos enriquecidos con proteínas de lactosuero tiene dos enfoques, uno consiste en la utilización de sus propiedades únicas como la gelificación, emulsificación, formación de espuma, espesante, sabor y capacidad de unión de grasas; por otro lado, la presencia de proteínas contenedoras de péptidos bioactivos liberados con influencia positiva en la salud del consumidor (Khezri et al., 2016). En la figura 2 se observan las aplicaciones del lactosuero en función de su composición.

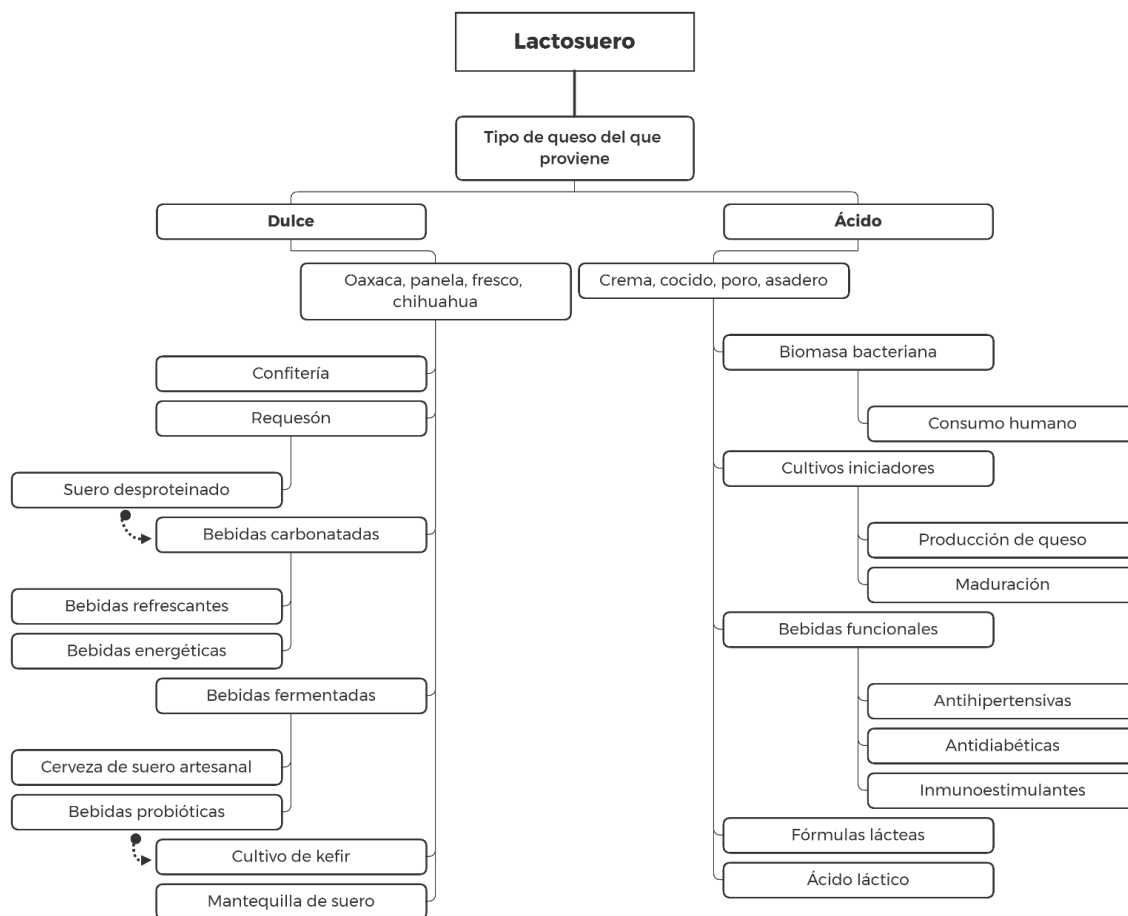


Figura 2. Aplicaciones del lactosuero de acuerdo con su composición fisicoquímica.

Adaptado de Mazorra-Manzano and Moreno-Hernández (2019)

2.6.2 Bebidas de lactosuero

Se pueden fabricar bebidas con un perfil deseable de aminoácidos a partir de lactosuero clarificado. En la industria se generan aromatizándolas con jugos naturales o concentrados de frutas o también al fermentar el lactosuero. Estos productos están disponibles pero a una escala relativamente pequeña, y en México no hay una gran oferta de los mismos, de acuerdo con Fox (2017).

Entre 2015 y 2016, el mercado de bebidas proteínicas creció un 5.6% y se esperaba un crecimiento de aproximadamente un 6.1% entre 2017 y 2020. Este crecimiento

proviene del consumo de bebidas proteínicas como sustitutos dietéticos, de nutrición deportiva y nutrición para adultos. Las tendencias se desplazan hacia alimentos con menos azúcar, alto contenido de proteínas, nutrición personalizada, innovación en sabores, control de peso, y más formulaciones a base de plantas, pero predominando las bebidas provenientes de fuentes lácteas de proteínas (Burrington, 2017).

Para transformar el lactosuero se realizan diferentes procedimientos como concentración y/o fraccionamiento y secado, fermentación o hidrólisis generando productos alto valor agregado. Existen diferencias en la funcionalidad de las proteínas de lactosuero, como al partir de concentrados, permeados o aislados. En la elaboración de bebidas, pueden añadirse a las proteínas de lactosuero otras de origen vegetal para mejorar el perfil de aminoácidos general o para obtener una textura particular. El inconveniente de las formulaciones proteínicas vegetales es que confieren un sabor y palatabilidad no deseados y debido a las múltiples interacciones de los ingredientes antes o después del procesamiento térmico, realizar estas mezclas puede ser muy difícil de estabilizar pues las proteínas lácteas así como las vegetales presentan muy diversos tamaños moleculares y puntos isoeléctricos (Rittmanic, 2006).

2.6.3 Tipos de bebidas de lactosuero y sus ingredientes.

Las industrias que actualmente producen bebidas de lactosuero realizan formulaciones muy diversas al tratar de mejorar sus características. El lactosuero tiene una relación lactosa-glucosa relativamente alta, una acidez excesiva y un sabor desagradable debido al amargor que generan los péptidos, sobre todo los lactosueros ácidos (Djurić, Carić, Milanović, Tekić, & Panić, 2004). El método más común para producir bebidas de lactosuero es eliminar el exceso de suero durante el proceso de fabricación del queso. Luego, el lactosuero líquido se filtra, pasteuriza y fermenta con la cepa probiótica deseada. Se ha observado comúnmente que el lactosuero dulce (preparado después de la coagulación con cuajo) es más sabroso que el lactosuero ácido. El lactosuero obtenido a través de este proceso es más claro y por lo tanto no se sedimenta durante el almacenamiento a largo plazo. Esto

se llama lactosuero desproteinizado. Estas bebidas de lactosuero también se pueden carbonatar fácilmente de forma similar a los refrescos debido a su baja viscosidad (Gupta & Prakash, 2017).

Se ha observado que el lactosuero dulce tiene una mejor aceptación por su sabor que el lactosuero ácido. Estas bebidas de lactosuero también se pueden carbonatar fácilmente de forma similar a los refrescos debido a su baja viscosidad. En algunos países, se han producido algunas bebidas de lactosuero con excelente aceptación del consumidor, pero se reporta que su distribución no ha trascendido en la exportación (Ryan & Walsh, 2016). En la década de 1970 comenzó el procesamiento de lactosuero para elaborar bebidas, siendo una de las más antiguas la suiza Rivella. En la actualidad se han ido desarrollando una gran diversidad de bebidas de lactosuero, a partir de suero dulce o ácido, desproteinizado, lactosuero fresco diluido, lactosuero fermentado o lactosuero en polvo así como bebidas alcohólicas y no alcohólicas (Barukčić, Božanić, & Tratnik, 2008).

De acuerdo con Jelen (2009), las bebidas de lactosuero pueden clasificarse de la siguiente manera:

- Mezclas de lactosuero (procesado o sin transformar) con zumos de frutas y hortalizas;
- Bebidas lácteas "espesas" (fermentadas o sin fermentar);
- Bebidas carbonatadas para calmar la sed (el "tipo Rivella") y
- Bebidas alcohólicas (cerveza, vino o licores)

De las anteriores, algunos pueden contener péptidos obtenidos por hidrólisis de proteína de lactosuero, así como micronutrientes añadidos de origen no lácteo y otros ingredientes.

3 JUSTIFICACIÓN

En México, existe un problema de salud pública referente a las enfermedades crónicas, entre las cuales está la hipertensión, un padecimiento que el 25.5% de la población adulta mayor de 20 años sufre y las patologías causadas por el estrés oxidativo. El consumo de sustancias con propiedades funcionales puede mejorar la calidad de la salud de esta población, como lo son compuestos con actividad antioxidante. En la actualidad, ya existen bebidas lácteas fermentadas a base de lactosuero, pero lamentablemente no tienen la calidad sensorial necesaria para que los consumidores las integren en su alimentación de forma frecuente. Por esto, en este trabajo se propone desarrollar una bebida funcional con propiedades antioxidantes a partir de una base de lactosuero dulce proveniente de la elaboración de queso panela, caracterizándola fisicoquímica, funcional, microbiológica y sensorialmente para determinar el contenido de proteína, lactosa, lípidos, minerales, pH, peso molecular, propiedades térmicas, viscosidad, punto isoeléctrico, potencial Z, tamaño de partícula, actividad antioxidante, calidad microbiológica, parámetros Ciel*a*b y aceptación sensorial del color, olor y sabor.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Elaborar y caracterizar una bebida funcional a base de lactosuero con propiedades antioxidantes.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener y caracterizar lactosuero dulce a partir de la elaboración de queso panela sin sal.
- Elaborar bases para bebida con propiedades funcionales, caracterizarlas fisicoquímica, funcional, microbiológica y sensorialmente para determinar el contenido de proteína, lactosa, lípidos, minerales, pH, peso molecular, propiedades térmicas, viscosidad, punto isoeléctrico, potencial Z, tamaño de partícula, actividad antioxidante, calidad microbiológica, parámetros Ciel*a*b y aceptación sensorial del color, olor y sabor.
- Elaborar y caracterizar una bebida funcional que incluya la base previamente obtenida con las mejores características.

5 HIPÓTESIS

Una bebida elaborada a partir de lactosuero hidrolizado puede tener propiedades antioxidantes y tener cualidades sensoriales aceptables al consumidor.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

La experimentación se llevó a cabo en las siguientes fases (ver figura 3):

- Fase 1: Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce
- Fase 2: Elaboración y caracterización de bases para bebida
- Fase 3: Formulación y caracterización de bebidas a base de lactosuero

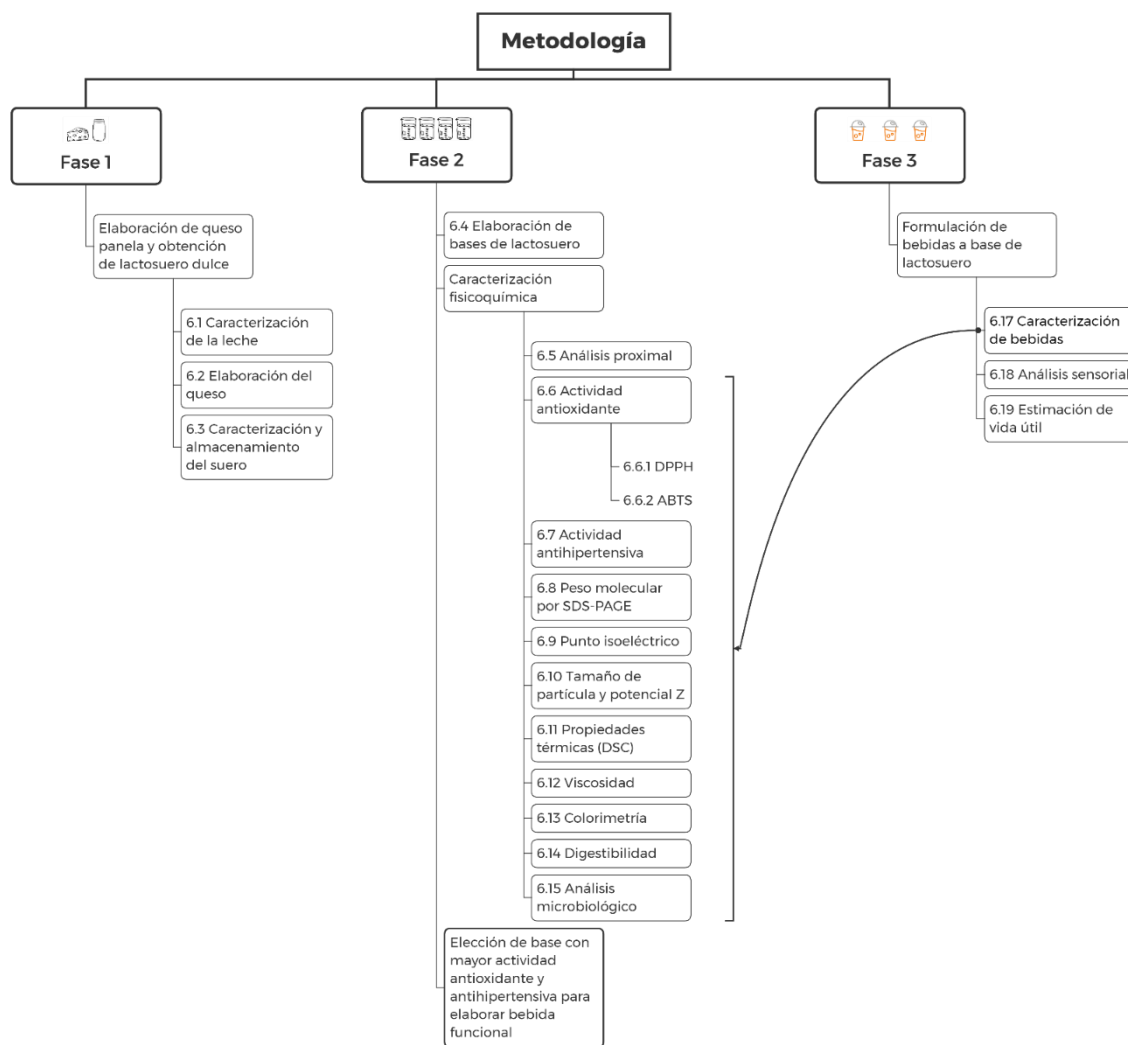


Figura 3. Fases de la metodología para elaborar una bebida funcional a base de lactosuero.

6.1 Caracterización de la leche

La leche utilizada se obtuvo del Rancho Universitario en Tulancingo, Hidalgo. La recolección se llevó a cabo justo después de la ordeña (NOM-109-SSA1, 1994), utilizando recipientes de plástico limpios y secos, desinfectados previamente con una solución de hipoclorito de sodio (5 ppm). Se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su uso (no más de 2 horas).

Se recolectaron 200 mL de leche para caracterizarla fisicoquímicamente a través del equipo FOSS Integrated Milk Testing Milkoscan FT 6000 (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca) determinando el contenido de proteína, lactosa, materia grasa, sales minerales, punto crioscópico y nitrógeno no proteínico. El pH se determinó con un potenciómetro calibrado previamente (HANNA Instruments, modelo HI 2210). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

6.2 Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce

Se estandarizó la leche al 3% p/p de grasa con la nata separada o con leche descremada pasteurizada. A continuación, se filtró y pesó la leche a procesar. Para pasteurizar, se realizó un tratamiento térmico a 60 °C por 30 min. Se ajustó la temperatura a 35 °C y se adicionó cloruro de calcio disuelto en agua (20 g de cloruro de calcio por cada 100 kg de leche a procesar, previamente diluido en una solución acuosa al 10% p/v), se esperaron 15 min y se añadió el cuajo (quimosina 1:10000) en la cantidad apropiada de acuerdo con la masa de leche a coagular. Se mantuvo en reposo a 32 °C por 60 min hasta la completar la coagulación enzimática. En seguida, se cortó la cuajada en cuadros simétricos de aproximadamente 1 cm². Se dejó reposar la cuajada por 5 min para estimular la sinéresis. Se incrementó la temperatura 1 °C por minuto, hasta alcanzar la temperatura de 40 °C con agitación inicialmente suave y al final con mayor vigor. Después se decantó el exceso de lactosuero y moldear. Se pesó la cuajada obtenida, se calculó el rendimiento por conversión de la leche en cuajada, se almacenó el queso en condiciones de refrigeración (Alais & Godina, 1985), mientras que el lactosuero se almacenó a -18 °C hasta su uso sin dejar pasar más de dos semanas para la experimentación posterior.

6.3 Caracterización y almacenamiento del lactosuero

Se analizó por triplicado el contenido de proteína, lactosa, materia grasa, sales minerales, punto crioscópico y nitrógeno no proteínico recolectando 200 mL de lactosuero dulce y se caracterizó fisicoquímicamente a través del equipo FOSS Integrated Milk Testing Milkoscan FT 6000 (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca).

6.4 Elaboración de bases de lactosuero

Se realizó una pasteurización para eliminar los microorganismos deterioradores y patógenos en el lactosuero. El lactosuero a tratar se colocó en frascos de vidrio previamente esterilizados y fue sometido a 60 °C por 30 min en un baño de temperatura constante. Se realizaron cuatro tratamientos del lactosuero para obtener cuatro bases como se indica a continuación (ver tabla 3):

Tabla 3. Tratamientos a realizar para obtener cuatro bases de lactosuero

Base/ Tratamiento	Suero nativo (SN)	Suero hidrolizado (SH)	Suero nativo deslactosado (SND)	Suero hidrolizado deslactosado (SHD)
Proteólisis	no	sí	no	sí
Deslactosado	no	no	sí	sí

Después, se continuó con el proceso de hidrólisis de proteína tratando el lactosuero a pH neutro a 50 °C durante 3 horas con la enzima HT Proteolitic 200 (Saavedra-Suárez, León-López, Guerrero-Aguilar, Campos-Montiel, & Aguirre-Álvarez, 2021). Las muestras previamente hidrolizadas, se neutralizaron en un rango de pH inicial entre 6.5-7.2 y se sometieron a un proceso de deslactosado añadiendo la enzima lactasa Maxilact Igi5000 en una proporción de 0.5 mL/L durante 3 h a 41 °C.

6.5 Análisis proximal de bases de lactosuero

Se monitoreó el proceso de deslactosado de las bases mediante la medición de azúcares totales con curva de lactosa con ácido dinitrosalicílico (Deshavath, Mukherjee, Goud, Veeranki, & Sastri, 2020) y se caracterizaron fisicoquímicamente a través del equipo FOSS Integrated Milk Testing Milkoscan FT 6000 (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca) en el que se determinó contenido de proteína, lactosa, materia grasa, sales minerales, punto crioscópico y nitrógeno no proteínico, realizando el análisis por triplicado.

6.6 Determinación de actividad antioxidante de bases y bebidas de lactosuero

6.6.1 Ensayo de inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Siguiendo la metodología de Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995), las muestras se centrifugaron a 8000 rpm durante 25 min a 2 °C y se separó el sobrenadante. Se preparó una solución madre de DPPH 0.1 mM en metanol al 80% y se estabilizó hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 (\pm 0.02) a 517 nm. A una alícuota de 0.5 mL de muestra se añadieron 1.5 mL de solución de DPPH y se realizó el ensayo por triplicado, para el blanco se usó metanol al 80 %. Las mezclas se dejaron reposar 30 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente. Las celdas se leyeron a 517 nm y previa curva de calibración, los resultados se expresaron en meq de Trolox.

6.6.2 Ensayo de inhibición del radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS))

La determinación de actividad antioxidante se realizó de acuerdo con el método de Re et al. (1999) mezclando 5 mL de solución ABTS con una concentración 7 mM con 88 μ l de solución K₂SO₄ 140 mM, se incubó la reacción durante 12 a 16 h en oscuridad y a temperatura ambiente. Para el ensayo, la solución de ABTS se diluyó hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 (\pm 0.02) a 734 nm. Una muestra de 0.2 mL se mezcló con 2 mL de solución diluida de ABTS, se dejó reposar 6 min y se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron en meq Trolox de acuerdo con la curva de calibración previamente realizada. (Corrêa et al., 2014).

6.7 Determinación de peso molecular de proteína en bases y bebidas de lactosuero

Se siguió la metodología descrita por Schägger and von Jagow (1987) con algunas modificaciones para la determinación de peso molecular por la técnica SDS-PAGE. Se preparó un gel de resolución al 17.5% y el gel de apilamiento al 4%, se cargaron las muestras y se corrió el análisis a 100 V por 4 h.

6.8 Determinación de punto isoeléctrico en bases y bebidas de lactosuero

Se centrifugaron muestras de 50 mL a 8000 rpm por 25 min y se analizaron en el equipo Zetasizer nano ZS90 acoplado al auto-titulador MPT-2 Doppler láser y una celda DTS1070 (Malvern, Worcestershire, Reino Unido) para obtener el valor de punto isoeléctrico utilizando buffers de NaOH 0.75 M, HCl 1 M y NaOH 1M.

6.9 Determinación de potencial Z y tamaño de partícula en bases y bebidas de lactosuero

Se centrifugaron por 25 min muestras de 50 mL a 8000 rpm y se obtienen los valores de potencial Z y tamaño de partícula en el equipo Zetasizer Nanoseries Nano ZS90 (Malvern, Worcestershire, Reino Unido).

6.10 Determinación de propiedades térmicas en bases y bebidas de lactosuero

El equipo de calorimetría de barrido diferencial (NETZSCH DSC 200F3, Alemania) se calibró con indio en las condiciones T_m , inicio = 156.68 °C, $DH = 28,45$ J/g. En una bandeja de acero inoxidable de 50 mL se preparó y empacó herméticamente una muestra de 1.5 ± 0.1 mg con 0% de contenido de agua. Se utilizó como referencia un pozo vacío y se exploró la velocidad de calentamiento y enfriamiento a 10 °C/min, hasta 140 °C. El termograma resultante se analizó en los cambios endotérmicos para determinar las temperaturas de transición vítrea (T_g) y desnaturalización (T_d) (León-López, Pérez-Marroquín, Campos-Lozada, Campos-Montiel, & Aguirre-Álvarez, 2020)

6.11 Determinación de viscosidad en bases y bebidas de lactosuero

Se acondicionaron las muestras a 4 °C para ser analizadas en un viscosímetro Brookfield RTV (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., E.U.A.). Se usó el husillo número 5 a una velocidad de 50 rpm para determinar la viscosidad de la muestra, y se expresaron los resultados en centipoise (cP).

6.12 Determinación de color bases y bebidas de lactosuero

Se calibró un colorímetro (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta Inc., Japón) con la placa blanca provista en el equipo y se midieron por triplicado los valores de $L^*c^*h^*$ en las muestras previamente centrifugadas y colocadas en recipientes blancos.

6.13 Ensayo de digestibilidad *in vitro*

La determinación de digestibilidad de proteína se realizó de acuerdo con la metodología modificada de Minekus et al. (2014). Se tomaron alícuotas de 1 g de muestra y 1 mL de agua desionizada para el blanco, las cuales se adicionaron en 15 ml de HCl 0.1 M con 1.5 mg/mL de pepsina. Se incubaron a 37 °C durante 3 h en baño de temperatura constante. Se detuvo la hidrólisis de la pepsina neutralizando con 7.5 mL de solución de NaOH 0.5 M. Luego, la digestión pancreática se inició adicionando 10 mL de tampón fosfatos 0.2 M (pH 8.0) más 10 mg de pancreatina y se incubó a 37 °C durante la noche. Pasado este tiempo, se añadió 1 mL de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugó a 8000 rpm por 20 min. Se estimó el contenido de proteína total del sobrenadante con el método de Bradford (1976). La digestibilidad se calculó de acuerdo con la ecuación:

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{(\text{proteína de la muestra} - \text{proteína del blanco})}{\text{proteína de la muestra}} \times 100$$

6.14 Análisis microbiológico de bases y bebidas de lactosuero

Para determinar la calidad microbiológica del lactosuero, se prepararon muestras de acuerdo con la norma establecida (NOM-110-SSA1, 1994) y se realizaron los conteos de coliformes totales (NOM-113-SSA1, 1994), bacterias aerobias (NOM-

113-SSA1, 1994) de mohos y levaduras (NOM-111-SSA1, 1994) y determinación de microorganismos indicadores y patógenos (NOM-210-SSA1, 2014).

6.15 Elaboración de bebidas de lactosuero

Se prepararon tres formulaciones de bebidas con una base de lactosuero hidrolizado deslactosado (SHD), siendo la base que presentó las mejores capacidades antioxidantes evaluadas con la metodología descrita en el apartado 6.6, siguiendo las proporciones que se indican en la tabla 4.

Tabla 4. Ingredientes de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Ingrediente	Formulaciones		
	B1	B2	B3
SHD	97.87%	97.71%	97.70%
Polidextrosa	1.63%	1.63%	1.63%
Café soluble	0.49%	0.65%	0.65%
Acesulfame K	0.01%	0.01%	0.02%

6.16 Caracterización de las bebidas de lactosuero

Las tres formulaciones de bebidas a base de lactosuero fueron evaluadas para conocer su capacidad antioxidante, peso molecular, punto isoeléctrico, tamaño de partícula, potencial Z, propiedades térmicas, viscosidad, color, digestibilidad y calidad microbiológica siguiendo las mismas metodologías utilizadas para las bases de lactosuero (ver figura 3).

6.17 Análisis sensorial de bebidas de lactosuero

Se realizó una sesión de pruebas sensoriales, de acuerdo con el método modificado de Arsić et al. (2018). Se invitó a 160 panelistas a participar en la evaluación de bebidas para conocer su aceptabilidad general, llenando los cuestionarios que constan de las preguntas: escolaridad, fecha, sexo, edad y lugar de procedencia.

Las muestras de 10 mL se presentaron a una temperatura de 4 ± 1 °C, en vasos de plástico individuales codificados con números de 3 dígitos, y se colocaron frente a cada panelista. Cada participante recibió tres muestras, un lápiz, un cuestionario y un vaso de agua a temperatura ambiente para enjuagarse la boca entre muestras. Se pidió que marcaran un valor en la escala del cuestionario que represente mejor cuánto les gustó o no les gustó cada una de las muestras con respecto a la aceptación general, utilizando una escala hedónica de 5 puntos donde 5= Me gusta mucho, 4= me gusta moderadamente, 3= no me gusta ni me disgusta, 2= me disgusta moderadamente y 1= me disgusta mucho, para evaluar de forma individual los atributos color, olor y sabor.

Con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico tipo ANOVA con el software SPSS v25. Las diferencias significativas en la comparación de medias se realizaron a una probabilidad del 95% ($p < 0.05$) para evaluar la preferencia de las formulaciones presentadas.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 FASE 1: Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce

7.1.1 Caracterización de la leche

La leche obtenida de la planta Prounilac en las instalaciones de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en Tulancingo, Hgo. presentó las siguientes características: pH 6.977 ± 0.006 , punto crioscópico 0.758 ± 0.001 °H y -0.791 ± 0.001 °C, sales minerales $0.437 \pm 0.006\%$ y nitrógeno no proteínico 1.233 ± 0.058 mg/mL, estos valores se encuentran dentro de lo reportado para la composición general de la leche (NOM-155-SCFI, 2012), mientras que la lactosa $6.660 \pm 0.010\%$, proteína total $4.417 \pm 0.006\%$, están por encima de la composición general de la leche a excepción del contenido de materia grasa ($2.683 \pm 0.029\%$), que es menor esto debido al previo proceso de desnatado y estandarización inicial de la leche usada como materia prima. Las variaciones podrían deberse a que la leche es un fluido biológico muy variable. Por las diferencias entre especies, la raza, el estado nutricional, la etapa de lactancia y edad del animal, así como la estacionalidad de la ordeña (Fox, Uniakce-Lowe, McSweeney, & O'Mahony, 1998).

7.1.2 Elaboración de queso panela y obtención de lactosuero dulce

Se obtuvo un $21.396 \pm 0.019\%$ de rendimiento del queso panela, mayor a lo encontrado por Ochoa-Flores y colaboradores (2013), quienes reportaron un 17.60% para un queso panela control. Esto puede deberse a la mayor cantidad de proteína presente en la leche utilizada como materia prima. Resultados similares fueron reportados por Pazzola y colaboradores (2019), quienes encontraron que la leche con un contenido inicial mayor de proteína conducía a un mayor rendimiento de queso de leche de cabra.

7.1.3 Caracterización fisicoquímica del lactosuero

El análisis fisicoquímico del lactosuero nativo arrojó como resultados que la materia grasa es $0.26 \pm 0\%$, el punto crioscópico 0.532 ± 0.008 °H, la caseína $1.000 \pm 0.000\%$, la urea $0.009 \pm 0.000\%$ y el pH 6.467 ± 0.006 se encuentran dentro de los valores generales de la composición del lactosuero, no así la proteína total $0.647 \pm 0.04\%$,

los sólidos totales $5.853\pm 0.055\%$, las sales minerales $0.317\pm 0.059\%$ y los sólidos no grasos $5.593\pm 0.055\%$ cuyos valores están por debajo de lo esperado. Por el contrario, se observa un alto contenido de lactosa $5.263\pm 0.038\%$, lo cual podría deberse a la propia composición de la leche de donde se obtuvo (de Wit, 2001).

7.2 FASE 2: Elaboración y caracterización de cuatro bases de lactosuero

7.2.1 Caracterización de cuatro bases de lactosuero

En la figura 4 se muestra la composición fisicoquímica de las cuatro bases de lactosuero, donde los resultados sugieren que el contenido de nitrógeno proteínico es levemente mayor en la base nativa hidrolizada (SH), debido a que, durante la hidrólisis, las proteínas se dividen en péptidos de diferentes tamaños y aminoácidos libres, en consecuencia de la escisión de los enlaces peptídicos (Cui, Sun, Zhou, Cheng, & Guo, 2021). En cuanto al nitrógeno no proteínico, hubo un incremento significativo de éste en las bases que pasaron por más tiempo en tratamientos térmicos (SND y SHD), debido a la presencia de aminoácidos libres, urea y amoníaco, los cuales se liberan como consecuencia de la desnaturalización proteínica generada por el desdoblamiento de las estructuras terciarias como lo expone el trabajo de Al-Saadi (2014). El contenido de materia grasa es significativamente distinto para todas las bases, siendo mayor en la base SHD con 0.38%, ya que debido al proceso de hidrólisis proteolítica se liberaron ácidos grasos que quedaron en forma libre, los cuales antes estaban ligados a las proteínas como la BSA y la β -LG. Estas proteínas en su forma nativa actúan como acarreadores de lípidos (Kilara & Vaghela, 2018; Le Maux, Bouhallab, Giblin, Brodkorb, & Croguennec, 2014; Minj & Anand, 2020). También, los minerales presentaron un incremento en su composición destacando los tratamientos SND y SHD con 0.60% y 0.62% respectivamente. Minj y Anand (2020) y de Wit (2001) reportaron que la lactoferrina de forma nativa está unida al hierro y las proteasas peptonas al calcio, siendo que durante la hidrólisis, dichos minerales quedan libres en la solución.

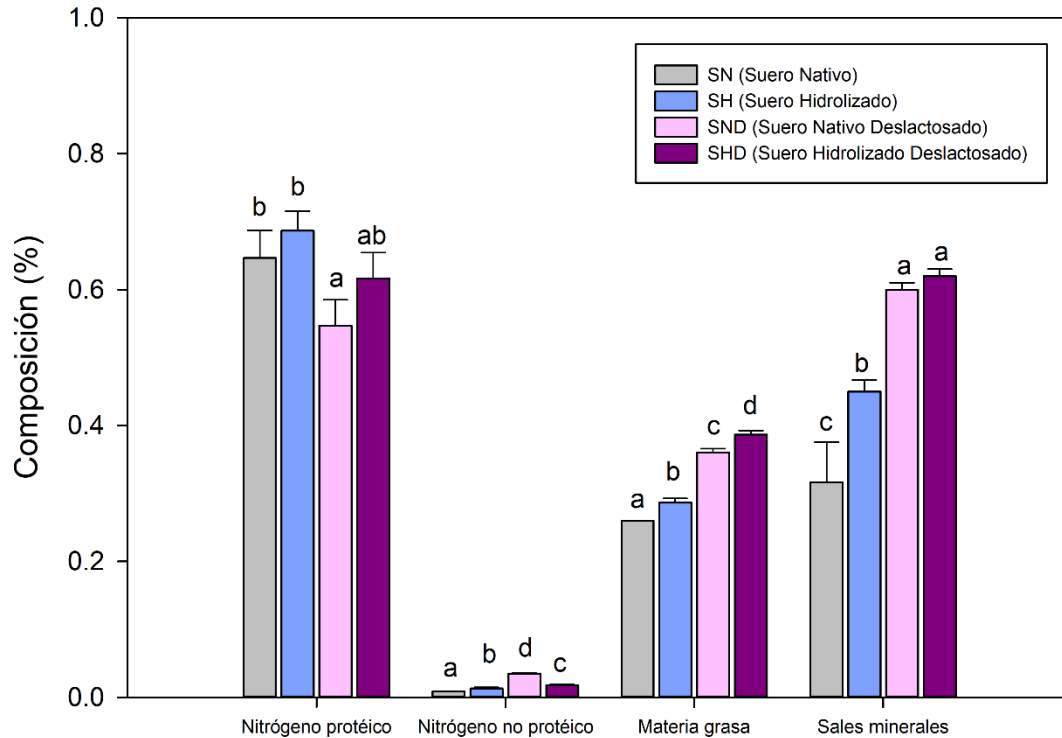


Figura 4. Composición fisicoquímica de cuatro bases de lactosuero. Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error representan la desviación estándar de tres repeticiones.

El contenido de lactosa se muestra en la figura 5, obteniendo valores significativamente diferentes ($P < 0.05$) para las bases deslactosadas (SND y SHD) respecto a las no deslactosadas (SN y SH), siendo el contenido inicial de lactosa para para SN y SH de 0.028 y 0.029 g/mL respectivamente. Estos valores disminuyeron significativamente en las bases SND y SHD hasta un 0.007 g/mL para ambos tratamientos. El grado de hidrólisis de lactosa de estas últimas bases alcanzó valores de 75.58% y 76.10% respectivamente. Ghosh et al. (2017) reportaron una hidrólisis de lactosa del 60.88% mediante la β -galactosidasa en muestras de lactosuero donde la proteína fue previamente hidrolizada.

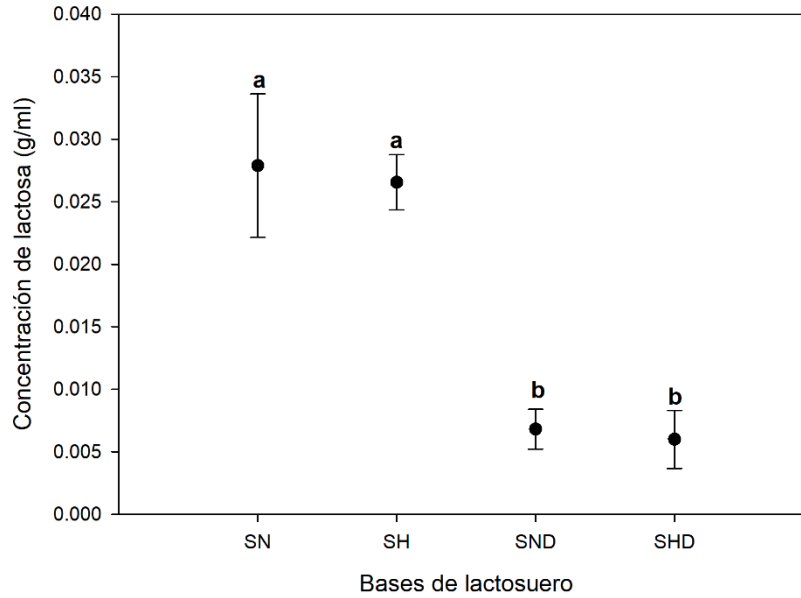


Figura 5. Contenido de lactosa de cuatro bases de lactosuero obtenido por el método de azúcares totales con curva de lactosa.

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error representan la desviación estándar de tres repeticiones.

7.2.2 Ensayos de determinación de actividad antioxidante por inhibición de radicales DPPH y ABTS en cuatro bases de lactosuero

Existe una amplia variedad de métodos para evaluar la capacidad antioxidante a través de la inhibición de radicales, siendo los más utilizados el DPPH y el ABTS. El radical DPPH se usa en sistemas complejos ya que permite analizar antioxidantes hidrofílicos e hidrofóbicos al estar en solución con agua y metanol (Romulo, 2020), por su parte, el $ABTS^{+}$ se puede utilizar en diversas matrices para determinar las capacidades antioxidantes hidrófilas y lipófilas de los compuestos de interés ya que es soluble en disolventes acuosos y orgánicos y no se ve afectado por la fuerza iónica (Prior, Wu, & Schaich, 2005).

En el caso de las bases analizadas, como se muestra en la figura 6, existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la inhibición entre ambos métodos, siendo más altos los valores encontrados por la técnica ABTS. Asimismo, para dicho radical, los valores de SH (0.598 ± 0.012 meq de Trolox) y SHD (0.615 ± 0.016 meq de Trolox) son significativamente más altos en contraste con los no hidrolizados con valores

de 0.373 ± 0.014 y 0.417 ± 0.031 meq de Trolox (SN y SND respectivamente). De forma similar, los resultados obtenidos en el ensayo de inhibición de DPPH muestran que la base con mayor actividad antioxidante es la SHD (0.099 ± 0.031 meq de Trolox) al compararla con la SND (0.027 ± 0.024 meq de Trolox); mientras que las bases SN y SH no presentaron diferencias estadísticas entre sí ni entre sus análogos deslactosadas. De forma similar, en trabajos anteriores se ha comprobado que los péptidos provenientes de proteínas hidrolizadas mejoran su capacidad antioxidante al acortar su cadena a secuencias de entre 2 y 20 aminoácidos que incluyan tirosina, metionina, lisina, cistina, histidina y triptófano, mediante técnicas como la proteólisis enzimática (Mann, Athira, Sharma, Kumar, & Sarkar, 2019), los cuales son en su mayoría aminoácidos hidrofóbicos. En teoría, estos aminoácidos deberían ser cuantificables por su afinidad a la técnica de inhibición de DPPH, sin embargo, se sabe que algunos radicales pueden ser inertes o reaccionar muy lentamente al DPPH al presentar impedimento estérico como podría ser el caso de la configuración tridimensional de algunas de las proteínas y péptidos en las muestras estudiadas. Los valores de DPPH resultaron más bajos comparados con los de ABTS, debido a que el DPPH se decolora con agentes reductores y con la transferencia de H, lo que también contribuye a interpretaciones inexactas de la capacidad antioxidante (Prior et al., 2005).

Los porcentajes de inhibición más altos fueron para la base SHD con valores de 84.82 ± 2.04 y $33.54\pm 6.73\%$ para ABTS y DPPH respectivamente. Corrêa et al. (2014) realizó un estudio en lactosuero de leche de oveja hidrolizado con una proteasa de *Bacillus* sp. P7. Así mismo, obtuvieron una menor actividad antioxidante ante el radical ABTS con un valor de $51.30\pm 0.51\%$ a las 6 h de hidrólisis.

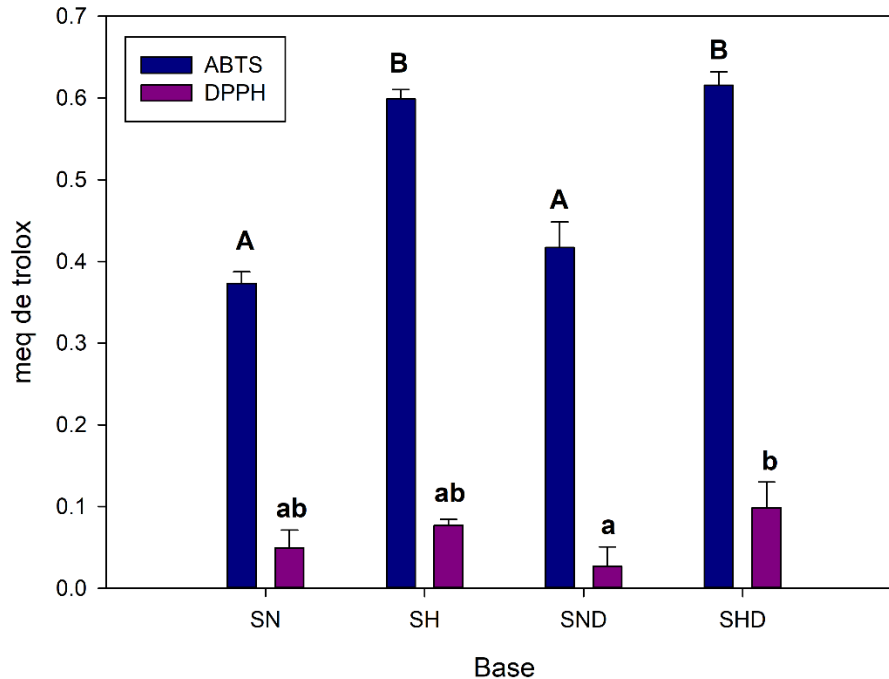


Figura 6. Cuantificación de la capacidad antioxidante de cuatro bases de lactosuero por inhibición de los radicales ABTS y DPPH.

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error representan la desviación estándar de tres repeticiones.

7.2.3 Determinación de peso molecular de proteína en cuatro bases de lactosuero

El peso molecular de la proteína de las bases de lactosuero fue analizado siguiendo la metodología SDS-PAGE. La figura 7 muestra la disminución del tamaño de la proteína en las bases hidrolizadas, siendo que las bases nativas (SN y SND) presentaron proteínas desde 174.63 ± 22.37 y 173.33 ± 57.77 kDa respectivamente. Estos pesos moleculares corresponden a algunas inmunoglobulinas con pesos reportados alrededor de 150 a 170 kDa (Madureira et al., 2007). Las fracciones más grandes que fueron encontradas en las bases hidrolizadas (SNH y SHD) fueron de 156.54 ± 8.90 y 134.03 ± 3.18 kDa respectivamente. También se observó que las proteínas mayores a 50, 25 y 15 kDa en las bases SN y SND fueron hidrolizadas en fracciones de menor peso molecular en las bases SH y SHD, hasta obtener cadenas de 12.46 ± 1.04 y 10.22 ± 2.98 kDa, siendo los pesos más pequeños detectados por

el marcador molecular. Para la lactoferrina (LF) no se observaron cambios significativos entre los tratamientos, debido a que esta proteína no es hidrolizada por la enzima proteasa usada en el tratamiento del lactosuero. Los dos iones de hierro en su estructura le proporcionan una alta estabilidad ya que adopta una conformación más cerrada y exhibe una mayor resistencia a la hidrólisis (Gruden & Poklar Ulrich, 2021).

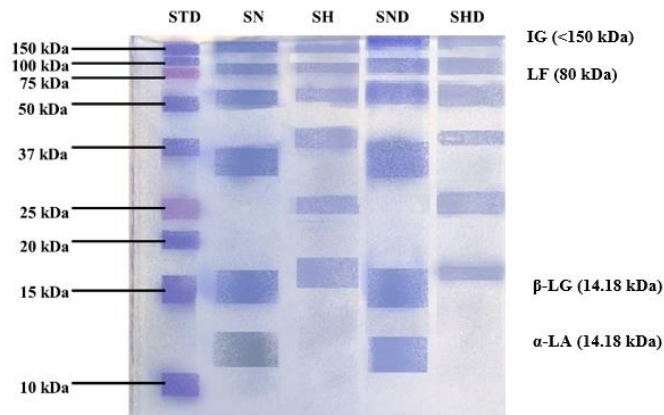


Figura 7. Estimación de peso molecular de proteína de cuatro bases de lactosuero en geles de poliacrilamida.

7.2.4 Determinación de punto isoeléctrico de proteína en cuatro bases de lactosuero

Las cuatro bases de lactosuero analizadas arrojaron como resultados los valores que se muestran en la tabla 5. Se observa que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las bases nativas y las hidrolizadas, esto posiblemente debido a los cambios estructurales de las cadenas de las proteínas, siendo consistentes los valores de las bases nativas con los reportados por Ramos et al. (2015) para α-LA (4.8) y BSA (4.7-4.9). Las bases hidrolizadas contienen estructuras proteínicas y péptidos de menor punto isoeléctrico, lo que mejora la estabilidad de las bases ante cambios de pH como se da naturalmente en este tipo de sistemas alimentarios, los cuales se degradan por acidificación (White, Fox, Jervis, & Drake, 2013).

Tabla 5. Punto isoeléctrico de la proteína de cuatro bases de lactosuero.

Base	Punto isoeléctrico (pH)
SN	4.16±0.08 ^a
SH	3.04±0.08 ^b
SND	4.07±0.08 ^a
SHD	2.29±0.09 ^b

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) $n=3$

De acuerdo con el trabajo de Gauthier and Pouliot (2003), puntos isoeléctricos de 4.2, similares a los obtenidos para las bases nativas, corresponden a fracciones de 15 a 40 aminoácidos de β -LG, las cuales han sido estudiadas por tener actividad funcional (Pihlanto-Leppälä, Koskinen, Piilola, Tupasela, & Korhonen, 2000).

7.2.5 Determinación de potencial Z y tamaño de partícula de cuatro bases de lactosuero

El potencial Z es un parámetro que permite medir el equilibrio electroquímico de las interfaces líquido-partícula al cuantificar la magnitud de la repulsión/atracción entre las partículas, convirtiéndose en una de las medidas fundamentales conocer la estabilidad de las partículas coloidales, entendiendo por estabilidad la resistencia de la dispersión al cambio con respecto al tiempo. De acuerdo con Cano et al (2018) se pueden clasificar las soluciones coloidales en relación a su potencial Z como inestables (± 0 a ± 10 mV), relativamente estables (± 10 a ± 20 mV), moderadamente estables (± 20 a ± 30 mV) y muy estables (± 30 mV). Por esto, en la tabla 6 se muestra que las bases hidrolizadas son significativamente más estables que las nativas debido a los péptidos obtenidos por hidrólisis. También se observa que en las bases nativas el tamaño de partícula es mayor a 6000 r.nm, mientras que en las hidrolizadas este parámetro se ve reducido. Resultados similares fueron obtenidos por Nishanthi, Vasiljevic, and Chandrapala (2017) para el tamaño de partícula, quienes para lactosuero dulce obtuvieron un valor de 178.5 ± 6.6 nm, en tanto que para potencial Z reportaron una carga de -2.8 ± 0.3 mV.

Tabla 6. Potencial Z en mV y Tamaño de partícula (r.nm) de cuatro bases de lactosuero

Base	Potencial Z (mV)	Tamaño de partícula (r.nm)	
		Pico 1	Pico 2
SN	-7.71±1.23 ^a	181.47±40.56	>6000
SH	-14.50±0.52 ^b	137.40±19.94	1335.67±851.83
SND	-9.01±0.50 ^a	329.57±117.47	>6000
SHD	-11.73±0.15 ^b	157.20±10.19	2455.33±314.88

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) $n=3$

7.2.6 Determinación de propiedades térmicas de cuatro bases de lactosuero

Las propiedades térmicas de las cuatro bases para bebida se evaluaron en polvo seco con 0% de contenido de agua. De acuerdo con Roos (1995), los alimentos son sistemas complicados, cuyas transiciones de fase de los componentes principales (carbohidratos, lípidos, proteínas y agua) rigen su estado físico. Como se observa en la tabla 7, la temperatura de transición vítrea (T_g) en el suero nativo (96 °C) es similar a lo reportado para la lactosa (98 °C) por Schuck et al. (2005), mientras que para el suero hidrolizado la temperatura aumentó a 108.8 °C, posiblemente porque hay una mayor superficie de respuesta en las proteínas hidrolizadas, las cuales retrasan la cristalización de la lactosa en polvo (Hogan & O'Callaghan, 2013). No se logró observar una temperatura de desnaturalización (T_d) proteínica en el suero nativo (SN), pero sí se observa dicha transición en una disminución consecutiva importante para SH, SND y SHD con valores de 69.42 °C, 63.08 °C y 59.42 °C respectivamente. Lo anterior, debido a los tratamientos térmicos más prolongados para alcanzar los procesos de deslactosado. Bernal y Jelen (1985) reportaron que los puentes de hidrógeno y los enlaces hidrofóbicos se rompen o se debilitan durante procesos a temperaturas mayores a 70 °C provocando que las estructuras secundarias y terciarias se destruyan. Los rangos de temperatura de desnaturalización de las proteínas presentes en las bases analizadas son

semejantes a los encontrados para β -LG, α -LA e IG en un rango de 53-78 °C (Paulsson & Dejmek, 1990).

Tabla 7. Propiedades térmicas de cuatro bases de lactosuero

Muestra	Tg (°C)	Td (°C)
SN	96.00	-
SH	108.80	69.42
SND	-	63.08
SHD	-	59.42

7.2.7 Determinación de viscosidad de cuatro bases de lactosuero

La medición de la viscosidad se realizó mediante el equipo de Brookfield, sin embargo, la sensibilidad de este equipo no es suficiente para medir valores entre 0 y 1.5 cp, ya que al tener las muestras una composición mayoritariamente acuosa, la viscosidad fue muy baja, cercana a la del agua. Delaveau and Jelen (1979) realizaron estudios de viscosidad en lactosuero con un pH de 6.5 y reportaron valores alrededor de 1.2 cp.

7.2.8 Determinación de color de cuatro bases de lactosuero

El color de un producto afecta la forma en que los consumidores lo aceptan y consumen. Por esta razón, fue de gran importancia la medición del color de las bases a través del modelo Ciel*a*b, como se muestra en la tabla 8. De acuerdo con Chudy y colaboradores (2020), el color natural de los productos lácteos incluyendo el lactosuero, está situado en los cuartos 1 y 2 del sistema de coordenadas en los ejes a* y b*, lo que es indicativo del color amarillo. Dicho color puede ser monocromático (580 nm) o generado por una luz verdosa (540-560 nm) y mezcla de radiación roja (600-700 nm). Para todas las muestras de la presente investigación, se detectó un color amarillo traslúcido, más claro y brillante para las muestras hidrolizadas. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el parámetro de luminosidad entre la base SN con 96.6 y los otros tres tratamientos que a simple vista parece un color más verdoso. Esto se debe a los procesos

térmicos a los que fueron sometidas las bases hidrolizadas y deslactosadas, pues la riboflavina es una vitamina soluble presente en el lactosuero y un cofactor enzimático importante que imparte ese tono amarillo verdoso. Esta es fotosensible y se diluye por acción del calentamiento (Fox et al., 1998; Ryan & Walsh, 2016). Estos valores concuerdan con los reportados por Chudy y colaboradores (2020) para el suero nativo con valores de 95.4, -0.68 y 13.93 para las coordenadas L*, a* y b* respectivamente.

Tabla 8. Parámetros Ciel*a*b de cuatro bases de lactosuero

Muestra	L*	*a	*b	Apariencia de color
SN	96.633±0.572 ^a	-8.597±1.294 ^a	17.299±0.308 ^b	
SH	98.283±0.828 ^{ab}	-7.636±0.921 ^a	14.821±0.431 ^a	
SND	97.071±1.062 ^{ab}	-8.348±0.308 ^a	16.591±0.744 ^b	
SHD	99.257±1.215 ^b	-8.229±1.143 ^a	15.952±0.959 ^{ab}	

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) $n=3$

7.2.9 Ensayo de digestibilidad in vitro de cuatro bases de lactosuero

En este ensayo se encontró que, para la fase gástrica, no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las cuatro bases. Sin embargo, la tabla 9 demuestra que durante la fase intestinal, las bases hidrolizadas SH y SHD presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) debido a que tienen un mayor porcentaje de absorción (83.7%) que la nativa deslactosada (SND) con 82.7%. Esto se debe a que los péptidos de menor tamaño obtenidos por la hidrólisis enzimática son absorbidos más fácilmente a nivel intestinal. Resultados similares fueron encontrados por Sinha y colaboradores (2007) quienes reportaron una absorción de entre 75 y 78% para hidrolizados de lactosuero. Kitabatake and Kinekawa (1998) reportaron que hidrolizados de b-LG son mejor absorbidos que sus proteínas nativas. Así mismo, Almeida y colaboradores (2015) reportaron valores equivalentes para suplementos de proteína de suero, con una digestibilidad de entre 88.4 y 91.7%.

Tabla 9. Porcentaje de digestibilidad de cuatro bases de lactosuero.

Muestra	Digestibilidad gástrica (%)	Digestibilidad intestinal (%)
SN	83.73±0.44 ^a	83.21±0.14 ^{ab}
SH	83.53±0.47 ^a	83.70±0.35 ^b
SND	83.63±0.41 ^a	82.79±0.22 ^a
SHD	83.75±0.34 ^a	83.70±0.17 ^b

7.2.10 Análisis microbiológico de cuatro bases de lactosuero

Las bases de lactosuero fueron analizadas microbiológicamente a través de las metodologías descritas por las normas oficiales mexicanas, como se muestra en la tabla 10. No se observó crecimiento bacteriano en ninguna de las bases, esto debido a la correcta pasteurización efectuada en las muestras analizadas. Estos resultados son alentadores debido a que existe confiabilidad e inocuidad para el consumo de bebidas preparadas a partir de estas bases de lactosuero.

Tabla 10. Conteo de UFC/mL en tres diluciones de cuatro bases de lactosuero

Muestra	Dilución	Bacterias mesófilas aerobias (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)	E. coli (UFC/mL)
SN	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p	s/p
SH	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p	s/p
SND	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p	s/p

	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p	s/p
SHD	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p	s/p

*s/p= sin presencia

7.3 FASE 3: Elaboración y caracterización de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

7.3.1 Ensayos de determinación de actividad antioxidante por inhibición de radicales DPPH y ABTS en tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Las tres bebidas fueron evaluadas en los ensayos de inhibición de DPPH y ABTS, siendo los resultados entre pruebas significativamente diferentes. De la misma forma que la bases (apartado 7.2.3), la prueba con ABTS arrojó valores más altos para las tres bebidas. En la figura 8, se muestran los resultados obtenidos para las tres formulaciones de bebidas, donde no se observan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las mismas para cada ensayo. La capacidad antioxidante exhibida en el ensayo de DPPH por cada bebida fue de 0.1660 ± 0.0002 , 0.1597 ± 0.0009 y 0.1550 ± 0.0012 meq de Trolox para B1, B2 y B3 respectivamente, mientras que para ABTS fueron de 0.697 ± 0.014 , 0.689 ± 0.011 y 0.698 ± 0.030 meq Trolox. Las bebidas presentaron valores más altos que la base SHD con la que fueron elaboradas debido a la adición de café soluble, materia prima que es ampliamente reconocida por presentar una alta actividad antioxidante gracias a su contenido de compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos, la trigonelina, la cafeína y las melanoidinas, mejorando de forma importante la capacidad antioxidante de las bebidas (Passos et al., 2017). Se sabe que el café soluble comercial puede inhibir la captación de radicales libres, como presentan en su trabajo Marcucci, Dias, Almeida y Benassi (2017), quienes obtuvieron valores de 20.39 hasta 37.02 gramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 en diferentes marcas de café soluble regular o descafeinado.

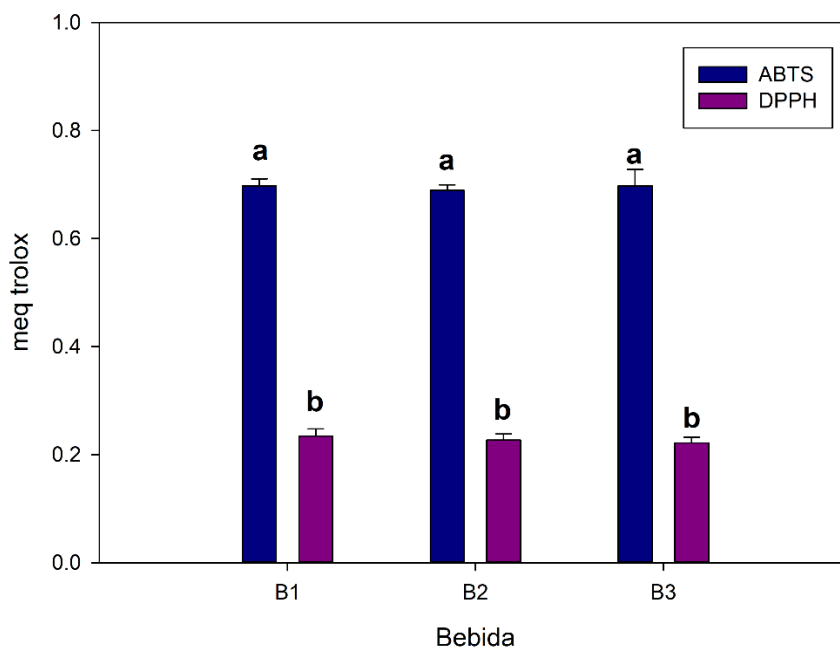


Figura 8. Cuantificación de la capacidad antioxidante de tres bebidas de lactosuero por inhibición de los radicales ABTS y DPPH.

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Las barras de error representan la desviación estándar de tres repeticiones.

7.3.2 Determinación de peso molecular de proteína en tres formulaciones de bebidas de lactosuero

En cuanto a las tres bebidas, en la figura 9 se observan fracciones cerca de 13.33 kDa, las cuales podrían deberse a la desnaturalización ocurrida por el segundo tratamiento térmico al que se sometieron para pasteurizar el producto final. Tanto en las bases hidrolizadas como en las bebidas se registró un barrido de los péptidos más pequeños que no pudieron ser detectados por el marcador de 10 kDa. Sin embargo, se observó un barrido de las proteínas en las franjas cercanas a los 13 kDa para las tres bebidas que no eran visibles en la base SHD, lo cual podría deberse a la agregación de algunas proteínas por efecto del segundo tratamiento térmico al que se sometieron las bebidas preparadas. Resultados similares fueron obtenidos por Jovanovic, Barac, Macej, Vucic, and Lacnjevac al someter muestras de lactosuero reconstituido a temperaturas mayores a 75 °C. También se observó

que una banda presente en la base SHD cercana a los 16.05 kDa (figura 7) ya no es visible en ninguna de las tres bebidas, probablemente al desnaturalizarse por acción del calentamiento se agregaron en una banda más gruesa cercana a los 14.7 kDa junto con la α -LA.

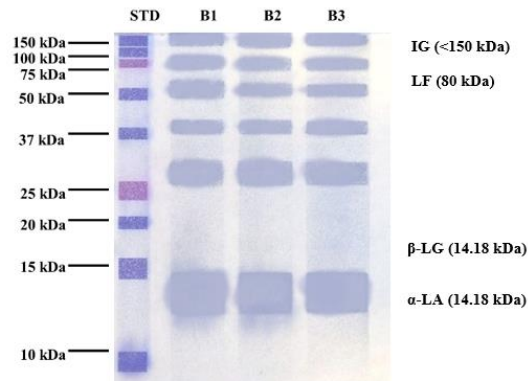


Figura 9. Estimación de peso molecular de proteína de tres bebidas de lactosuero en geles de poliacrilamida.

7.3.3 Determinación de punto isoeléctrico de proteína en tres formulaciones de bebidas de lactosuero

No se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los resultados de punto isoeléctrico de las bebidas B1, B2 y B3 con valores de 2.62 ± 0.21^a , 2.67 ± 0.29^a y 2.70 ± 0.32^a respectivamente. En las tres bebidas, las fracciones proteínicas fueron exactamente las mismas. Sin embargo, se observó que el punto isoeléctrico de las bebidas es significativamente más alto en comparación con el de la base SHD con la que fueron elaboradas. Es posible que esto se deba a la adición de acesulfame K, el cual es capaz de mantener el pH de la solución más alto, como lo reporta Yaqub et al. (2018) para una matriz láctea como el yogurt.

7.3.4 Determinación de potencial Z y tamaño de partícula de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Se determinó que el potencial Z de las bebidas B1, B2 y B3 fue de -5.4500 ± 0.2179 , -5.8400 ± 0.3061 y -5.1133 ± 0.6307 mV respectivamente. No se observaron

diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las bebidas debido a que se elaboraron con la misma base de lactosuero (SHD), no obstante, al comparar dicha base con las bebidas terminadas se observó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la estabilidad, ya que los valores comprendidos entre ± 0 a ± 10 mV se consideran como inestables para las soluciones coloidales. Es posible que esto se deba a que por el segundo tratamiento térmico realizado, las proteínas y sus fracciones se agregaron en moléculas más grandes y comenzaron a flocular. De acuerdo con Britten, Giroux, and Gaudin (1994), al calentar las proteína de lactosuero a pH 6.0, la solubilidad disminuye, gracias a la alta proporción de agregados de gran tamaño. Esto se observa en concreto en el tamaño de partícula, con valores de 810.40 ± 348.56 , 658.97 ± 126.14 y 708.47 ± 191.18 r.nm para las bebidas B1, B2 y B3 respectivamente. Estas bebidas no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellas, pero sí con la base SHD con la cual se elaboraron, siendo que el tamaño de las partículas es significativamente mayor debido a la agregación antes mencionada.

7.3.5 Determinación de propiedades térmicas de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Para las tres bebidas elaboradas con SHD, se observó que la temperatura de transición vítrea corresponde a los carbohidratos con mayor concentración en la solución, siendo los mayoritarios la povidexrosa, glucosa y galactosa. De acuerdo con Schuck et al. (2005), la glucosa y galactosa tienen temperaturas de transición vítrea de 31 y 30 °C respectivamente, pero se sabe que en las mezclas de azúcares, los valores de Tg no son exactos y están en función de la concentración de cada carbohidrato. Los valores individuales de Tg para povidexrosa, glucosa y galactosa respectivamente son de 93 °C (Ribeiro, Zimeri, Yildiz, & Kokini, 2003), 31 y 30 °C (Schuck et al., 2005). Sin embargo, al estar en una mezcla se observó que el valor más alto de Tg dado por la povidexrosa elevó los valores de los monosacáridos, siendo un comportamiento esperado según Roos (1995). También se observó que la povidexrosa actuó como un leve protector de las proteínas al elevar la Td de las bebidas con respecto a la base de elaboración SHD ($T_d = 59.42$ °C) (ver tabla 11).

Tabla 11. Propiedades térmicas de tres bebidas de lactosuero

Muestra	Tg (°C)	Td (°C)
B1	40.28	61.60
B2	41.23	61.46
B3	40.35	65.23

7.3.6 Determinación de color de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

El análisis de color por medio del modelo Ciel*a*b de las tres bebidas se muestra en la tabla 12, en la cual se observa que no hay diferencias significativas ($p>0.05$) entre las bebidas para ninguno de los parámetros. El color global es similar para las tres muestras, que a simple vista es café y traslúcido. La adición progresiva de café instantáneo en las bebidas B1, B2 y B3 resultó en formulaciones con valores de L* y a* más bajos, posiblemente por la mayor concentración de melanoidinas. Resultados similares fueron reportados por Vimercati et al. (2020) en un producto de kéfir saborizado con café instantáneo, en el que valores consecutivamente más pequeños de L* fueron medidos al añadir una concentración más alta de café (oscilaron entre 57,65 y 83,21).

Tabla 12. Parámetros Cel*a*b de tres bebidas saborizadas a base de lactosuero

Muestra	L	*a	*b
B1	52.07±5.06 ^a	31.05±0.68 ^a	79.62±3.69 ^a
B2	51.14±1.58 ^a	31.62±0.98 ^a	77.81±1.19 ^a
B3	50.25±4.99 ^a	30.95±1.77 ^a	78.03±2.54 ^a

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p<0.05$) $n=3$

7.3.7 Ensayo de digestibilidad in vitro de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

En este ensayo no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las bebidas B1, B2 y B3 (ver tabla 13), esto se debió a que todas se elaboraron con la misma base de lactosuero (SHD), por lo cual se infiere que los demás ingredientes de la formulación no afectan en su proporción a la digestibilidad de la bebida a que la β -LG no es hidrolizada por la pepsina y por ende esto se debe a que, durante el proceso de hidrólisis del lactosuero, dicha proteína no sufrió rupturas que afectaran su tamaño molecular. Resultados similares reportaron Kitabatake and Kinekawa (1998), afirmando que la pepsina porcina no pudo hidrolizar β -LG por encima de pH 4.0.

Tabla 13. Porcentaje de digestibilidad de tres bebidas de lactosuero

Muestra	Digestibilidad gástrica (%)	Digestibilidad intestinal (%)
B1	82.10±0.31 ^a	83.27±0.59 ^a
B2	82.20±0.31 ^a	83.63±0.44 ^a
B3	81.65±0.81 ^a	83.53±0.38 ^a

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) $n=3$

7.3.8 Análisis microbiológico de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Los microorganismos presentes en la leche y el lactosuero pueden incluir patógenos, organismos deterioradores, y algunos condicionalmente beneficiosos como en el caso de las bacterias ácido lácticas (BAL). Al igual que las bases, las bebidas no presentaron crecimiento alguno de colonias en el conteo en placa de las pruebas microbiológicas realizadas (tabla 14). Por lo tanto, se consideró que el proceso de pasteurización fue eficiente para las formulaciones adicionadas con diversos ingredientes. Es importante asegurar la calidad microbiológica ya que los productos lácteos pasteurizados representan algunos de los alimentos más seguros disponibles (Boor, Wiedmann, Murphy, & Alcaine, 2017) y este proceso reduce los

problemas de deterioro en el caso de la bebida que se elaboró. Adicionalmente a las propiedades funcionales estudiadas en este proyecto, se sabe que los péptidos del lactosuero también poseen propiedades antimicrobianas, por lo que es posible que por esta razón también haya cierta inhibición de algunos microorganismos (Gupta & Prakash, 2017).

Tabla 14. Conteo de UFC/mL de tres bebidas de lactosuero.

Muestra	Dilución	Bacterias mesófilas aerobias (UFC/mL) ^a	Coliformes totales (UFC/mL) ^b	Mohos y levaduras (UFC/mL) ^c
B1	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p
B2	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p
B3	10 ⁻²	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁴	s/p	s/p	s/p
	10 ⁻⁶	s/p	s/p	s/p

s/p= sin presencia

7.3.9 Análisis sensorial de tres formulaciones de bebidas de lactosuero

Las tres formulaciones de bebidas fueron evaluadas por 160 panelistas, de los cuales 87 fueron mujeres y 73 hombres en un rango de edad de los 15 a los 76 años. Los participantes provinieron de distintos municipios del estado de Hidalgo, Estado de México y Veracruz, calificando los atributos de color, olor y sabor en una escala hedónica de 5 puntos. En la tabla 15, se muestran los resultados para cada atributo. Los datos demostraron que, para los atributos de color y olor, no hubo una diferencia significativa ($p > 0.05$) debido a que probablemente la cantidad de café añadida a cada formulación no fue lo suficientemente distinta para causar que los panelistas notaran cambios entre formulaciones. Sin embargo, para el atributo sabor, si se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las que las mejores calificadas y aceptadas fueron las B2 y B3 con valores de 3.06 y 3.23 respectivamente. Claramente se observó la preferencia por las bebidas con más

concentración de café y con más dulzor. Los comentarios escritos en las fichas por algunos panelistas remarcaron que preferirían un sabor a café aún más concentrado que el que se les ofreció y algunos otros mencionaron lo mismo sobre la intensidad del dulzor. Los panelistas que mejor calificaron las bebidas tendían a encontrarse en los rangos de edad mayores a los 23 años, siendo que la mayoría de los más jóvenes colocaron calificaciones menores debido a su baja preferencia por el sabor a café. Ninguno de los participantes mencionó encontrar notas amargas relacionadas con el lactosuero, cumpliendo así con el objetivo de enmascarar dichas sensaciones astringentes características de la matriz.

Tabla 15. Aprobación de los atributos sensoriales de tres bebidas de lactosuero

Atributo	Color	Olor	Sabor
Bebida 1	3.775±0.830 ^a	3.388±0.956 ^a	2.725±1.647 ^a
Bebida 2	3.738±0.799 ^a	3.513±0.805 ^a	3.069±1.373 ^b
Bebida 3	3.819±0.866 ^a	3.569±1.052 ^a	3.231±1.588 ^b

Letras diferentes representan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$) $n=3$

8 CONCLUSIONES

Se elaboraron satisfactoriamente cuatro bases de lactosuero. Las bases SHD y SND se deslactosaron obteniendo una reducción de 75.58% y 76.10% respectivamente. Las dos bases con proteína hidrolizada (SH y SHD) presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a las no hidrolizadas (SN y SND), presentando valores más altos de inhibición de ABTS de 0.59 y 0.60 meq Trolox respectivamente. Para las bases SH y SHD se observó una disminución del peso molecular de las proteínas, llegando a fracciones menores a 10.22 kDa, igualmente hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el tamaño de partícula pues se reportaron fracciones hasta de 137.40 y 157.20 r.nm respectivamente. Además, hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el punto isoeléctrico, presentando una disminución al obtenerse valores de 3.04 y 2.29 para las bases SH y SHD respectivamente, correspondiendo a fracciones de 15 a 40 aminoácidos con posible actividad funcional. Asimismo, se mejoró la estabilidad de las bases hidrolizadas, con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los resultados obtenidos de -14.50 y -11.73 mV en potencial Z. También hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la digestibilidad de las bases mencionadas, con una absorción más alta a nivel intestinal del 83.7% en ambos tratamientos. Con estos resultados, se eligió la base SND para elaborar tres bebidas funcionales, de las cuales las bebidas B2 y B3 tuvieron una mayor aceptación sensorial, con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el atributo sabor, siendo las que contenían una mayor proporción de café. Entre las tres bebidas (B1, B2 y B3) hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto al peso molecular (13 kDa), punto isoeléctrico, tamaño de partícula, potencial Z, propiedades térmicas, colorimetría, digestibilidad y actividad antioxidante (0.69 meq Trolox en ABTS). Sin embargo, al comparar las bebidas con la base con la que se elaboraron (SND), se observó agregación de las proteínas debido a la doble pasteurización, derivando en diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el tamaño de partícula y peso molecular, y en una temperatura de desnaturalización de las proteínas menor (entre 61 y 65 °C). Sin embargo, no hubo presencia de microorganismos indicadores de contaminación.

9 BIBLIOGRAFÍA

- Abdelkarim, G., Benaicha, S., Elmajdoub, N., Bellaoui, M., & Hamal, A. (2014). What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3, 174-179. doi:10.11648/j.ijnfs.20140303.16
- Aejazuddin, D. Q. M., & Khurshid, M. (2018). Free Radicals and their Management. *American Journal of Pharmacy And Health Research*, 6. doi:10.46624/ajphr.2018.v6.i4.001
- Agarkova, E. Y., Kruchinin, A. G., Glazunova, O. A., & Fedorova, T. V. (2019). Whey Protein Hydrolysate and Pumpkin Pectin as Nutraceutical and Prebiotic Components in a Functional Mousse with Antihypertensive and Bifidogenic Properties. *Nutrients*, 11(12). doi:10.3390/nu11122930
- Al-Saadi, J. (2014). Effect of Heat Treatment on Whey Proteins Denaturation in the Presence and Absence of Lactose. *Journal of Zankoy Sulaimani- Part A*, 16, 271-279. doi:10.17656/jzs.10330
- Alais, C., & Godina, A. L. (1985). *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera*: Reverté.
- Almeida, C. C., Monteiro, M. L. G., Costa-Lima, B. R. C. d., Alvares, T. S., & Conte-Junior, C. A. (2015). In vitro digestibility of commercial whey protein supplements. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 7-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.038>
- Alsaed, A., Ahmad, R., Aldoomy, H., El-Qader, S., Saleh, D., Sakejha, H., & Mustafa, L. (2013). © Asian Network for Scientific Information, 2013 Characterization, Concentration and Utilization of Sweet and Acid Whey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 12, 172-177.
- Alugoju, P., Jestadi, D., & Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
- Alvarado Carrasco, C., & Guerra, M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 23, 45-50.
- Araujo-Guerra, Á., Monsalve-Castro, L., & Quintero-Tovar, A. (2013). Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 4, 55. doi:10.22490/21456453.992
- Arsić, S., Bulatović, M., Zarić, D., Kokeza, G., Subić, J., & Rakin, M. (2018). Functional fermented whey carrot beverage-qualitative, nutritive and techno-economic analysis. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(2), 13496-13504.
- Barukčić, I., Božanić, R., & Tratnik, L. (2008). Whey-based beverages-a new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 58, 257-274.

- Bernal, V., & Jelen, P. (1985). Thermal Stability of Whey Proteins – A Calorimetric Study. *Journal of Dairy Science*, 68(11), 2847-2852. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81177-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81177-2)
- Biesalski, H., Dragsted, L., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Muller, M., Schrenk, D., . . . Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 25, 1202-1205. doi:10.1016/j.nut.2009.04.023
- Boor, K. J., Wiedmann, M., Murphy, S., & Alcaine, S. (2017). A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9933-9951. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-12969>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254. doi:[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brainina, K., Stozhko, N., & Vidrevich, M. (2019). Antioxidants: Terminology, Methods, and Future Considerations. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(8), 297. doi:10.3390/antiox8080297
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Britten, M., Giroux, H. J., & Gaudin, V. (1994). Effect of pH during heat processing of partially hydrolyzed whey protein. *J Dairy Sci*, 77(3), 676-684. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)76999-X
- Burrington, K. (2017). Using Dairy Proteins in Ready to Drink Beverages Retrieved from <https://www.adpi.org/Portals/0/Academy/Intel%20and%20Commentaries/Using%20Dairy%20Proteins%20in%20Ready%20to%20Drink%20Beverages.pdf>
- CANILEC. (2018). Estadísticas del sector lácteo 2010-2018. Retrieved from <https://www.canilec.org.mx/estadisticas%20lacteos%202019.pdf>
- Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., . . . Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta Potential of Food Matrices. *Food Engineering Reviews*, 10(3), 113-138. doi:10.1007/s12393-018-9176-z
- Chacón-Gurrola, L. R., Chávez-Martínez, A., Rentería-Monterrubio, A. L., & Rodríguez-Figueroa, J. C. (2017). Proteínas del lactosuero: Usos, relación con la salud y bioactividades. *Interciencia*, 42(11), 719-726.
- Chudy, S., Biliska, A., Kowalski, R., & Teichert, J. (2020). Colour of milk and milk products in CIE L*a*b* space. *Medycyna weterynaryjna*, 76, 77-81. doi:10.21521/mw.6327

- Corrêa, A. P. F., Daroit, D. J., Fontoura, R., Meira, S. M. M., Segalin, J., & Brandelli, A. (2014). Hydrolysates of sheep cheese whey as a source of bioactive peptides with antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activities. *Peptides*, 61, 48-55. doi:<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.09.001>
- Corrochano, A. R., Buckin, V., Kelly, P. M., & Giblin, L. (2018). Invited review: Whey proteins as antioxidants and promoters of cellular antioxidant pathways. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 4747-4761. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13618>
- Cui, Q., Sun, Y., Zhou, Z., Cheng, J., & Guo, M. (2021). Effects of Enzymatic Hydrolysis on Physicochemical Properties and Solubility and Bitterness of Milk Protein Hydrolysates. *Foods*, 10(10), 2462.
- de Wit, J. N. (2001). *Lecturer's Handbook on Whey and Whey Products* (First ed.). Brussels, Belgium: European Whey Products Association.
- Deeth, H., & Bansal, N. (2019). Chapter 1 - Whey Proteins: An Overview. In H. C. Deeth & N. Bansal (Eds.), *Whey Proteins* (pp. 1-50): Academic Press.
- Delaveau, J., & Jelen, P. (1979). Effect of pH on Viscosity of Sweet and Acid Wheys. *Journal of Dairy Science*, 62(9), 1455-1457. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83445-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83445-1)
- Deshavath, N. N., Mukherjee, G., Goud, V. V., Veeranki, V. D., & Sastri, C. V. (2020). Pitfalls in the 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: Interference of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 180-185. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.045>
- Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., & Panić, M. (2004). Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology*, 219(4), 321-328. doi:10.1007/s00217-004-0950-1
- Durham, R. J., & Hourigan, J. A. (2007). 14 - Waste management and co-product recovery in dairy processing. In K. Waldron (Ed.), (pp. 332-387): Woodhead Publishing.
- Foegeding, E. A., Luck, P., & Vardhanabhuti, B. (2011). Milk Protein Products | Whey Protein Products. In J. W. Fuquay (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (pp. 873-878). San Diego: Academic Press.
- Fox, Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Whey and Whey Products* (pp. 755-769). Boston, MA: Springer US.
- Fox, Uniakce-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2nd ed.): Springer, Cham.
- Gauthier, S. F., & Pouliot, Y. (2003). Functional and Biological Properties of Peptides Obtained by Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins¹. *Journal of Dairy Science*, 86, E78-E87. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74041-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74041-7)

- Ghosh, B. C., Prasad, L. N., & Saha, N. P. (2017). Enzymatic hydrolysis of whey and its analysis. *Journal of food science and technology*, 54(6), 1476-1483. doi:10.1007/s13197-017-2574-z
- Gruden, Š., & Poklar Ulrih, N. (2021). Diverse Mechanisms of Antimicrobial Activities of Lactoferrins, Lactoferricins, and Other Lactoferrin-Derived Peptides. *Int J Mol Sci*, 22(20). doi:10.3390/ijms222011264
- Gupta, C., & Prakash, D. (2017). Therapeutic Potential of Milk Whey. *Beverages*, 3(3), 31.
- Hernández-Ledesma, B., Recio, I., & Amigo, L. (2008). β -Lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids*, 35(2), 257-265. doi:10.1007/s00726-007-0585-1
- Hogan, S. A., & O'Callaghan, D. J. (2013). Moisture sorption and stickiness behaviour of hydrolysed whey protein/lactose powders. *Dairy science & technology*, 93(4), 505-521. doi:10.1007/s13594-013-0129-2
- Jackson, C. M., Esnouf, M. P., Winzor, D. J., & Duewer, D. L. (2007). Defining and measuring biological activity: applying the principles of metrology. *Accreditation and Quality Assurance*, 12(6), 283-294. doi:10.1007/s00769-006-0254-1
- Jovanovic, S., Barac, M., Macej, O., Vucic, T., & Lacnjevac, C. *SDS-PAGE Analysis of Soluble Proteins in Reconstituted Milk Exposed to Different Heat Treatments*: Sensors (Basel). 2007 Mar 23;7(3):371-83. eCollection 2007 Mar.
- Khezri, S., Seyedsaleh, M., Emami, N., & Dehghan, P. (2016). Whey: Characteristics, Applications and Health Aspects. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 7, 1383-1389.
- Kilara, A., & Vaghela, M. N. (2018). 4 - Whey proteins. In R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in Food Processing (Second Edition)* (pp. 93-126): Woodhead Publishing.
- Kitabatake, N., & Kinekawa, Y.-I. (1998). Digestibility of Bovine Milk Whey Protein and β -Lactoglobulin in Vitro and in Vivo. *J Agric Food Chem*, 46(12), 4917-4923. doi:10.1021/jf9710903
- Kitts, D. D. (1994). Bioactive substances in food: identification and potential uses. *Can J Physiol Pharmacol*, 72(4), 423-434. doi:10.1139/y94-062
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177-187. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.007>
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., . . . Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9, Supplement 2), 71-88. doi:[https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00995-0)

- Królczyk, J. B., Dawidziuk, T., Janiszewska-Turak, E., & Sołowiej, B. (2016). Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(3), 157-165. doi:10.1515/pjfn-2015-0052
- Kumar, R., Kumari Chauhan, S., Shinde, G., Subramanian, V., & Nadanasabapathi, S. (2018). Whey Proteins: A potential ingredient for food industry- A review. *Asian Journal Of Dairy and Food Research*, 37, 283-290. doi:10.18805/ajdfr.DR-1389
- Le Maux, S., Bouhallab, S., Giblin, L., Brodkorb, A., & Croguennec, T. (2014). Bovine β -lactoglobulin/fatty acid complexes: binding, structural, and biological properties. *Dairy science & technology*, 94(5), 409-426.
- León-López, A., Pérez-Marroquín, X. A., Campos-Lozada, G., Campos-Montiel, R. G., & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Characterization of Whey-Based Fermented Beverages Supplemented with Hydrolyzed Collagen: Antioxidant Activity and Bioavailability. *Foods*, 9(8), 1106.
- Lone, A. A., Ganai, S. A., Ahanger, R. A., Bhat, H. A., Bhat, T. A., & Wani, I. A. (2013). Free radicals and antioxidants: Myths, facts and mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 7(3), 91-113.
- Madureira, A. R., Pereira, C. I., Gomes, A. M. P., Pintado, M. E., & Xavier Malcata, F. (2007). Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 40(10), 1197-1211. doi:10.1016/j.foodres.2007.07.005
- Mann, B., Athira, S., Sharma, R., Kumar, R., & Sarkar, P. (2019). Chapter 14 - Bioactive Peptides from Whey Proteins. In H. C. Deeth & N. Bansal (Eds.), *Whey Proteins* (pp. 519-547): Academic Press.
- Marcucci, C. T., Dias, R. C. E., Almeida, M. B., & Benassi, M. D. T. (2017). Antioxidant Activity of Commercial Soluble Coffees. *Beverages*, 3(2), 27.
- Marnila, P., & Korhonen, H. (2011). Milk Proteins | Immunoglobulins (pp. 807-815).
- Marshall, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev*, 9(2), 136-156.
- Mazorra-Manzano, M. Á., & Moreno-Hernández, J. M. (2019). Propiedades y opciones para valorizar el lactosuero de la quesería artesanal. *CienciaUAT*, 14, 133-144.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., . . . Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food Funct*, 5(6), 1113-1124. doi:10.1039/c3fo60702j
- Minj, S., & Anand, S. (2020). Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. *Dairy*, 1(3), 233-258.
- Mota, M., Ferreira, I., Oliveira, M., Rocha, C., Teixeira, J., Torres, D., & Gonçalves, M. (2004). Enzymatic Hydrolysis of Whey Protein Concentrates: Peptide

- HPLC Profiles. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 2625-2639. doi:10.1081/jlc-200028429
- Mudgil, D., & Barak, S. (2019). 3 - Dairy-Based Functional Beverages. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), (pp. 67-93): Woodhead Publishing.
- Nishanthi, M., Vasiljevic, T., & Chandrapala, J. (2017). Properties of whey proteins obtained from different whey streams. *International Dairy Journal*, 66, 76-83. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.009>
- NOM-109-SSA1. (1994). Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. NOM-109-SSA1-1994. In S. d. Salud (Ed.), *NOM-109-SSA1-1994*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-110-SSA1. (1994). Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Norma Oficial Mexicana. NOM-110-SSA1-1994. In S. d. Salud (Ed.), *NOM-110-SSA1-1994*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-111-SSA1. (1994). Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Norma Oficial Mexicana. NOM-111-SSA1-1994. In S. d. Salud (Ed.), *NOM-111-SSA1-1994*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-113-SSA1. (1994). Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. In S. d. Salud (Ed.), *NOM-113-SSA1-1994*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-155-SCFI. (2012). Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. In S. d. Economía (Ed.), *NOM-155-SCFI-2012*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- NOM-210-SSA1. (2014). Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. In S. d. Salud (Ed.), *NOM-210-SSA1-2014*. CDMX, México: Diario Oficial de la Federación.
- O'Mahony, J. A., & Fox, P. F. (2013). Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. In P. L. H. McSweeney & P. F. Fox (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th Edition* (pp. 43-85). Boston, MA: Springer US.
- Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J. A., López-Hernández, E., & García-Galindo, H. S. (2013). Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *Universidad y ciencia*, 29, 277-286.
- OECD. (2021). 7. Lácteos y sus productos. Retrieved from <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/8b675a1a-es/index.html?itemId=/content/component/8b675a1a-es>

- Osorio-González, C. S., Sandoval-Salas, F., Hernández-Rosas, F., Hidalgo-Contreras, J. V., Gómez-Merino, F. C., & Ávalos de la Cruz, D. A. (2019). Potencial de aprovechamiento del suero de queso en México. *Agroproductividad*, 11(7), 101-106.
- Park, Y. W., & Nam, M. S. (2015). Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. *Korean journal for food science of animal resources*, 35(6), 831-840. doi:10.5851/kosfa.2015.35.6.831
- Parra Huertas, R. A. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 62(1), 4967-4982.
- Passos, C. P., Kukurová, K., Basil, E., Fernandes, P. A. R., Neto, A., Nunes, F. M., . . . Coimbra, M. A. (2017). Instant coffee as a source of antioxidant-rich and sugar-free coloured compounds for use in bakery: Application in biscuits. *Food Chem*, 231, 114-121. doi:10.1016/j.foodchem.2017.03.105
- Paulsson, M., & Dejmek, P. (1990). Thermal denaturation of whey proteins in mixtures with caseins studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Dairy Science*, 73, 590-600.
- Pazzola, M., Stocco, G., Dettori, M. L., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2019). Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 3947-3955. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2018-15397>
- Pihlanto-Leppälä, A., Koskinen, P., Piilola, K., Tupasela, T., & Korhonen, H. (2000). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of whey protein digests: concentration and characterization of active peptides. *J Dairy Res*, 67(1), 53-64. doi:10.1017/s0022029999003982
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem*, 53(10), 4290-4302. doi:10.1021/jf0502698
- Ramos, O., Pereira, R., Martins, A., Rodrigues, R. M., Fuciños, C., Teixeira, J., . . . Vicente, A. (2015). Design of Whey Protein Nanostructures for Incorporation and Release of Nutraceutical Compounds in Food. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57, 1377-1393. doi:10.1080/10408398.2014.993749
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Ribeiro, C., Zimeri, J. E., Yildiz, E., & Kokini, J. L. (2003). Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymers*, 51(3), 273-280. doi:[https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00182-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00182-0)
- Rittmanic, S. (2006). U.S. Whey proteins in ready-to-drink beverages. *Applicatons Monograph Beverages*, 1-8.

- Romulo, A. (2020). The Principle of Some In vitro Antioxidant Activity Methods: Review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 426(1), 012177. doi:10.1088/1755-1315/426/1/012177
- Roos, Y. H. (1995). CHAPTER 5 - Food Components and Polymers. In Y. H. Roos (Ed.), *Phase Transitions in Foods* (pp. 109-156). San Diego: Academic Press.
- Ryan, M., & Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15, 479-498. doi:10.1007/s11157-016-9402-1
- Saavedra-Suárez, P., León-López, A., Guerrero-Aguilar, C., Campos-Montiel, R. G., & Aguirre-Álvarez, G. (2021). *Actividad antioxidante de hidrolizados de proteína de suero obtenidos por método enzimático*. Paper presented at the XLII Encuentro Nacional de la AMIDIQ, Ciudad de México. <https://amidiq.com/avances-en-ingenieria-quimica/>
- Schägger, H., & von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166(2), 368-379. doi:[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90587-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90587-2)
- Schuck, P., Blanchard, E., Dolivet, A., Méjean, S., Onillon, E., & Jeantet, R. (2005). Water activity and glass transition in dairy ingredients. *Le Lait*, 85(4-5), 295-304.
- Sehwag, S., & Das, M. (2013). Antioxidant Activity: An Overview. *Research & Reviews: Journal of Food Science & Technology*, 2, 1-10.
- Sharma, P., Trivedi, N., & Gat, Y. (2017). Development of functional fermented whey-oat-based product using probiotic bacteria. *3 Biotech*, 7(4), 272-272. doi:10.1007/s13205-017-0906-3
- Sinha, R., Radha, C., Prakash, J., & Kaul, P. (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, 101(4), 1484-1491. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.021>
- Skrzypczak, K., Fornal, E., Waśko, A., & Gustaw, W. (2019). Effects of probiotic fermentation of selected milk and whey protein preparations on bioactive and technological properties. *Italian Journal of Food Science*, 31, 437-450. doi:10.14674/IJFS-1438
- Skrzypczak, K., Gustaw, W., Fornal, E., Kononiuk, A., Michalak-Majewska, M., Radzki, W., & Waśko, A. (2020). Functional and Technological Potential of Whey Protein Isolate in Production of Milk Beverages Fermented by New Strains of *Lactobacillus helveticus*. *Applied Sciences*, 10(20), 7089.
- Sverdlov, A. L., Ngo, D. T. M., & Colucci, W. S. (2020). 8 - Oxidative Stress in Heart Failure. In G. M. Felker & D. L. Mann (Eds.), *Heart Failure: a Companion to Braunwald's Heart Disease (Fourth Edition)* (pp. 115-126.e116). Philadelphia: Elsevier.

- Tadesse, S. A., & Emire, S. A. (2020). Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market. *Heliyon*, 6(8), e04765. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04765>
- Tsakali, E., Petrotos, K., D'Alessandro, A., & Goulas, P. (2010). *A review on whey composition and the methods used for its utilization for food and pharmaceutical products.*
- Valencia-Denicia, E., & Ramírez-Castillo, M. L. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*, 73, 27-31.
- Vimercati, W. C., Araújo, C. d. S., Macedo, L. L., Fonseca, H. C., Guimarães, J. S., Abreu, L. R. d., & Pinto, S. M. (2020). Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. *LWT*, 123, 109069. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109069>
- White, S. S., Fox, K. M., Jervis, S. M., & Drake, M. A. (2013). Influence of heating and acidification on the flavor of whey protein isolate. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1366-1379. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5935>
- Yadav, J. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnol Adv*, 33(6 Pt 1), 756-774. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.07.002
- Yaqub, S., Sakandar, H. A., Huma, N., Sadiq, F. A., Khan, Q. F., Imran, M., . . . Sameen, A. (2018). Effects of artificial sweeteners on the quality parameters of yogurt during storage. *Progress in Nutrition*, 20, 57-63.
- Zhang, X., Chen, F., & Wang, M. (2014). *Bioactive Substances of Animal Origin.*

10 ANEXOS



Universidad
Politécnica
Metropolitana de
Hidalgo



Congreso Internacional de Investigación de Academia Journals Hidalgo 2021

CERTIFICADO

otorgado a

Carolina Guerrero-Aguilar
Antonio de Jesús Cenobio-Galindo
Arely León-López
Pinito Saavedra-Suárez
Xóchitl Alejandra Pérez-Marroquín
Gabriel Aguirre-Álvarez

por su artículo titulado

Capacidad Antioxidante y Propiedades Físicoquímicas de Hidrolizados de Lactosuero

(Artículo No. HID442)

El artículo fue presentado en el congreso desarrollado los días 20 al 22 de octubre de 2021, teniendo como sede la Universidad Politécnica Metropolitana de Hidalgo. El artículo está incluido en las siguientes publicaciones: (1) en el portal de Internet academiajournals.com, con ISSN 1946-5351 online, Vol. 13, 2021, #9 e indexación en la base de datos [Fuente Académica Plus de EBSCOHOST](#), Massachusetts, Estados Unidos y (2) en el libro digital ebook con titulado "Trabajos de Investigación en la Educación Superior - Hidalgo 2021", con ISBN 978-1-939982-88-9 online.



DR. RAFAEL MORAS, P.E.

Editor, Academia Journals



Congreso Academia Journals Hidalgo 2021
<https://www.academiajournals.com/Hidalgo>