



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**REACCIONES TÉRMICAS DE LA LACTOSA Y SU INFLUENCIA EN LECHE
FLUIDA Y PRODUCTOS LÁCTEOS CONCENTRADOS**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:

Daniel Sánchez Álvarez



CIUDAD DE MÉXICO,

2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: SANDRA PÉREZ MUNGUÍA

VOCAL: JUAN CARLOS RAMÍREZ OREJEL

SECRETARIO: HIRAM FERNANDO RAMÍREZ CAHERO

1er SUPLENTE: JOSÉ LUIS GODÍNEZ RODRÍGUEZ

2° SUPLENTE: JANELI SOLÍS GARFIAS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

HIRAM FERNANDO RAMÍREZ CAHERO

SUSTENTANTE:

DANIEL SÁNCHEZ ÁLVAREZ

Contenido

Lista de figuras

Lista de tablas

Lista de siglas y abreviaciones

Resumen

1.	Introducción.....	1
2.	Objetivo	2
3.	Metodología	3
4.	Marco Teórico	5
4.1.	Generalidades	5
4.1.1.	Leche	5
4.1.1.1.	Propiedades fisicoquímicas.....	6
4.1.1.2.	Biosíntesis de la leche.....	7
4.1.1.3.	Macrocomponentes.....	9
4.1.1.3.1.	Grasa	9
4.1.1.3.2.	Proteínas lácteas	11
4.1.1.3.2.1.	Caseínas	12
4.1.1.3.2.2.	Proteínas del suero.....	14
4.1.1.3.3.	Lactosa	16
4.1.1.3.3.1.	Estructura química.....	17
4.1.1.3.3.2.	Biosíntesis.....	18
4.1.1.3.3.2.1.	β -1,4-Galactosil-transferasa (GT)	18
4.1.1.4.	Microcomponentes.....	21
4.1.1.4.1.	Vitaminas	21
4.1.1.4.2.	Ácidos orgánicos hidrosolubles	21
4.1.1.4.3.	Minerales.....	22
4.1.1.4.4.	Compuestos nitrogenados no proteínicos	23
4.1.1.4.5.	Urea	23
4.2.	Antecedentes	24
4.2.1.	Propiedades físicas y químicas de la lactosa	24
4.2.1.1.	Reacciones químicas generales de la lactosa	26
4.2.2.	Síntesis de derivados de importancia comercial.....	26
4.2.3.	Equilibrios y reacciones químicas de la lactosa en sistemas lácteos	28
4.2.3.1	Anomerización	28
4.2.3.2	Equilibrio de enolización	29
4.2.3.2.1.	Epilactosa	30
4.2.3.2.2.	Lactulosa.....	31
4.2.3.3.	Reacciones generales de oscurecimiento no enzimático	33
4.2.3.3.1.	Reacciones de Maillard	33
4.2.3.3.1.1.	Condiciones y rutas de la reacción de Maillard	36
4.2.4.	Tratamientos térmicos de la leche	38
4.2.4.1.	Termización.....	39
4.2.4.2.	Pasteurización	39
4.2.4.3.	Esterilización comercial	40
4.2.4.4.	Ultrapasteurización	40
4.2.4.5.	Esterilización clásica	40

4.2.4.6.	Leches concentradas.....	42
4.2.4.6.1.	Leche condensada.....	42
4.2.4.6.1.1.	Leche condensada azucarada	42
4.2.4.6.2.	Leche evaporada	43
4.2.4.6.3.	Leche en polvo	43
4.2.4.7.	Lactosuero	44
4.2.4.8.	Dulces a base de leche	45
4.2.4.8.1.	Dulce de leche	45
4.2.4.8.2.	Cajeta.....	46
4.2.5.	Reacciones térmicas de la lactosa.....	47
4.2.6.	Reacciones y productos de Maillard en los productos lácteos	49
4.2.7.	Indicadores térmicos comunes en la leche y los productos lácteos..	50
5.	Parte central y desarrollo	51
5.1.	Reacciones de la lactosa en leche tratada térmicamente	51
5.2.	Isomerización: mutarrotación y enolización	53
5.2.1.	Lactulosa y epilactosa.....	55
5.2.2.	Reacciones de la lactulosa	57
5.3.	Reacciones de Maillard durante el calentamiento de la leche	60
5.3.1.	Reactividad de la lactosa	65
5.3.2.	HMF y productos ácidos	66
5.3.3.	Productos con propiedades antioxidantes	68
5.3.4.	Melanoidinas en los sistemas lácteos.....	71
5.3.5.	Afectación de aminoácidos y glicosilación de proteínas lácteas.....	72
5.4.	Principales indicadores térmicos en leche y productos lácteos	74
5.4.1.	Lactulosa Lisina	76
5.4.2.	Furosina y piridosina	77
5.4.3.	Carboximetil-lisina, lisil-pirralina e isomaltol-galactosilado	80
5.5.	Principales compuestos de degradación térmica de la lactosa	82
5.6.	Otras reacciones: formación de ureidos	88
5.7.	Otras reacciones: Complejación de lactosa con metales	89
5.8.	Recapitulación final	94
5.9.	Consideraciones finales.....	104
6.	Conclusiones	105
7.	Referencias	108

Lista de figuras

Figura 1. Fases de la leche y sus principales componentes. Walstra, Wouters & Geurts (2006)	6
Figura 2. Estructura general de la glándula mamaria y organización alveolar. Esquema formulado en el presente trabajo con información recopilada de Cerón-A (2005)	8
Figura 3. Secreción de los glóbulos grasos de la leche al lumen alveolar mamario. Esquema formulado en el presente trabajo con información de Gantner <i>et al.</i> (2015)	10
Figura 4. Nomenclatura de las proteínas de la leche. Fox <i>et al.</i> (2015)	13
Figura 5. Concentración de lactosa en leche de diferentes especies. Shendurse & Khedkar (2016).	16
Figura 6. Estructura química de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo con información recopilada de Walstra <i>et al.</i> (2006)	17
Figura 7. Biosíntesis de lactosa en el interior del galactocito. Shendurse & Khedkar (2016)	20
Figura 8. Formas anoméricas de la lactosa y sus condiciones de formación. Fox <i>et al.</i> (2015)	25
Figura 9. Derivados de lactosa de importancia comercial. Seki & Saito (2012)	27
Figura 10. Equilibrio de anomerización o mutarrotación de la lactosa. Belitz <i>et al.</i> (2009)	28
Figura 11. Equilibrio de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein a partir de una aldosa. Belitz <i>et al.</i> (2009)	29
Figura 12. Mutarrotación de la epilactosa. Esquema formulado en el presente trabajo con base en información Walstra <i>et al.</i> (2006)	30
Figura 13. Estructura de la β -lactulosa. Zimmer <i>et al.</i> (2017)	31
Figura 14. Reacciones de Maillard: formación del producto de Amadori. Van Boekel (1998)	34
Figura 15. Formación de dihidropirazinas y pirazinas a partir de α -aminocetonas. Nursten (2011).	34
Figura 16. Estructura básica de algunas melanoidinas. Wong (2018)	35
Figura 17. Rutas principales de la reacción de Maillard a partir del producto de Amadori. Nursten (2011)	37
Figura 18. Leches concentradas	43
Figura 19. Lactosuero	44
Figura 20. Dulce de Leche	45
Figura 21. Cajeta	46
Figura 22. Compuestos provenientes de la transformación térmica de la lactosa en la leche. Esquema formulado en el presente trabajo	48
Figura 23. Reacciones generales de la lactosa en leche tratada térmicamente. Esquema formulado en el presente trabajo	52
Figura 24. Mutarrotación, enolización e hidratación de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo	54
Figura 25. Enolización y mutarrotación de la lactulosa y la epilactosa: formas furanósicas y piranósicas. Esquema formulado en el presente trabajo	56
Figura 26. Ruta de la degradación térmica o térmico-alkalina de la lactulosa. Esquema formulado en el presente trabajo	59
Figura 27. Reacciones de Maillard de la lactosa. Basado en Fox <i>et al.</i> (2015)	61
Figura 28. Formación de furanoides y ácidos por dos distintas vías de degradación térmica de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo	67
Figura 29. Propuesta de formación de reductonas y dehidrorreductonas en la reacción de Maillard en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo	69
Figura 30. Formación de aminorreductonas en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo	70

Figura 31. Indicadores térmicos más comunes empleados en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo	75
Figura 32. Formación de lactulosa-lisina a partir de lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo	76
Figura 33. Formación de furosina ligada a proteínas a partir de lactosa. Belitz <i>et al.</i> (2009)	77
Figura 34. Productos de hidrólisis de las proteínas en un sistema lácteo tratado térmicamente	78
Figura 35. Formación de carboximetil-lisina (CML) Esquema adaptado de Belitz <i>et al.</i> (2009)	80
Figura 36. Isomerización del isomaltol-galactosilado. Morales & Arnoldi (1999)	86
Figura 37. Formación de productos aminados a partir de isomaltol-galactosilado. Esquema formulado en el presente trabajo	87
Figura 38. Formación de ureidos de lactosa y glucosa. Esquema formulado en el presente trabajo.	88
Figura 39. Formación de complejos metálicos con α -lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo	89
Figura 40. Posible estructura de un complejo metal-melanoidina. Esquema formulado en el presente trabajo.....	90
Figura 41. Formación de complejos metálicos con lactulosa-lisina. Adoptado de Ramonaityté <i>et al.</i> (2009)	91
Figura 42. Oxidación del producto lactulosa-glicina en presencia de O_2 y Cu^{2+} . Ramonaityté <i>et al.</i> (2009)	92
Figura 43. Estructuras propuestas de los complejos melanoidinas- Ca^{2+} . Esquema formulado en el presente trabajo.....	93
Figura 44. Formación de complejos metálicos con β -epilactosa. Esquema formulado en el presente trabajo	93
Figura 45. Productos de la degradación térmica de la lactosa con importancia nutrimental. Esquema formulado en el presente trabajo.....	95
Figura 46. Compuestos de la degradación térmica de la lactosa con importancia nutraceútica y antimicrobiana	97
Figura 47. Compuestos de la degradación térmica de la lactosa con importancia sensorial. Esquema formulado en el presente trabajo.....	99
Figura 48. Estructuras de las melanoidinas potencialmente formadas en leche. Esquema formulado en el presente trabajo	100
Figura 49. Indicadores formados en las distintas etapas de las reacciones térmicas de la leche. Esquema formulado en el presente trabajo.....	102
Figura 50. Compuestos potencialmente tóxicos que se forman durante el tratamiento térmico de la leche. Esquema formulado en el presente trabajo	103

Lista de tablas

Tabla 1. Especificaciones fisicoquímicas para la leche entera de vaca. NOM-155-SCFI-2012.....	5
Tabla 2. Perfil de ácidos grasos en la leche de vaca. Early (2012)	9
Tabla 3. Proteínas en la leche de vaca. Fox, et al. (2015)	11
Tabla 4. Composición de aminoácidos básicos en las caseínas y principales proteínas del suero.....	13
Tabla 5. Composición (%) de aminoácidos en proteína total, caseínas y seroproteínas en leche bovina	15
Tabla 6. Resumen de los principales tratamientos térmicos aplicados a la leche y su efecto en los componentes lácteos. IDF (2018)	41
Tabla 7. Principales compuestos provenientes de la degradación térmica de la lactosa en leche y productos lácteos	83

Lista de siglas y abreviaciones

n_D^{20} : Índice de refracción

1-DG: 1-desoxiosona 3-

DG: 3-desoxiosona 4-

DG: 4-desoxiosona

ADP: Adenosine diphosphate
(Difosfato de adenosina)

AG: Aparato de Golgi

ATP: Adenosine triphosphate
(trifosfato de adenosina)

a_w : Actividad de agua

BSA: Bovine Serum Albumin
(Albúmina Sérica Bovina)

CML: Carboximetil-lisina

CRA: Capacidad de retención de agua

Da: Dalton; kDa = kilodalton

Ea: Energía de activación

FAO: Food and Agriculture
Organization of the United Nations
(Organización de las Naciones Unidas
para la Alimentación y la Agricultura)

Gal: Galactosa

Gly: Glicina

GT: Galactosiltransferasa

HMF: 5-Hidroximetilfurfural

HMW: Alta masa molar

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta
Eficacia

HTST: High temperature short time
(temperatura elevada, corto tiempo)

IDF: International Dairy Federation

INIFAP: Instituto Nacional de
Investigaciones Forestales, Agrícolas
y Pecuarias

IUPAC: International Union of Pure
and Applied Chemistry (Unión
Internacional de Química Pura y
Aplicada)

Lact: Lactulosa

Lact-Gly: Lactulosa-glicina

L-Arg: L-Arginina

L-Lys: L-Lisina

LMW: Baja masa molar

LTLT: Long temperature Long time
(Temperatura alta, tiempo
prolongado)

MFGM: Milk fat globule membrane
(membrana del glóbulo graso de la
leche)

M ⁿ⁺ : Cation metálico	UDP: Uridine diphosphate (difosfato de uridina)
NDPasa: Nucleótido difosfatasa	UDP-galactosa: Difosfato de uridina galactosilado
NMX: Norma Mexicana	UDP-glucosa: Difosfato de uridina glucosilado
NOM: Norma Oficial Mexicana	UHT: Ultra High Temperature
NPN: Nitrógeno no proteínico	UHTd: UHT método directo
OIZ: Ornitino-imidazolinona	UHTi: UHT método indirecto
OM: Organización Mundial de la Salud	UMP: Uridine monophosphate (monofosfato de uridina)
Pi: Phosphate inorganic (fosfato inorgánico)	UNAD: Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia
ppb: Partes por billón	UTP: Uridine triphosphate (trifosfato de uridina)
PPi: Pyrophosphate inorganic (pirofosfato inorgánico)	α -LA: α -Lactoalbúmina
ppm: Partes por millón	CN: Caseína
PRODAR: Programa de Desarrollo de la Agroindustria Rural de América Latina y el Caribe	α_{s1} -CN, α_{s2} -CN: Caseínas alfa
<i>r</i> : Índice estadístico de correlación lineal de Pearson	β -CN: Caseína beta
SAGARPA: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural	β -LG: β -Lactoglobulina
SCFI: <i>Anteriormente</i> Secretaria de Comercio y Fomento Industrial	κ -CN: Caseína kappa
	μ M: Concentración micromolar
	pI: Punto isoelectrico

Resumen

El presente trabajo tuvo como propósito investigar las principales reacciones y rutas de degradación térmica del disacárido lactosa en leche fluida, leches concentradas, lactosuero y dulces lácteos, así como revisar la influencia de los compuestos químicos resultantes sobre las propiedades sensoriales, nutraceútics, nutrimentales y potencialmente toxicológicas de los productos lácteos, todas ellas de gran importancia en los alimentos. En particular, se estudiaron las reacciones químicas en las leches pasteurizada, ultrapasteurizada, evaporada, condensada azucarada, en leche en polvo, lactosuero dulce pasteurizado, dulce de leche y cajeta. Además, también se reconocieron compuestos de interés analítico y tecnológico empleados como indicadores térmicos, a fin de distinguir cuáles resultaban más adecuados para la evaluación de procesos moderados de calentamiento y cuáles para procesos más severos.

La investigación permitió conocer, resumir y esquematizar la vasta gama de compuestos generados durante las transformaciones térmicas de la lactosa. Entre los compuestos químicos formados destacan aquellos con una contribución sensorial (maltol, isomaltol, pirazinas y melanoidinas), nutraceútics (prebióticos: lactulosa, epilactosa, ácido fórmico y tagatosa, agentes antimicrobianos: aminorreductonas y antioxidantes: reductonas, aminorreductonas y melanoidinas), y aquellos utilizados como indicadores térmicos (lactulosa-lisina, lactulosa, epilactosa, furosina, piridosina, HMF, CML, isomaltol, isomaltol-galactosilado, lisil-pirralina). Finalmente, también se forman algunos compuestos de importancia toxicológica durante los procesos térmicos aplicados a la leche (HMF, furfural, 5-metilfurfural, alcohol furfurílico, metilglioxal y melanoidinas), especialmente durante tratamientos muy drásticos. No obstante, estos últimos sólo son relevantes cuando están presentes en elevadas concentraciones en los alimentos.

1. Introducción

La leche es un alimento apreciado no sólo por su excelente valor nutricional, sino también por las propiedades sensoriales, funcionalidad y valor nutracéutico de sus componentes. Dichas propiedades pueden modificarse significativamente durante su procesamiento, en particular durante la aplicación de los tratamientos térmicos destinados a garantizar la inocuidad de la leche fluida comercial, así como de aquellos aplicados en la elaboración de diferentes derivados lácteos.

Los principales cambios térmicos provienen de las reacciones químicas de los diversos componentes lácteos, especialmente de los más reactivos y abundantes, y pueden implicar efectos negativos, como la descomposición de nutrimentos o la formación de sustancias potencialmente tóxicas, y consecuencias positivas, como la formación de prebióticos y de compuestos agradables desde el punto de vista sensorial. La importancia de conocer tales transformaciones radica en que los compuestos generados influyen significativamente sobre las propiedades alimentarias de la leche y de los productos lácteos, así como en la preferencia de los consumidores.

Por lo anterior, resulta imperioso desarrollar una revisión detallada de la química de la leche y, en particular, de sus componentes más reactivos y abundantes, como es el caso de la lactosa. En ese sentido, se elaboraron esquemas de las principales reacciones químicas que ocurren durante el procesamiento térmico de la leche. Todo ello con la finalidad de advertir la importancia e influencia de los compuestos formados sobre las propiedades alimentarias de la leche procesada y los productos lácteos tradicionales, ya que la plena comprensión de estas relaciones posibilitará el mejoramiento y desarrollo de nuevas formulaciones lácteas.

2. Objetivo

General

Investigar las principales reacciones químico-térmicas de la lactosa para conocer sus productos mayoritarios de transformación y estudiar la influencia de estos sobre las propiedades nutrimentales, sensoriales, nutraceúticas y potencialmente toxicológicas de la leche fluida procesada, las leches concentradas, el lactosuero y los dulces lácteos.

Particulares

- Conocer las principales rutas, mecanismos y compuestos generados por la degradación químico-térmica de la lactosa que se forman durante la elaboración de leches fluidas -pasteurizada y ultrapasteurizada-, leches concentradas -evaporada, condensada azucarada, y en polvo-, lactosuero líquido pasteurizado, y dulces lácteos -cajeta y dulce de leche-.
- Desarrollar esquemas de las posibles rutas de reactividad de la lactosa en sistemas lácteos para comprender las condiciones que favorecen su transformación en compuestos de importancia alimentaria.
- Identificar los principales compuestos provenientes de la degradación de la lactosa para establecer su relevancia en las propiedades alimenticias de los productos lácteos tratados térmicamente.
- Reconocer aquellos compuestos empleados como indicadores de la intensidad de los tratamientos térmicos en la leche a fin de distinguir y entender cuáles son más adecuados para la evaluación de procesos moderados, intermedios o intensos y, finalmente, conocer sus rutas químicas de formación.

3. Metodología

El presente trabajo se enfocó en la búsqueda de las reacciones químico-térmicas específicas de la lactosa en leche sometida a distintos tipos de procesos térmicos para su consumo como tal y de aquellos tratamientos empleados en la elaboración de leches concentradas, dulces lácteos y lactosuero. Asimismo, se investigó la importancia de los compuestos de transformación en diversas propiedades alimenticias. Su estructura se puede resumir y dividir en diez ejes o actividades esenciales:

1. La consulta incluyó principalmente la lectura de artículos, libros, enciclopedias y materiales webs especializados del ámbito internacional, así como del *Codex Alimentarius* y Normas Oficiales Mexicanas.
2. En todos los casos se recopiló información actualizada de como mínimo de cinco años a la fecha. Algunos trabajos previos referentes a las reacciones químicas de la leche sirvieron como punto de partida y guía de estructuración del trabajo, pues se trataba de investigaciones pioneras o *reviews* sobre el particular.
3. El principal motor de búsqueda utilizado fue "Google", y de manera ocasional "Bing". Básicamente, se realizó la búsqueda de conceptos referentes a la lactosa, la leche y los productos lácteos estudiados empleando los términos introductorios "química de la lactosa...", "tratamiento térmico", "degradación térmica", "cuantificación", "descomposición", "cambios químicos", "enolización" y "reacciones de Maillard".
4. Los conceptos generales que constituyeron el marco teórico se buscaron en libros especializados en el tema de la leche y productos lácteos, mientras que el conocimiento particular relativo a las reacciones químico-térmicas de la lactosa se investigó en revistas científicas arbitradas.

5. En términos generales, se buscaron revistas científicas especializadas procurando que tuvieran un alto factor de impacto anual y por cinco años. El factor de impacto anual de las revistas arbitradas se ubicó entre 1.36 y 4.049, y entre 0.875 y 4.31 el correspondiente a cinco años.
6. De manera ocasional, se revisaron tesis, en específico, un trabajo experimental enfocado en la evaluación del rendimiento de lactulosa a partir de lactosuero, y material *web* no arbitrado, pero de importancia regional, lo anterior con la finalidad específica de comparar la manufactura tradicional o local del dulce de leche de otros países con la de sus homólogos mexicanos, así como para verificar las semejanzas en cuanto a su elaboración, tratamientos térmicos y las potenciales reacciones químicas de los productos lácteos.
7. Los esquemas propuestos se fundamentaron y adaptaron a partir de las fuentes bibliográficas y hemerográficas especializadas, y se realizaron mediante el software editor de moléculas *ChemDraw Professional 15.0*.
8. Con la finalidad de tener una mayor comprensión del contexto químico y bioquímico de la lactosa, se elaboraron esquemas propios de la glándula mamaria y de los productos de importancia industrial derivados del disacárido.
9. A lo largo del documento se emplearon dos tipos de citas: las integradas a las oraciones o frases de algunos párrafos, donde frecuentemente se utilizaron varias referencias, y aquellas que parafraseaban al autor o autores, que en general correspondían a una sola fuente.
10. El formato de las referencias se realizó con base en las Normas APA 2018 – 6°.

4. Marco Teórico

4.1. Generalidades

4.1.1. Leche

La leche es un líquido secretado por las hembras de todos los mamíferos destinado a la nutrición de su descendencia. Además de satisfacer los requisitos nutrimentales completos del recién nacido, la leche cumple varias funciones fisiológicas: las inmunoglobulinas y otros agentes antibacterianos presentes en ésta tienen un efecto protector; asimismo, contiene enzimas e inhibidores enzimáticos, proteínas transportadoras que ayudan a la digestión; y factores con actividad promotora del crecimiento (Fox, 2011). La Norma General del Codex para el uso de términos lecheros define la leche como: “la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma líquida o a elaboración ulterior” (*Codex Alimentarius*, 2011). La composición de la leche depende de la etapa de lactación, raza, estación del año, número de partos, edad y salud del animal, alimentación, número de ordeños/día y tamaño de la manada (Wijesinha-Bettoni & Burlingame, 2013).

En la Tabla 1 se indican algunas especificaciones fisicoquímicas para la leche de vaca: densidad, acidez, punto crioscópico, contenido de grasa butírica, lactosa y caseínas. Fuente: NOM-155-SCFI-2012.

Tabla 1. Especificaciones fisicoquímicas para la leche entera de vaca. NOM-155-SCFI-2012.

Especificaciones	Limite
Densidad a 15 °C (g/mL)	1.029 min
Grasa butírica (g/L)	30 min
Acidez expresada como ácido láctico (g/L)	1.3 min - 1.7 máx
Sólidos no grasos de la leche (g/L)	83 min
Punto crioscópico (°C)	Entre -0.510 y -0.536
Lactosa (g/L)	43 min - 52 máx
Proteínas propias de la leche (g/L)	30 min
Caseínas (g/L)	24 min

4.1.1.1. Propiedades fisicoquímicas

La leche entera es un líquido blanco opaco con un ligero gusto dulce. Su color está influenciado por la dispersión y absorción de la luz por la grasa y la caseína (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). Fisicoquímicamente, es una emulsión constituida por glóbulos de grasa y micelas de caseína suspendidas en una fase acuosa, denominada suero, que contiene proteínas solubles, lactosa, aminoácidos, vitaminas y minerales (Braun, 2019). Otras propiedades de la leche entera de vaca son su densidad específica, 1.027-1.033 (20 °C), la cual depende del contenido graso; su punto de congelación, entre -0.520 y -0.550 °C; el pH, 6.5-6.7; el índice de refracción, 1.3440-1.3485; la tensión superficial 40-60 mNm⁻¹, y su potencial redox, entre +0.25 y + 0.35 V (McCarthy, 2011).

En la Figura 1 se ilustran los principales componentes lácteos.

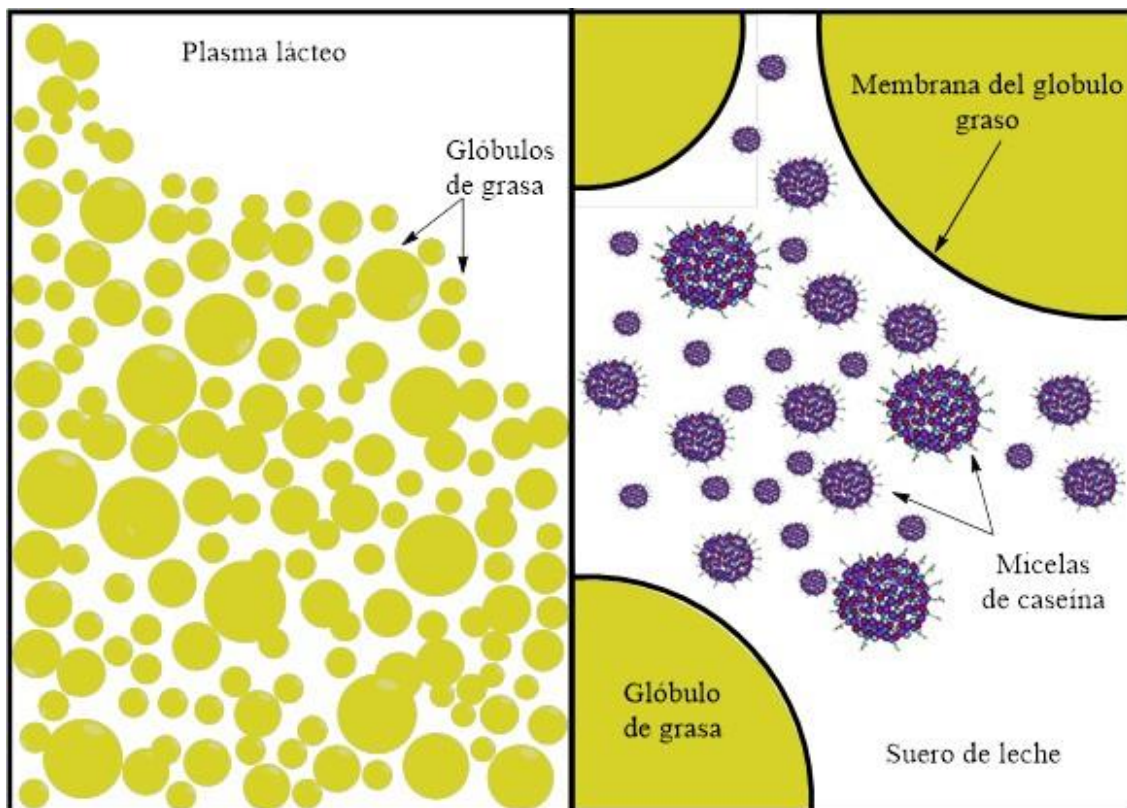


Figura 1. Fases de la leche y sus principales componentes. Walstra, Wouters & Geurts (2006).

4.1.1.2. Biosíntesis de la leche

En el caso de la vaca, las estructuras mamarias responsables de producir leche se encuentran localizadas en la ubre, suspendidas debajo del abdomen posterior, en la región inguinal. Cada ubre está constituida por cuatro glándulas mamarias denominadas cuartos o cuartetos que funcionan en forma independiente y drenan leche a través de un pezón autónomo. Cada cuarteto contiene una cisterna que almacena leche y su salida se presenta sólo con la ordeña o succión. La leche fluye dentro de la cisterna por medio de miles de conductos; los más pequeños reciben la leche procedente de los alvéolos, estructuras esféricas rodeadas por una monocapa interna de células epiteliales o alveolares que producen leche y que conforman una cavidad (luz o lumen alveolar) de almacenamiento central del fluido. Dichas células, también llamadas galactocitos, están conectadas a una extensa red de capilares sanguíneos que les proveen de precursores nutricios. Los conjuntos de alvéolos forman lobulillos, y el cúmulo de éstos, lóbulos. Los millones de alvéolos constituyen, en forma colectiva, la masa principal de la glándula mamaria, y las células alveolares, su unidad funcional. Los galactocitos poseen una membrana plasmática con una gran cantidad de poros que permiten la salida de la leche al lumen (Cerón-A., 2005; Swaisgood, 2008). En la Figura 2 se ilustra la anatomía básica de la glándula mamaria.

La biosíntesis de los componentes lácteos tiene diversos orígenes. Los triacilglicéridos se forman a partir de los ácidos grasos provenientes de la dieta y de aquellos sintetizados en los galactocitos, siendo los precursores esenciales el acetato y butirato de la fermentación ruminal. Las proteínas se sintetizan a partir de los aminoácidos del torrente sanguíneo o pueden incorporarse directamente de la sangre. La lactosa se sintetiza a partir de la glucosa sanguínea, y su carácter hiperosmolar produce el acarreo de agua y minerales al lumen (Cerón-A., 2005).

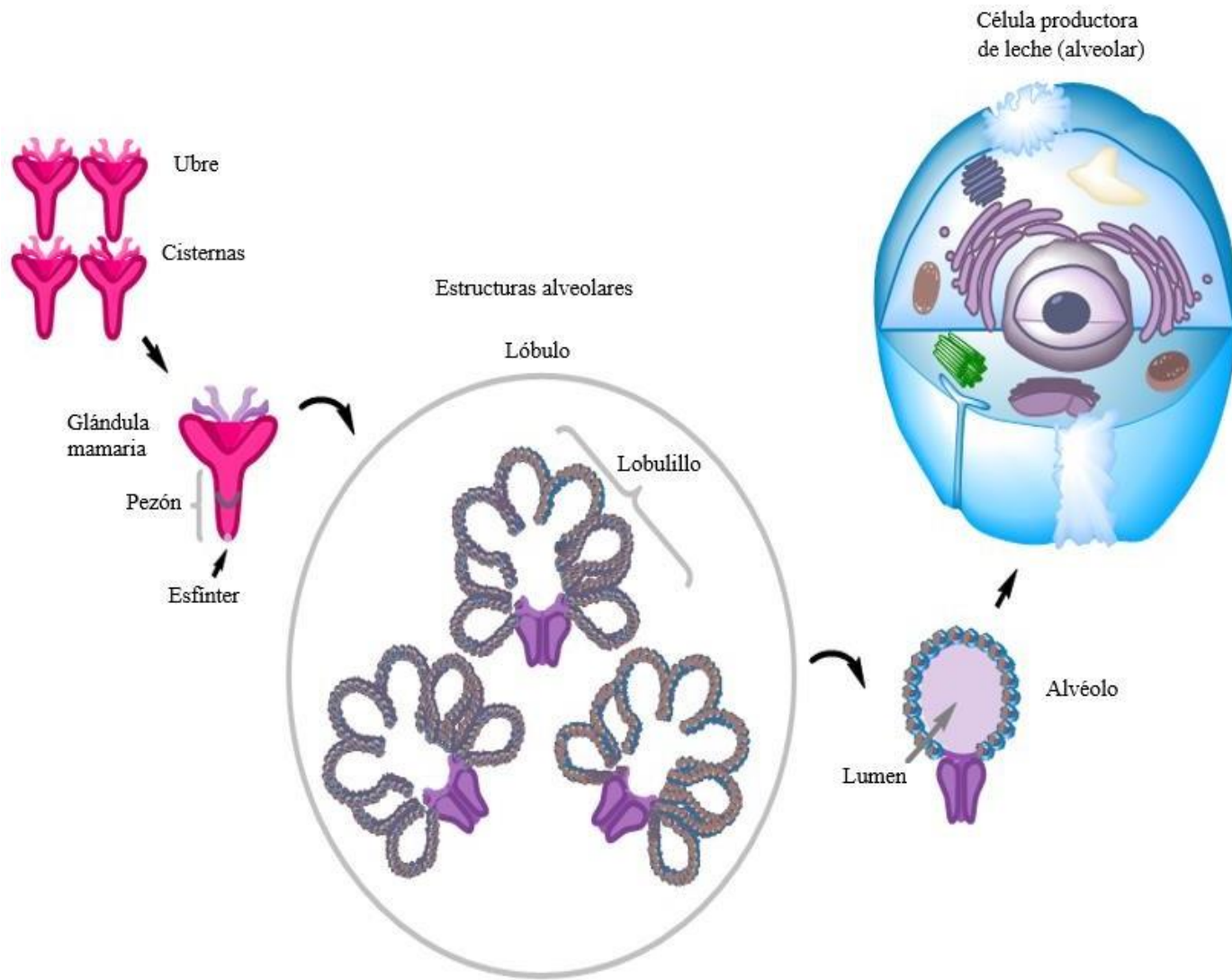


Figura 2. Estructura general de la glándula mamaria y organización alveolar. Esquema formulado en el presente trabajo con información recopilada de Cerón-A (2005).

4.1.1.3. Macrocomponentes

Los macrocomponentes de la leche son la grasa, las proteínas y la lactosa.

4.1.1.3.1. Grasa

La grasa está presente en la leche como una emulsión de glóbulos dispersos en agua, los cuales varían de tamaño entre 0.1 a 22 μm . Se compone de una amplia gama de fracciones de diferentes lípidos. En particular, la leche de vaca contiene un 95.80% de triacilglicerol, 2.25% de 1,2-diacilglicerol, 1.11% de fosfolípidos, 0.46% de colesterol, 0.28% de ácidos grasos libres, 0.08% de monoacilglicerol, 0.02% de ésteres de colesterol y de las vitaminas liposolubles A, D, E y K. Respecto a los ácidos grasos, alrededor del 65% son saturados, 32% son monoinsaturados, y 3% poliinsaturados, mientras que el tamaño de las cadenas varía entre 4 y 18 carbonos. El ácido graso que otorga el sabor característico de la leche es el butírico (4:0), no obstante, cabe recalcar que no es el mayoritario en la leche de vaca (Early, 2012). La Tabla 2 muestra el perfil de ácidos grasos en la leche de vaca.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos en la leche de vaca. Early (2012).

Ácido graso (Abreviación)	Nombre común	Concentración (g/100 g grasa láctea)
4:0	Acido butírico	3.32
6:0	Acido cáprico	2.34
8:0	Acido caprílico	1.19
10:0	Acido cáprico	2.81
12:0	Acido láurico	3.39
14:0	Acido mirístico	11.41
14:1	Ácido miristoleico	2.63
16:0	Ácido palmitico	29.53
16:1	Ácido palmitoleico	3.38
18:0	Ácido esteárico	9.84
18:1	Ácido oleico	27.39
18:2	Ácido linoleico	2.78
18:3	Ácido linolénico	0.59

La estabilidad de la emulsión se debe al carácter anfótero de la membrana del glóbulo graso de la leche (MFGM, por sus siglas en inglés) que envuelve cada glóbulo. Esta membrana es una bicapa fosfolipídica rica en proteínas, glicoproteínas, glicerofosfolípidos, esfingolípidos, colesterol, enzimas y componentes traza, la cual resulta del mecanismo de secreción de las células epiteliales. Los fosfolípidos son excelentes agentes emulsificantes y evitan que los glóbulos de grasa se agrupen e inicie la coalescencia, estabilizando así la emulsión láctea (Gantner, Mijić, Baban, Škrtić & Turalija, 2015). La Figura 3 ilustra la formación de los glóbulos de grasa y su secreción al lumen del alveolo mamario.

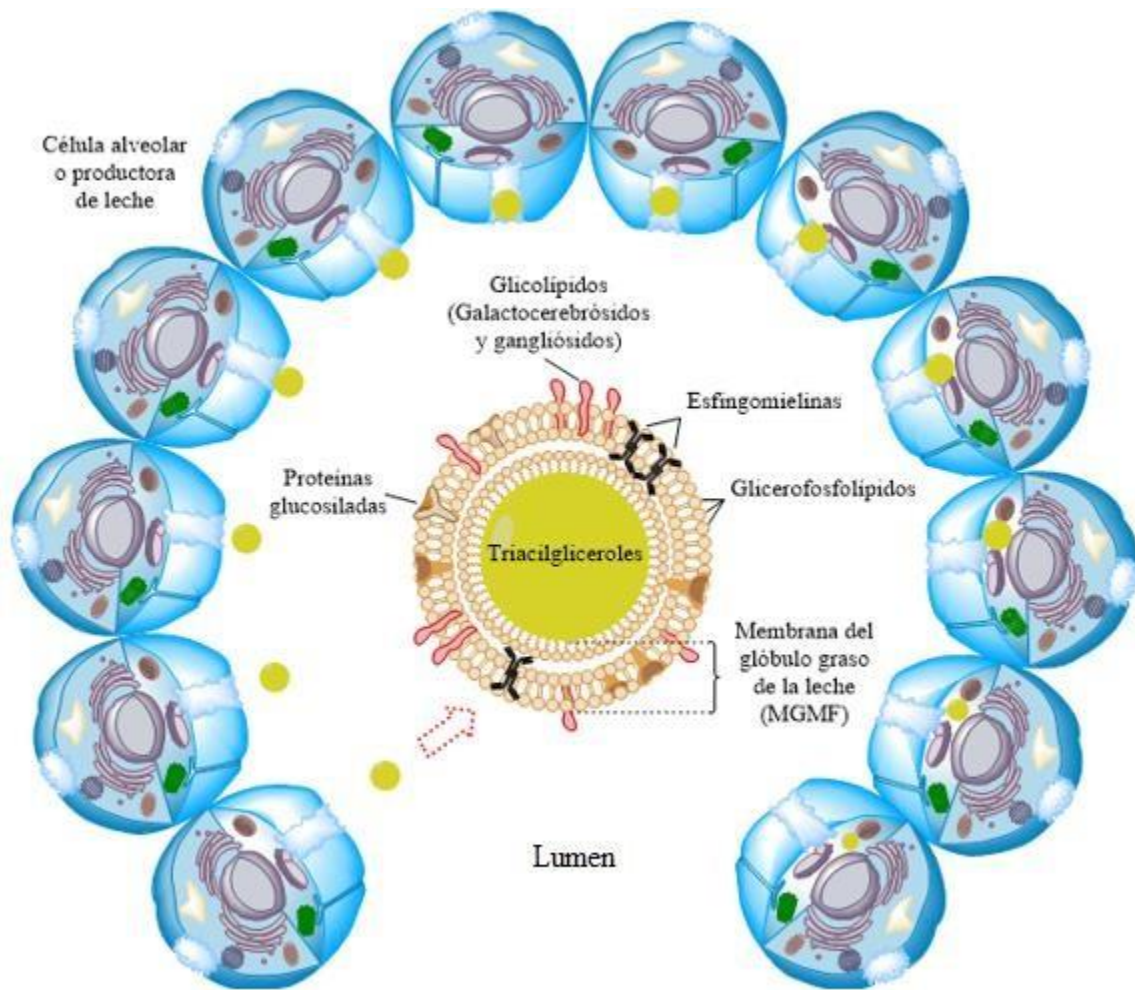


Figura 3. Secreción de los glóbulos grasos de la leche al lumen alveolar mamario. Esquema formulado en el presente trabajo con información de Gantner et al. (2015).

4.1.1.3.2. Proteínas lácteas

Las características finales de los productos lácteos dependen de las propiedades de las proteínas nativas de la leche, aunque la grasa, la lactosa y las sales tienen también una influencia significativa. Las proteínas lácteas se pueden fraccionar en dos grupos bien definidos: las caseínas y las proteínas del suero, también denominadas seroproteínas. La composición proteínica de ambas fracciones se presenta en la Tabla 3 (Fox, Uniacke-Lowe, McSweeney, & O'Mahony, 2015)

Tabla 3. Proteínas en la leche de vaca. Fox et al. (2015).

<u>Componente</u>	<u>Concentración (g/100 g)</u>
Proteína Total	35.1
Caseínas	28.6
α_1 -caseína	11.5
α_2 -caseína	3.0
β -caseína	9.5
κ -caseína	3.4
γ -caseína	1.2
Proteínas del suero	6.1
β -Lactoglobulina	3.1
α -Lactoalbúmina	1.2
Proteosa peptona	1.0
Inmunoglobulinas	0.8
Albúmina sérica	0.4

Desde el punto de vista nutricional, las proteínas de la leche son de excelente calidad, suministrando todos los aminoácidos esenciales para la vida humana (Fernández-Fernández *et al.*, 2015). Por esa razón, compiten con la calidad de las proteínas de la carne y sólo son ligeramente superadas por las proteínas del huevo, que se han constituido en el patrón de la FAO (Wijesinha-Bettoni & Burlingame, 2013). Adicionalmente, tanto las caseínas como las proteínas del suero poseen constituyentes bioactivos de gran interés como agentes nutraceuticos (Petrotos, Tsakali, Goulas & D'Alessandro, 2014).

4.1.1.3.2.1. Caseínas

El nombre caseína proviene del latín *caseus*, que significa queso, y es la proteína láctea mayoritaria, ya que constituye cerca del 80% de la proteína total y, como se indica en la Tabla 3, se dividen en varias fracciones, por lo que habitualmente se habla de caseínas. A diferencia de las proteínas del suero, las caseínas son estables a altas temperaturas, resistiendo el calentamiento a 100 °C a pH 6.7 por 24 h sin presentar coagulación. Son fosfoproteínas que están presentes en la fracción coloidal de la leche en forma de micelas que, además de fosfato, contienen calcio en suspensión (Fox *et al.*, 2015; Early, 2012).

La NOM-155-SCFI-2012 establece que las caseínas son el conjunto de polipéptidos sintetizados en la glándula mamaria de la vaca, que pertenecen al grupo de las glucofosfoproteínas y que precipitan a un pH de 4.6 a 20 °C.

Inicialmente, la caseína se consideró como una proteína homogénea, no obstante, su heterogeneidad fue demostrada en la década de 1920, nombrando a las tres fracciones como α , β y γ caseínas según el orden de movilidad electroforética. No obstante, actualmente, se considera que la caseína está compuesta por cuatro fracciones: α_{s1-} , α_{s2-} , β - y κ -caseína. Entre éstas, existen cinco cambios estructurales que se conocen como microheterogeneidad, destacando entre ellos la variabilidad en el grado de fosforilación y glicosilación, la cantidad de puentes disulfuro, los productos generados por la actividad hidrolítica de la enzima plasmina propia de la leche y el polimorfismo genético. La nomenclatura de las caseínas de la leche se indica en la Figura 4 (Fox *et al.*, 2015).

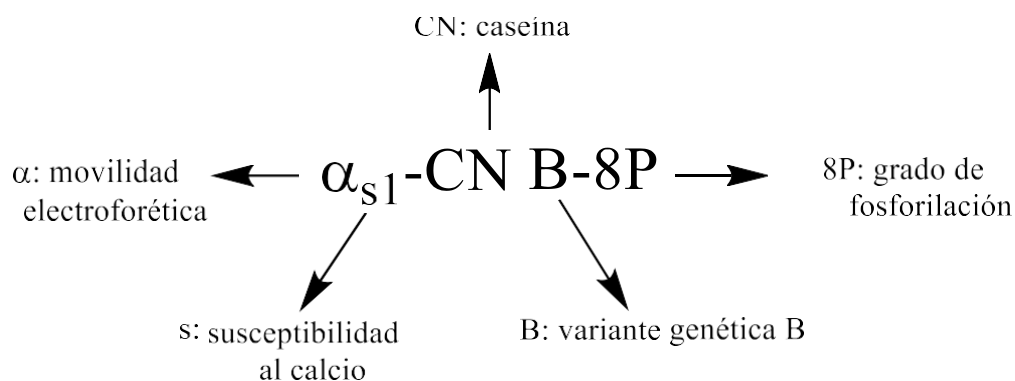


Figura 4. Nomenclatura de las proteínas de la leche. Fox et al. (2015).

Las caseínas, en especial la α_{s2} -caseína, y las proteínas del suero, son ricas en residuos de aminoácidos básicos como la lisina, la arginina y la histidina, como se expone en la Tabla 4, por lo que durante los tratamientos térmicos de la leche se pueden desarrollar cambios químicos significativos del oscurecimiento no enzimático de los alimentos, como la reacción de Maillard, debido a la reacción de la lisina con la lactosa, carbohidrato que tiene propiedades reductoras (Fox et al., 2015). En lo que se refiere a productos concentrados como leche evaporada y leche en polvo, una fracción de la lisina no es aprovechable por las interacciones que este aminoácido establece con la lactosa (Wijesinha-Bettoni & Burlingame, 2013).

Tabla 4. Composición de aminoácidos básicos en las caseínas y principales proteínas del suero. Fox et al. (2015).

Propiedad	Caseínas				Proteínas del suero	
	α_{s1} -CN B-8P	α_{s2} -CN A-11P	β -CN A ² -5P	κ -CN B-1P	α -LA B	β -LG B
Masa molecular	23,614	25,230	23,983	19,023	14,176	18,363
Residuos de aminoácidos	199	207	209	169	123	162
Lisina	14	24	11	9	12	15
Arginina	6	6	4	5	1	3
Histidina	5	3	5	3	3	2

4.1.1.3.2.2. Proteínas del suero

Las proteínas del suero comprenden principalmente a la β -lactoglobulina (β -LG), la α -lactoalbúmina (α -LA), la albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés), las inmunoglobulinas, las proteosomas-peptonas, y fracciones menores que incluyen lactoferrina, lactoperoxidasa y glicoproteínas (Gangurde, Chordiya, Patil & Baste, 2011). Son proteínas termolábiles que se desnaturalizan a 90 °C/10 min a pH 6.7 (Fox *et al.*, 2015).

La β -lactoglobulina es la proteína mayoritaria del suero (\approx 50%). Consiste en una cadena polipeptídica monomérica de 162 aminoácidos. Su punto isoeléctrico es \approx 5.2. Contiene dos puentes disulfuro intramoleculares y un mol de cisteína. Este último es especialmente importante debido a su alta reactividad, la que es subsecuente a la desnaturalización térmica. La molécula tiene una estructura globular muy compacta. Existe en forma dimérica en el intervalo de pH 5.5-7.5, como monómero a pH < 3.5 y a pH > 7.5, y como tetrámero a pH 3.5-5.5 (O'Mahony & Fox, 2014).

La α -lactoalbúmina constituye \approx 20% de la proteína del lactosuero de vaca. Contiene 123 residuos de aminoácidos y presenta una masa molar de \approx 14 kDa (O'Mahony & Fox, 2014). Desde el punto de vista nutricional, posee aminoácidos esenciales como triptófano, fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, lisina y valina. Su principal función es la regulación de la biosíntesis de la lactosa (Walstra, Wouters & Geurts, 2006).

La albúmina sérica bovina o seroalbúmina es una proteína que proviene de la sangre. Debido a su baja concentración en la leche, ejerce poco o nulo efecto en las propiedades fisicoquímicas del lactosuero, mientras que las proteosomas-peptonas se definen como el residuo de la hidrólisis de la β -caseína (Walstra *et al.*, 2006).

Las inmunoglobulinas son anticuerpos provenientes de la sangre y forman parte del sistema inmune. Son glicoproteínas heterogéneas y la principal en bovinos es la inmunoglobulina G1. En conjunto alcanzan concentraciones de 0.6 a 1 mg/mL. Por su parte, la lactoferrina es una proteína que actúa como inhibidor microbiano, incluyendo a *Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis*. La inhibición se logra por la remoción de los iones Fe³⁺ del suero. Su concentración en la leche de bovino puede alcanzar los 0.1 mg/mL (Walstra *et al.*, 2006).

En la Tabla 5 se muestra la composición de aminoácidos de la proteína láctea total, de las caseínas y de las proteínas del lactosuero de vaca (Belitz *et al.*, 2009). Tanto los aminoácidos de las caseínas como aquellos de las proteínas del suero pueden participar en las reacciones del oscurecimiento no enzimático de los alimentos, sin embargo, sobre el particular se profundizará en la sección 4.2.3.3.

Tabla 5. Composición (%) de aminoácidos en proteína total, caseínas y seroproteínas en leche bovina. Belitz *et al.* (2009).

Aminoácido	Proteína total	Caseínas	Proteínas del suero
Alanina	3.7	3.1	5.5
Arginina	3.6	4.1	3.3
Ácido aspártico	8.2	7.0	11.0
Cisteína	0.8	0.3	3.0
Ácido Glutámico	22.8	23.4	15.5
Glicina	2.2	2.1	3.5
Histidina	2.8	3.0	2.4
Isoleucina	6.2	5.7	7.0
Leucina	10.4	10.5	11.8
Lisina	8.3	8.2	9.6
Metionina	2.9	3.0	2.4
Fenilalanina	5.3	5.1	4.2
Prolina	10.2	12.0	4.4
Serina	5.8	5.5	5.5
Treonina	4.8	4.4	8.5
Triptofano	1.5	1.5	2.1
Tirosina	5.4	6.1	4.2
Valina	6.8	7.0	7.5

4.1.1.3.3. Lactosa

La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche de la mayoría de las mamíferas. Como se muestra en la Figura 5, su concentración varía ampliamente entre las distintas especies y, normalmente, abarca un intervalo de 0 a $\approx 10\%$ (Shendurse & Khedkar, 2016).

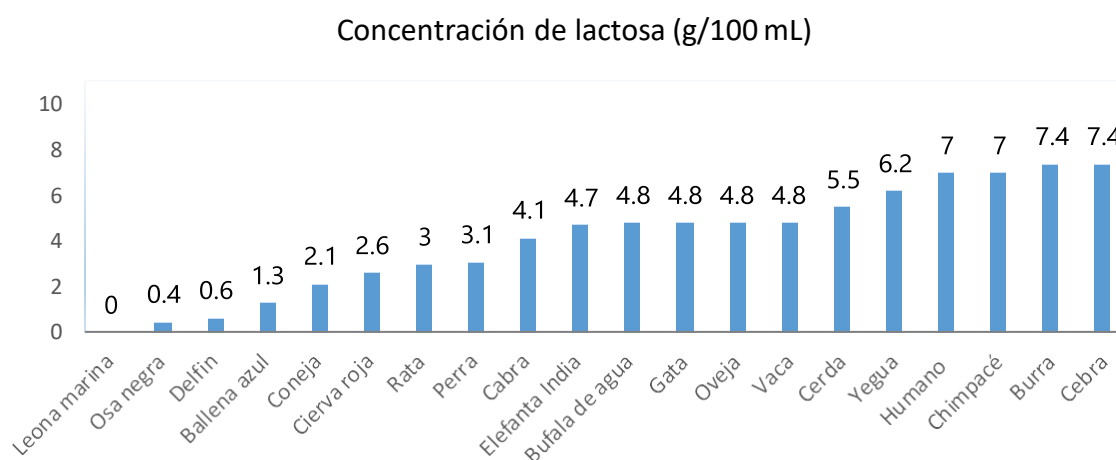


Figura 5. Concentración de lactosa en leche de diferentes especies. Shendurse & Khedkar (2016).

La concentración de lactosa en el ganado vacuno, bufalino, ovino y caprino aumenta ligeramente durante las primeras etapas de la lactación y disminuye al final de esta a $\approx 70\%$ del valor máximo. En contraste, su contenido en la leche de equinos aumenta durante ese periodo. La concentración de lactosa está relacionada inversamente con la cantidad de lípidos y caseína (Fox, 2009).

La lactosa cumple con dos importantes funciones biológicas: es una fuente de energía para el neonato, ya que provee 30% del valor calórico en la leche bovina, y es responsable de $\approx 50\%$ de la presión osmótica de la leche, que es isotónica respecto a la sangre y, por lo tanto, es esencialmente constante. Al respecto, existe también una relación inversa entre el nivel de lactosa y la concentración de sales inorgánicas (O'Mahony & Fox, 2014).

4.1.1.3.3.1. Estructura química

La lactosa es un disacárido constituido por los monosacáridos β -D-galactosa y D-glucosa, cuyo nombre sistemático es β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)-D-glucosa. Su formación implica la unión del grupo hemiacetal del carbono C1 de la D-galactosa con el grupo hidroxilo del C 4 de la D-glucosa a través de un enlace glucosídico β -1,4, y la liberación de una molécula de agua, como se indica en la Figura 6. En la leche fresca, $\leq 0.1\%$ de la glucosa que conforma el disacárido está en forma de cadena lineal o abierta, con ello da lugar a la producción reversible de un aldehído a partir del grupo hemiacetal en el C1 del residuo cíclico de la glucosa. La proporción de la estructura lineal aumenta de 1 a 10% con valores elevados de temperatura y pH. Debido a que el grupo aldehído es el más reactivo de la lactosa, una mayor concentración de este significa un aumento notable en la reactividad y en las transformaciones de la leche (Walstra *et al.*, 2006). La lactosa se encuentra normalmente como los anómeros α - o β -, o como una mezcla amorfa de ambos (Shendurse & Khedkar, 2016).

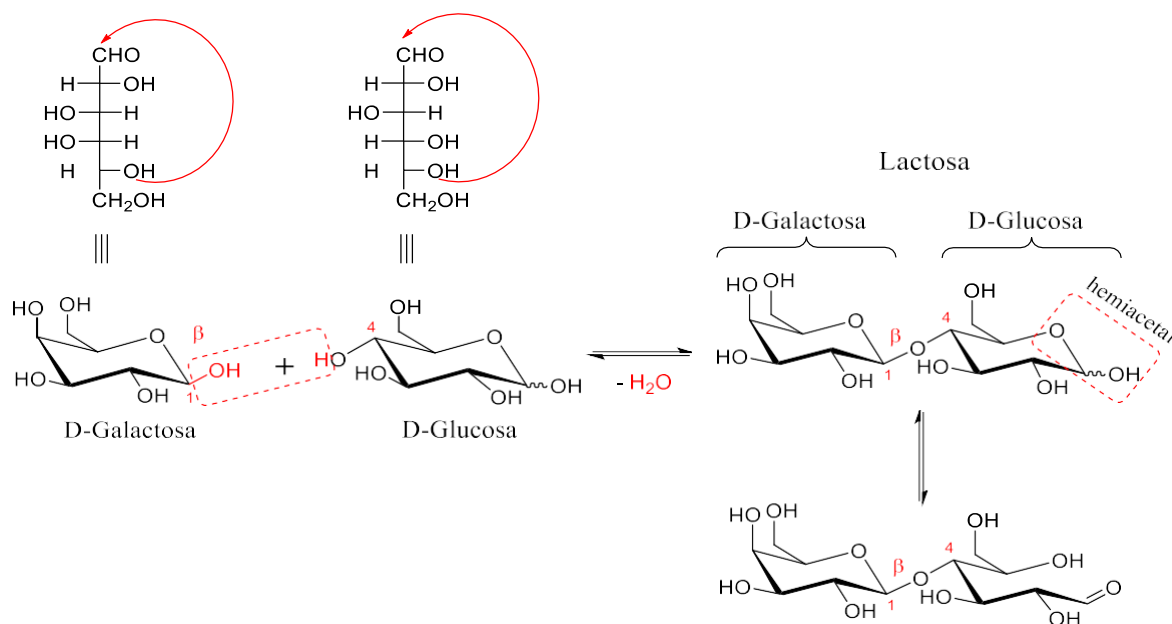


Figura 6. Estructura química de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo con información recopilada de Walstra *et al.* (2006).

4.1.1.3.3.2. Biosíntesis

En la biosíntesis de la lactosa participan dos moléculas de glucosa: una se convierte en difosfato de uridilo glucosilado (UDP-glucosa) y otra se isomeriza a difosfato de uridilo galactosilado (UDP-galactosa). La unión de los dos monosacáridos se lleva a cabo en el aparato de Golgi (AG) de la célula alveolar. Dentro del lumen, la α -lactoalbúmina y la galactosiltransferasa se acoplan para formar el complejo lactosa-sintetasa, que genera el enlace β -1,4-galactosídico entre β -galactosa y glucosa con la liberación de difosfato de uridilo (UDP) (Fox *et al.*, 2015; Shendurse & Khedkar, 2016). La lactosa es el principal agente osmótico de la leche, ya que acarrea agua al lumen para mantener constante la presión osmótica celular (Zhang *et al.*, 2018).

4.1.1.3.3.2.1. β -1,4-Galactosil-transferasa (GT)

La β -1,4-galactosiltransferasa (GT) es una enzima presente en la superficie interna del AG, tiene un peso molecular entre 35 y 45 kDa, y constituye una de las subunidades del complejo lactosa-sintetasa. Sin la presencia de α -lactoalbúmina (α -LA), la GT actúa de modo inespecífico durante la biosíntesis de glicoproteínas, añadiendo galactosa a los oligosacáridos con residuos terminales de N-acetil-glucosamina para formar los enlaces β -1,4. La GT también se encuentra en las membranas de los glóbulos grasos y, en consecuencia, en la leche. Entre las glicosiltransferasas, la GT es la única cuya especificidad hacia su sustrato puede modificarse con la intervención de α -lactoalbúmina, ya que la biosíntesis es mucho más eficiente al completar ambas proteínas el complejo lactosa-sintetasa. La biosíntesis de lactosa se presenta sólo en el AG de las células alveolares. Y la expresión del gen que codifica para la α -LA está estrictamente regulado por hormonas que sólo se expresan durante el estado de lactancia (Fox *et al.*, 2015; Shendurse & Khedkar, 2016).

Como ya se mencionó, la concentración de lactosa está inversamente relacionada con la concentración de lípidos y caseínas, puesto que, el disacárido ocasiona la entrada de agua en la célula mamaria y provoca la dilución de los demás componentes lácteos. La principal función de la lactosa, así como de los lípidos lácteos, es como fuente de energía. Sin embargo, en virtud de que los lípidos proporcionan 2.5 veces más energía que la lactosa, cuando se requiere de una leche altamente calórica, por ejemplo, para crías de animales de ambientes fríos (mamíferos marinos u osos que hibernan), se incrementa el contenido de grasa en lugar del de lactosa. Adicionalmente, la relación inversa entre las concentraciones de lactosa y caseína se ve reflejada en el hecho de que en la biosíntesis del disacárido ingresa agua a las vesículas del AG y disminuye la concentración de caseína por efecto de dilución (O'Mahony & Fox, 2014).

La Figura 7 esquematiza la síntesis de lactosa en el interior del AG del galactocito (Shendurse & Khedkar, 2016). El mecanismo comienza con 1) la fosforilación de glucosa con trifosfato de uridilo (UTP, por sus siglas en inglés) para formar pirofosfato inorgánico (PPi) y glucosa-1-fosfato, la cual se convierte en UDP-glucosa y se isomeriza a UDP-galactosa. Tanto esta última como una nueva molécula de glucosa entran al AG, etapas 2) y 3). Una vez en el lumen del AG, 4) la α -lactoalbúmina se acopla con la GT, misma que emplea como sustratos UDP-galactosa y glucosa para 5) sintetizar lactosa; posteriormente, el carbohidrato sale del orgánulo. De igual forma, se libera el residuo de UDP que, a continuación, se desfosforila por la dinucleótido-desfosforilasa (NDPasa) formándose 6) monofosfato de uridilo (UMP, por sus siglas en inglés) y fosfato inorgánico (Pi); éstos, a su vez, salen del aparato de Golgi. En presencia de trifosfato de adenosina (ATP), el UMP se esterifica con Pi consecutivamente en dos ocasiones para continuar con el ciclo de fosforilación de una molécula de glucosa 1), produciéndose finalmente UTP y dos moléculas de ADP.

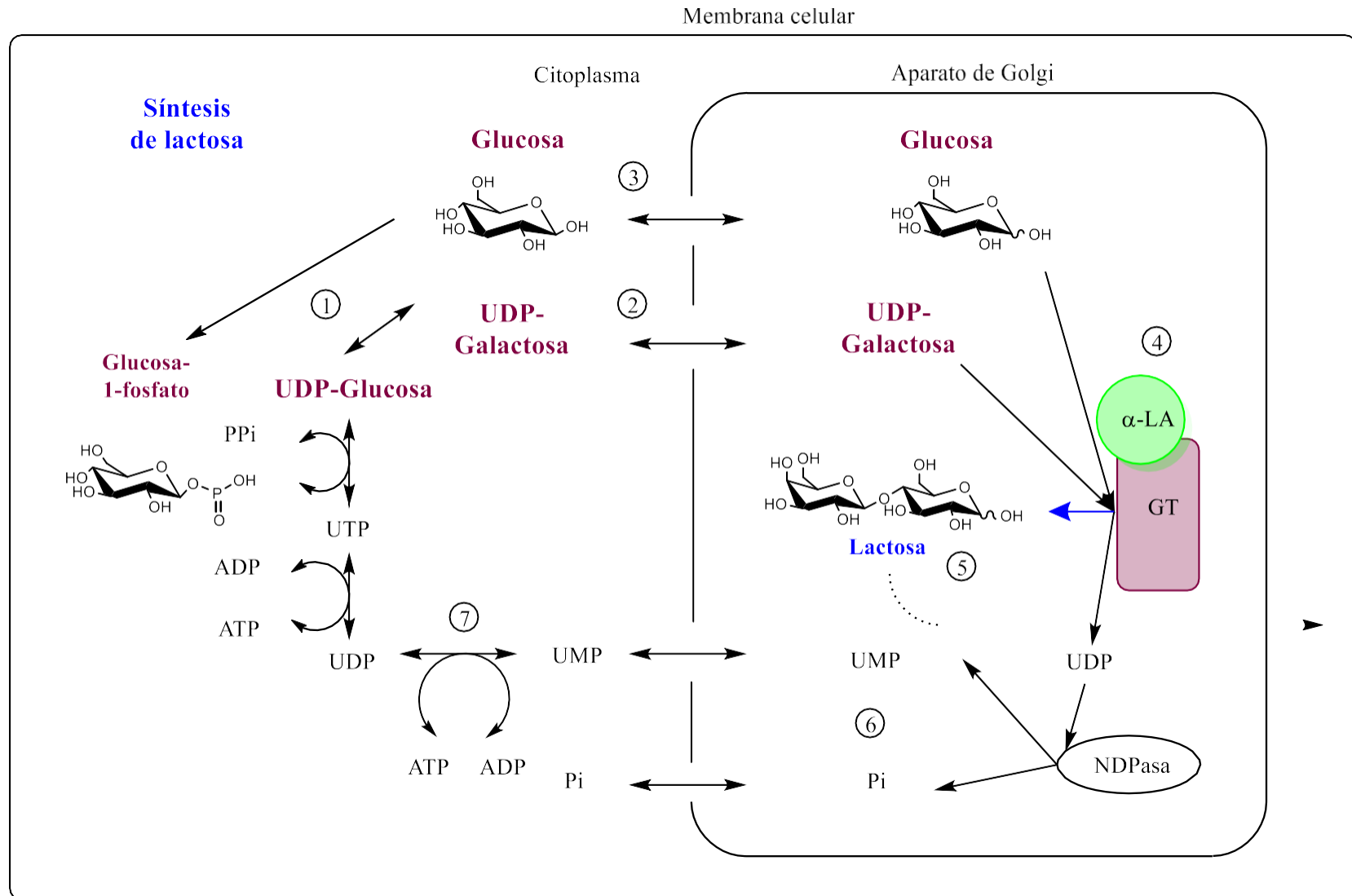


Figura 7. Biosíntesis de lactosa en el interior del galactocito. Shendurse & Khedkar (2016).

4.1.1.4. Microcomponentes

Entre los microcomponentes de la leche destacan las vitaminas, los ácidos orgánicos, los minerales, algunos lípidos, las enzimas y los compuestos nitrogenados no proteínicos. En el presente trabajo se describirán sólo algunos de ellos.

4.1.1.4.1. Vitaminas

Entre las vitaminas liposolubles (A, D, E y K), la A y la D son las más importantes para el ternero. En particular, la vitamina A y sus precursores, los carotenos, no se producen en las células alveolares, sino que derivan de la alimentación de la vaca. La vitamina D₂ proviene de la dieta, mientras que el vitámero D₃ se produce en la piel en condiciones de irradiación solar. La vitamina D es importante en el ternero para movilizar el calcio y fósforo que son necesarios para el crecimiento de los huesos. Por su parte, las vitaminas hidrosolubles están presentes en la fracción sérica de la leche. La mayoría corresponde al complejo B, y la más abundante es la riboflavina (vitamina B₂). Tienen origen en el rumen y luego son transferidas de la sangre a la leche. En el caso de la vitamina C, la leche es una fuente esencial de ésta, ya que el ternero lactante no puede obtenerla de otras fuentes, sin embargo, se degrada rápidamente en la leche almacenada para consumo humano (Wijesinha-Bettoni & Burlingame, 2013).

4.1.1.4.2. Ácidos orgánicos hidrosolubles

El ácido cítrico es el compuesto carboxílico hidrosoluble que predomina en la leche de vaca (1.8 g/L). El ácido orótico, un intermediario en la síntesis de nucleótidos de pirimidina, y el ácido úrico, un producto del metabolismo de proteínas y subproducto del catabolismo de las purinas, son otros de los principales ácidos orgánicos que se detectan en el suero lácteo. Estos compuestos son indicadores deseables en la determinación de la proporción de leche en los alimentos (Belitz *et al.*, 2009).

4.1.1.4.3. Minerales

La leche contiene sales inorgánicas, como son los PO_4^{3-} , Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} y HCO_3^{2-} , y sales orgánicas como los citratos. Estrictamente hablando, las proteínas lácteas pueden considerarse como parte del sistema de sales debido a la carga positiva o negativa de algunos de sus grupos laterales. Tanto las sales orgánicas derivadas de citratos como las proteínas están asociadas a contraiones como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . Algunas sales están completamente solubilizadas en el suero, pero el fosfato de calcio, que rebasa su solubilidad en agua, está presente en las micelas de caseína y se refiere como fosfato de calcio coloidal (Fox *et al.*, 2015).

Entre los microcomponentes de la leche, algunos minerales están en concentración de partes por billón (ppb): Al, Fe, B, F, Cu, Mo, I, Mn, Ni, y otros en partes por millón (ppm): Zn, Si y Br. De estos elementos, el más abundante es el Zn (≈ 3 mg/kg de leche). Por lo general, la concentración de metales no se ve afectada por la alimentación del ganado, excepto en etapas de escasez alimentaria, donde el aporte de Fe, Cu y Zn está limitado. Sin embargo, la leche puede enriquecerse con suplementos minerales para aumentar su concentración y contribuir a la nutrición humana (Fox *et al.*, 2015; Walstra *et al.*, 2006; Nishimukai *et al.*, 2008; Belitz *et al.*, 2009; Ramonaityté, Keršiené, Adams, Tehrani & De Kimpe, 2009; Sharma, Shilpa-Shree, Arora & Tomar, 2015).

Los metales están frecuentemente asociados con algunos macrocomponentes lácteos: el Fe forma complejos con la proteína láctea lactoferrina, y $\approx 10\%$ del Cu y 50% del Fe total conforman la MFGM. Estos microcomponentes no sólo son esenciales desde el punto de vista nutricional, sino que repercuten en la calidad química de la leche, por ejemplo, el Fe y el Cu promueven la autooxidación lipídica (Fox *et al.*, 2015).

Para la fabricación de productos lácteos, la concentración de metales es crucial. Por ejemplo, el Cu tiene actividad catalítica en la autooxidación lipídica y, aunque la concentración nativa no tiene efectos significativos, los metales añadidos con fines nutrimentales sí promueven la reacción. Por otro lado, el Mn es importante en el metabolismo de las bacterias lácticas, especialmente en la fermentación del citrato. Si el contenido de Mn es muy bajo, el perfil aromático en la elaboración de productos como mantequilla se verá afectado (Fox *et al.*, 2015).

4.1.1.4.4. Compuestos nitrogenados no proteínicos

En la leche de vaca, cerca del 5% del nitrógeno total es de origen no proteínico (NPN, por sus siglas en inglés). Estos compuestos engloban la creatina, los ácidos úrico y orótico, NH_3 , los aminoácidos libres y la urea, que se encuentran en niveles traza y, debido a su origen, se emplean en la determinación de la proporción de leche en alimentos (Walstra *et al.*, 2006; Belitz *et al.*, 2009), en particular los tres primeros.

4.1.1.4.5. Urea

La urea difunde a la leche a partir del suero sanguíneo a través de los galactocitos, constituyendo una fracción variable del nitrógeno (N) lácteo total (Peña-Castellanos, 2002). Su contenido representa 50% del N no proteínico y 2.5% del N total (DePeters & Ferguson, 1992). La urea sanguínea y la urea láctea tienen alta correlación debido a que ambas son afectadas por las mismas variables (Broderick & Clayton, 1997; Beltrán, Peláez & Aguirre, 1999). El contenido de urea láctea depende de factores ambientales, nutrimentales y aquellos propios del animal. Existe variación del N ureico debido a la composición de la dieta (Lykos, Varga & Casper, 1997) y, en particular, por los niveles de proteína (López-Solano *et al.*, 2011). Así, un exceso o disminución de la urea láctea pueden indicar un desbalance nutrimental en la relación dietética proteína/energía del rumiante (Pedraza, Mansilla, Merucci, Pinedo & Contreras, 2006).

4.2. Antecedentes

4.2.1. Propiedades físicas y químicas de la lactosa

Las propiedades de la lactosa son comunes a las de otros carbohidratos, pero difieren en ciertos aspectos tecnológicos; algunas son las siguientes (Fox *et al.*, 2015):

- Es un azúcar reductor, lo que implica la presencia de un grupo carbonilo potencialmente libre, en particular se trata de un aldehído. Al formar una estructura cíclica genera un hemiacetal y un nuevo centro quiral o asimétrico, produciendo los anómeros α y β , estereoisómeros que pueden inter-convertirse en un proceso referido como mutarrotación.
- La α -lactosa tiene baja solubilidad en agua y puede cristalizar como monohidrato dando origen al defecto de arenosidad en productos en polvo como leche descremada y suero, por lo que es preciso controlar su cristalización. La β -lactosa forma cristales anhidros.
- La solubilidad de la α -lactosa en agua a 20 °C es 70 g/L, y depende significativamente de la temperatura, mientras que aquella de la β -lactosa es 500 g/L. La proporción de la mezcla α : β en equilibrio es 1:2, y su solubilidad es 180 g/L. La α -lactosa es más soluble a > 94 °C, y cristaliza a < 93.5 °C, en tanto que la β -lactosa anhidra puede cristalizar a >94 °C.
- La lactosa cristalina tiene una higroscopicidad muy baja, por lo que se emplea en mezclas de azúcar glass.
- Se usa como edulcorante suave. Con respecto a una solución acuosa de sacarosa al 10%, tiene una dulzura ≈ 2.6 menor.
- Es importante en la fabricación de productos lácteos fermentados, donde se utiliza como fuente de carbono para las bacterias ácido-lácticas.

La Figura 8 muestra las distintas formas de la lactosa y su obtención (Fox *et al.*, 2015).

Lactosa en medio acuoso

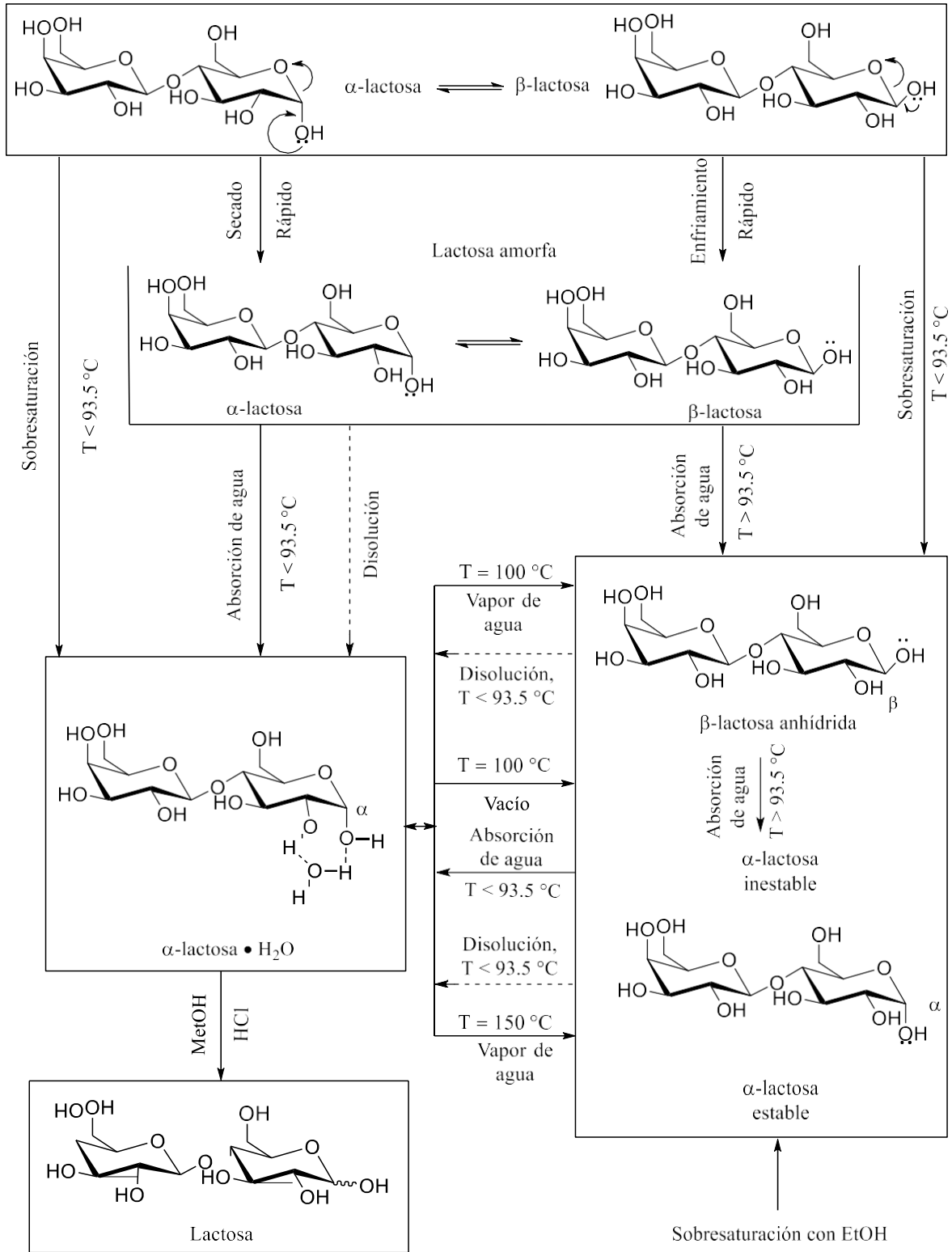


Figura 8. Formas anoméricas de la lactosa y sus condiciones de formación. Fox et al. (2015).

4.2.1.1. Reacciones químicas generales de la lactosa

La diversidad de productos químicos derivados de la lactosa se debe en particular a su grupo carbonilo libre proveniente de su residuo de glucosilo, y a su carácter de polialcohol. Estas dos características posibilitan la gran cantidad de transformaciones químicas que experimenta el disacárido, las cuales pueden abarcar desde su hidrólisis, isomerización, que incluye los equilibrios de anomerización (mutarrotación) y la enolización (epimerización), reacciones de óxido-reducción, procesos de condensación, deshidratación, pirólisis, oligomerización y polimerización, hasta su utilización como fuente de carbono por microorganismos fermentativos (Villamiel, Corzo, Martínez-Castro & Olano, 1996; Van Boekel, 1998; Morales & Arnoldi, 1999; Morales & Jiménez, 2001; Nishimukai *et al.*, 2008; Ramonaitytė *et al.*, 2009; Hellwig, Degen & Henle, 2010; Sakkas, Moutafi, Moschopoulou & Moatsou, 2014; Mehta & Deeth, 2016; Choudhary, Arora, Kumari, Narwal & Sharma, 2017).

4.2.2. Síntesis de derivados de importancia comercial

La lactosa puede convertirse en numerosos derivados con gran importancia en las industrias farmacéutica y de los alimentos. Entre los productos con mayor demanda destacan los jarabes de glucosagalactosa, que son alrededor de tres veces más dulces que la lactosa, los cuales se producen por hidrólisis con β -galactosidasa, el lactitol (el alcohol de la lactosa), el ácido lactobiónico (agente de acidez y dulzura), la tagatosa, utilizada como edulcorante, diversos oligosacáridos con valor prebiótico y productos de la fermentación: el etanol y los ácidos láctico, acético y propiónico (Gutiérrez, Hamoudi & Belkacemi, 2012; Seki & Saito, 2012; Fox *et al.*, 2015). En la Figura 9 se indica la gran variedad de derivados de la lactosa que se pueden obtener a nivel industrial.

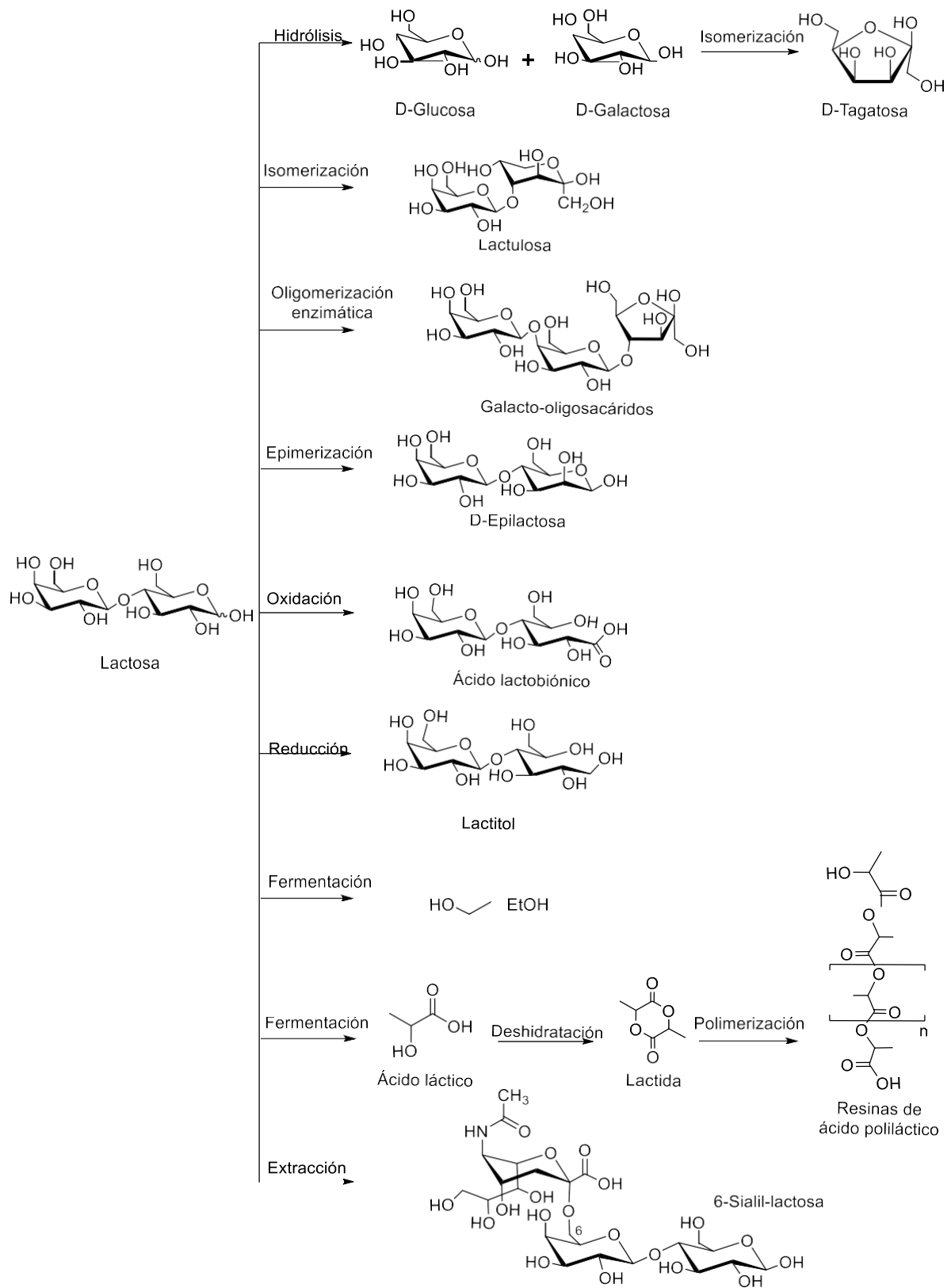


Figura 9. Derivados de lactosa de importancia comercial. Seki & Saito (2012).

4.2.3. Equilibrios y reacciones químicas de la lactosa en sistemas lácteos

Entre las más importantes transformaciones químico-térmicas de la lactosa en los sistemas lácteos se encuentran los equilibrios de anomerización, la enolización y las reacciones de oscurecimiento no enzimático, los cuales se abordarán en la presente sección.

4.2.3.1 Anomerización

En general, la anomerización o mutarrotación es el fenómeno de isomerización en el que se forma un diastereómero debido a que se origina un carbono quiral como consecuencia de la ciclación de un azúcar (IUPAC, 2014). En el caso de la lactosa, su parte glucosídica reductora puede devenir en las formas piranósicas α y β a temperatura ambiente, mientras que el galactósido restante sólo puede encontrarse como β -piranosa, puesto que conforma una estructura acetálica que no presenta anomerización. El resultado es que la lactosa puede existir en tres formas en solución: como cadena abierta y como los anómeros α y β , siendo la β -lactosa la más estable y abundante en la leche, con una relación $\alpha:\beta$ (1:1.7) a 20 °C (Early, 2012). De esta manera, la proporción de anómeros es dependiente de la temperatura, pues conforme aumenta esta última, disminuye la concentración de β -lactosa. Igualmente, la velocidad de mutarrotación depende del pH, ya que la apertura de las formas cíclicas está catalizada tanto por H^+ ($pH < 2$) como por OH^- ($pH > 7$) (Belitz *et al.*, 2009). En la Figura 10 se ilustra la mutarrotación de la lactosa.

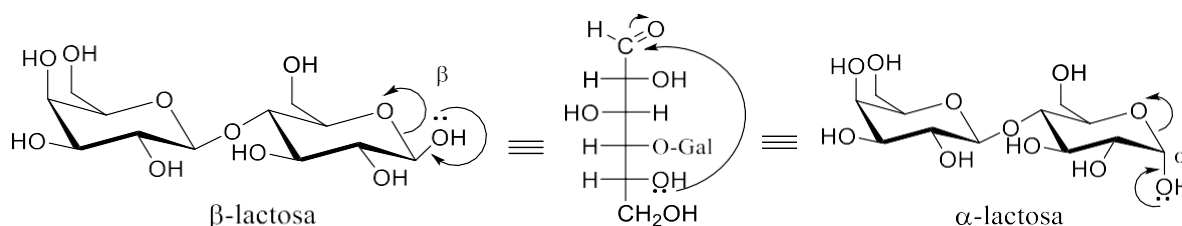


Figura 10. Equilibrio de anomerización o mutarrotación de la lactosa. Belitz *et al.* (2009).

4.2.3.2 Equilibrio de enolización

La enolización o epimerización es el proceso tautomérico en el que un aldehído o cetona se transforma en un alcohol vinílico. En el caso de los carbohidratos reductores, este fenómeno da lugar a diastereómeros que difieren en la configuración espacial de un carbono no anomérico y, por lo tanto, de su grupo hidroxilo, los cuales se denominan epímeros (Bruice, 2011). Dicha transformación se conoce como equilibrio de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein, que se favorece especialmente en medio alcalino e implica la transposición de insaturaciones vinílicas para formar enoles intermediarios en las posiciones 1,2- y 2,3- del extremo reductor del azúcar, denominados, de manera respectiva, 1,2-enodiol y 2,3-enodiol. En particular, una aldosa genera su epímero en el C2 a través de la especie 1,2-enodiol, la cual da lugar, a su vez, a una cetosa, y a su correspondiente epímero en C3 vía el intermediario 2,3-enodiol, como se indica en la Figura 11 (Belitz *et al.*, 2009).

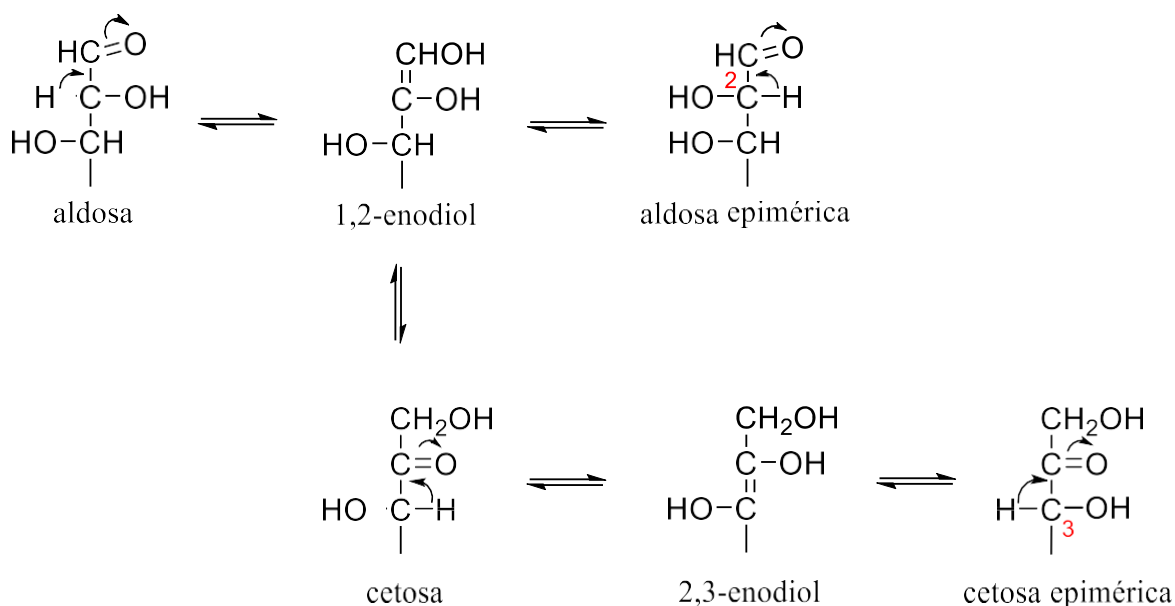


Figura 11. Equilibrio de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein a partir de una aldosa. Belitz *et al.* (2009).

4.2.3.2.1. Epilactosa

La epilactosa (2-epi-lactosa) es el disacárido no digerible correspondiente a la estructura 4-*O*- β -D-galactopiranosil-D- manopiranososa que se produce durante el calentamiento de la leche (Moreno, Villamiel & Olano, 2003). Es un isómero de la lactosa que se forma en concentraciones traza mediante la enolización de esta última (Belitz *et al.*, 2009). Específicamente, se produce por epimerización del C2 del residuo de glucosa presente en la lactosa, que genera un manosilo (Walstra *et al.*, 2006). Es un carbohidrato reductor que puede existir en las formas α - y β -furanósicas o piranósicas. Su estructura y la mutarrotación entre sus anómeros piranósicos se indica en la Figura 12.

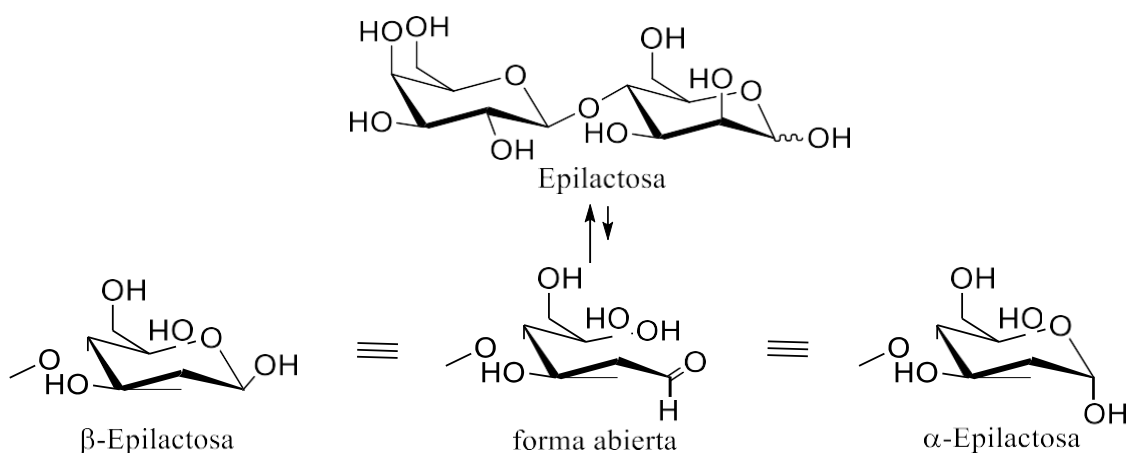


Figura 12. Mutarrotación de la epilactosa. Esquema formulado en el presente trabajo con base en información de Walstra *et al.* (2006).

La epilactosa es un conocido indicador de tratamientos térmicos severos aplicados a la leche. Debido a su capacidad para aumentar el número de bifidobacterias y lactobacilos en el tracto intestinal, favorecer la absorción de Ca^{2+} y el metabolismo de lípidos, así como de disminuir el riesgo de cáncer de colón, se considera un prebiótico, *i.e.*, un componente no digerible que permite que algunas bacterias que mejoran la salud humana proliferen en el colon (Nishimukai *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2008; Olano & Corzo, 2009; Seki & Saito, 2012; Nooshkam, Babazadeh & Jooyandeh, 2018).

4.2.3.2.2. Lactulosa

La lactulosa es el disacárido 4-O-β-D-galactopiranosil-D-fructosa que se obtiene por isomerización de la lactosa en condiciones térmicas o en medio básico o, bien, por combinación de ambos factores. El residuo de fructosa está presente mayoritariamente como los β-anómeros de furanosa y piranosa (Nooshkam *et al.*, 2018), y su carbono hemiacetalico (C2) le confiere a la molécula propiedades reductoras. Presenta la mitad del poder edulcorante de la sacarosa y su solubilidad en agua es de 76.4 g/100 mL a 30 °C (Zimmer *et al.*, 2017). La estructura de la β-lactulosa se indica en la Figura 13.

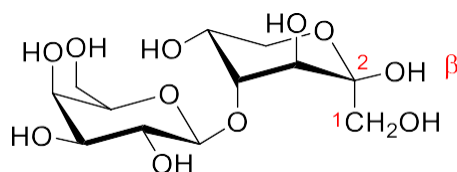


Figura 13. Estructura de la β-lactulosa. Zimmer *et al.* (2017).

Los diferentes isómeros de lactulosa corresponden a los anómeros α- y β- de su residuo de fructosa y a la molécula de cadena abierta, donde las estructuras predominantes en medio acuoso son la α-furanosa, la β-piranosica y la β-furanosa en las proporciones respectivas 0.100, 0.155 y 0.745. La lactulosa con el sustituyente α-fructopiranosica no ha sido reportada (Nooshkam *et al.*, 2018). Sobre el particular se abundará en la sección 5.2.1 del presente trabajo.

En comparación con la lactosa, la lactulosa presenta mayor poder edulcorante y es más soluble en agua. Derivados lácteos como la leche condensada contienen hasta 1% de lactulosa, lo que corresponde a una isomerización cercana al 10% de lactosa. Dicha transformación procede vía el equilibrio de enolización o de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein (Belitz *et al.*, 2009; Fonseca-Santilla, 2009; Zimmer *et al.*, 2017).

La lactulosa es un azúcar que puede transitar por el área superior del tracto digestivo humano sin sufrir hidrólisis debido a la presencia de un enlace β -glucosídico no asimilable. En el colon, las especies de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* la metabolizan y producen CO₂ y los ácidos láctico, acético y fórmico, que conducen al ablandamiento de las heces. Por lo tanto, la lactulosa es un prebiótico y, en particular, un factor bífido (Nooshkam *et al.*, 2018). No obstante, sus efectos bifidogénicos específicos son menos pronunciados cuando se le compara con fructo- o galato-oligosacáridos (Gänzle, Haase & Jelen, 2008).

Específicamente, la lactulosa se emplea en la producción de leches fermentadas porque estimula el crecimiento de microorganismos con actividad prebiótica, fomenta la producción de oligosacáridos que complementan su metabolismo y previene la adhesión y patogenicidad de ciertas bacterias. Y, aunado a sus propiedades nutraceuticas y farmacológicas, tiene un escaso aporte calórico y baja cariogenicidad (Zimmer *et al.*, 2017).

Asimismo, la lactulosa es un laxante efectivo, por lo que tiene aplicaciones farmacológicas. No obstante, todavía no ofrece ventajas significativas frente a otros productos homólogos (Gordon, MacDonald, Parker, Akobeng & Thomas, 2016).

Además de un mayor poder edulcorante que la lactosa, la lactulosa es más soluble en alcohol, y presenta una mayor estabilidad ácido-térmica. Lo anterior la convierte en un aditivo prebiótico ideal para alimentos ácidos que conllevan calentamiento (Nooshkam *et al.*, 2018).

Respecto a su producción industrial, los métodos de isomerización de lactosa a lactulosa se dividen en tres grupos: químicos, enzimáticos y de electroisomerización (Nooshkam *et al.*, 2018).

4.2.3.3. Reacciones generales de oscurecimiento no enzimático

Existen tres principales mecanismos relacionados con el oscurecimiento no enzimático de los alimentos: la reacción de Maillard, la caramelización, y la descomposición del ácido ascórbico. El primer tipo, que es el más frecuente en la mayoría de los productos lácteos, involucra un grupo carbonilo, comúnmente un azúcar reductor, como es el caso de la lactulosa, un grupo amino reactivo proveniente de un aminoácido, péptido o proteína, y una actividad de agua (a_w) intermedia-alta. El segundo tipo implica la descomposición de un azúcar sin la presencia de grupos amino, una baja a_w y una temperatura superior a la que precisa la reacción de Maillard. El tercer mecanismo se basa en la alta reactividad hidrolítica y oxidativa del ácido ascórbico (Nursten, 2011).

En virtud de la elevada reactividad y relativamente alta concentración del disacárido reductor lactosa en la leche de vaca (Figura 5), del alto nivel de proteínas con grupos amino reactivos, como es el caso de la lisina (Tabla 5), así como de una a_w intermedia-alta, las reacciones de Maillard son las transformaciones químicas más favorecidas y extendidas durante los tratamientos térmicos de la leche fluida y en la elaboración de leches concentradas y dulces lácteos, y constituyen el tipo de oscurecimiento no enzimático predominante en los sistemas lácteos procesados.

4.2.3.3.1. Reacciones de Maillard

La reacción de Maillard, también conocida como glicosilación de proteínas, es un amplio grupo de transformaciones que inician con la condensación entre un compuesto amínico y un azúcar reductor, las cuales se presentan, en general, en alimentos tratados térmicamente y conducen a la formación de productos con diversas características sensoriales. Debido a su complejidad, se divide comúnmente en tres etapas: inicial, avanzada y final. La Figura 14 corresponde a la primera de etapa de dicha reacción (Van Boekel, 1998; Nursten, 2011).

El primer paso es reversible y consiste en la condensación de azúcares reductores con grupos amino para formar una imina N-sustituida denominada base de Schiff que, posteriormente, sufre un reordenamiento irreversible para producir una cetosamina o producto de Amadori, que no presenta coloración (Van Boekel, 1998; Nursten, 2011).

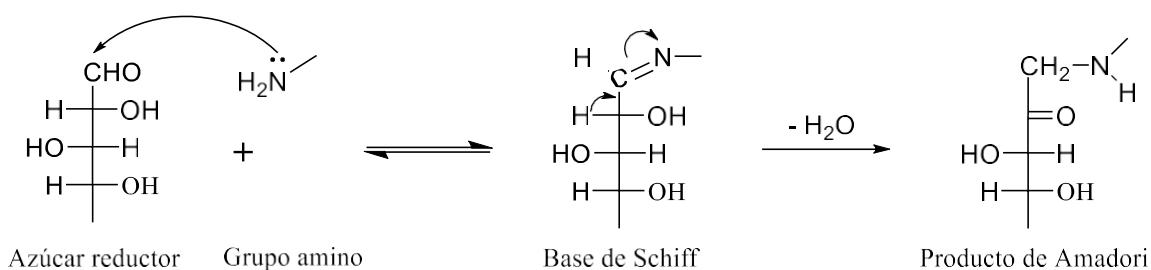


Figura 14. Reacciones de Maillard: formación del producto de Amadori. Van Boekel (1998).

La etapa avanzada consiste en la descomposición de la cetosamina por deshidratación o fisión en numerosos productos y en la formación de aldehídos, NH_3 y CO_2 vía la degradación de Strecker (Van Boekel, 1998; Nursten, 2011). En particular, ésta es una reacción térmica que produce mayoritariamente aldehídos, CO_2 y α -aminocetonas mediante la descarboxilación no oxidativa de α -aminoácidos. Los aldehídos presentan un C menos que los aminoácidos participantes y un potencial aromático destacable. Según la Figura 15, las α -aminocetonas se autocondensan para generar dihidropirazinas y la oxidación de éstas produce pirazinas, moléculas con una elevada capacidad aromática. Otros compuestos formados por esta vía, como NH_3 , H_2S , 1-pirrolina y cisteamina, también influyen en el aroma de los alimentos (Belitz *et al.*, 2009).

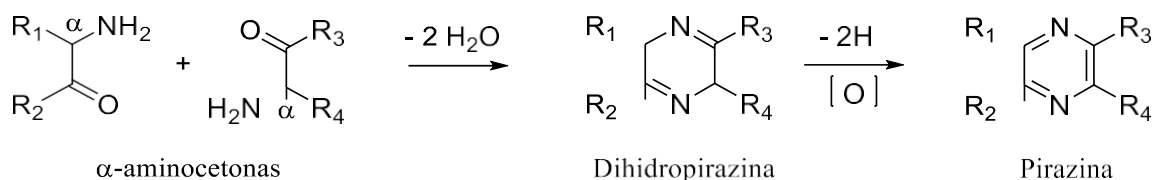


Figura 15. Formación de dihidropirazinas y pirazinas a partir de α -aminocetonas. Nursten (2011).

En la etapa avanzada también se generan intermediarios carbonílicos con grupos enólicos o enodiólicos con propiedades antioxidantes denominados reductonas, que a su vez pueden sufrir fragmentación y generar aldehídos de cadena corta que retroalimentan las reacciones (BeMiller & Huber, 2008). Asimismo, se producen intermediarios y compuestos α -dicarbonílicos que, al igual que las reductonas, pueden participar en la degradación de Strecker (Belitz *et al.*, 2009).

La etapa final consiste en reacciones de condensación que generan heterociclos como piridinas, pirroles, imidazoles, furanos y melanoidinas (Van Boekel, 1998; BeMiller & Huber, 2008).

Las melanoidinas son mezclas heterogéneas coloridas formadas por varios tipos de polímeros nitrogenados que se producen cuando sustancias reactivas de baja masa molar, como los carbonilos insaturados, α -dicarbonilos, furanos, furanonas, furfurales y pirroles, reaccionan entre sí. Las reacciones incluyen condensaciones, deshidrataciones, formación de ciclos, reordenamientos e isomerizaciones (Van Boekel, 1998; Wong, 2018). Todas las melanoidinas contienen anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados, pueden ser solubles o insolubles en agua (BeMiller & Huber, 2008), y de alta o baja masa molar (Van Boekel, 1998). Se caracterizan también por la presencia de estructuras tipo reductona, lo que explica parcialmente su señalada actividad antioxidante (Patrignani, Rinaldi, Rufián-Henares & Lupano, 2019). En la Figura 16 se muestran las estructuras de algunas de ellas.

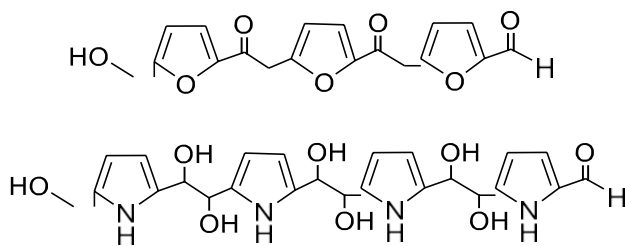


Figura 16. Estructura básica de algunas melanoidinas. Wong (2018).

4.2.3.3.1.1. Condiciones y rutas de la reacción de Maillard

La reacción de Maillard puede desarrollarse en condiciones ácidas o en medio básico, aunque se favorece más en este último caso, ya que los aminoácidos, péptidos y proteínas se encuentran en forma no protonada. Además, el aumento de pH promueve que las hexosas se presenten como cadenas abiertas reductoras muy reactivas. Respecto a los aminoácidos, la lisina provee la mayor parte de grupos amino libre reactivos de las proteínas ($-\text{NH}_2$ ϵ), siendo ésta y, en segundo lugar, la arginina, con su grupo guanidino básico, $-\text{NH}-(\text{C}=\text{NH})-\text{NH}_2$, las especies amínicas más reactivas en los sistemas lácteos. De la misma forma, el incremento de temperatura, la humedad, la a_w y los cationes metálicos electroactivos favorecen la reacción. La máxima pérdida de grupos $-\text{NH}_2$ se presenta en condiciones de 65-75% de humedad relativa y a_w 0.72. Respecto a los metales, el Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} y Zn^{2+} catalizan la reacción, y el Mn^{2+} y el Sn^{2+} la inhiben (Eskin & Shahidi, 2013).

La Figura 17 representa las principales rutas de degradación del producto de Amadori a través de los intermediarios 1,2- y 2,3-enaminol, los cuales derivan en la formación de dicarbonilos, reductonas, heterociclos nitrogenados como el 2-acetil-N-pirrol, y estructuras furanoides como el 5-hidroximetilfurfural (HMF) y la 3(2H)-furanona, productos de fisión, como el piruvaldehído o metilglioxal, y polímeros coloridos como las melanoidinas (Van Boekel, 1998; Walstra *et al.*, 2006; Nursten, 2011). En el caso del HMF, la 3(2H)-furanona y el piruvaldehído, la presencia de aminas incrementa su reactividad y la diversidad de los productos generados en la segunda y tercera etapas de la reacción de Maillard. Particularmente, los intermediarios 2,4-dicarbonilo y 3-desoxiosona (3-DG) provienen del 1,2-enaminol, mientras que la 1-desoxiosona (1-DG) y la 4-desoxiosona (4-DG) derivan del 2,3-enaminol.

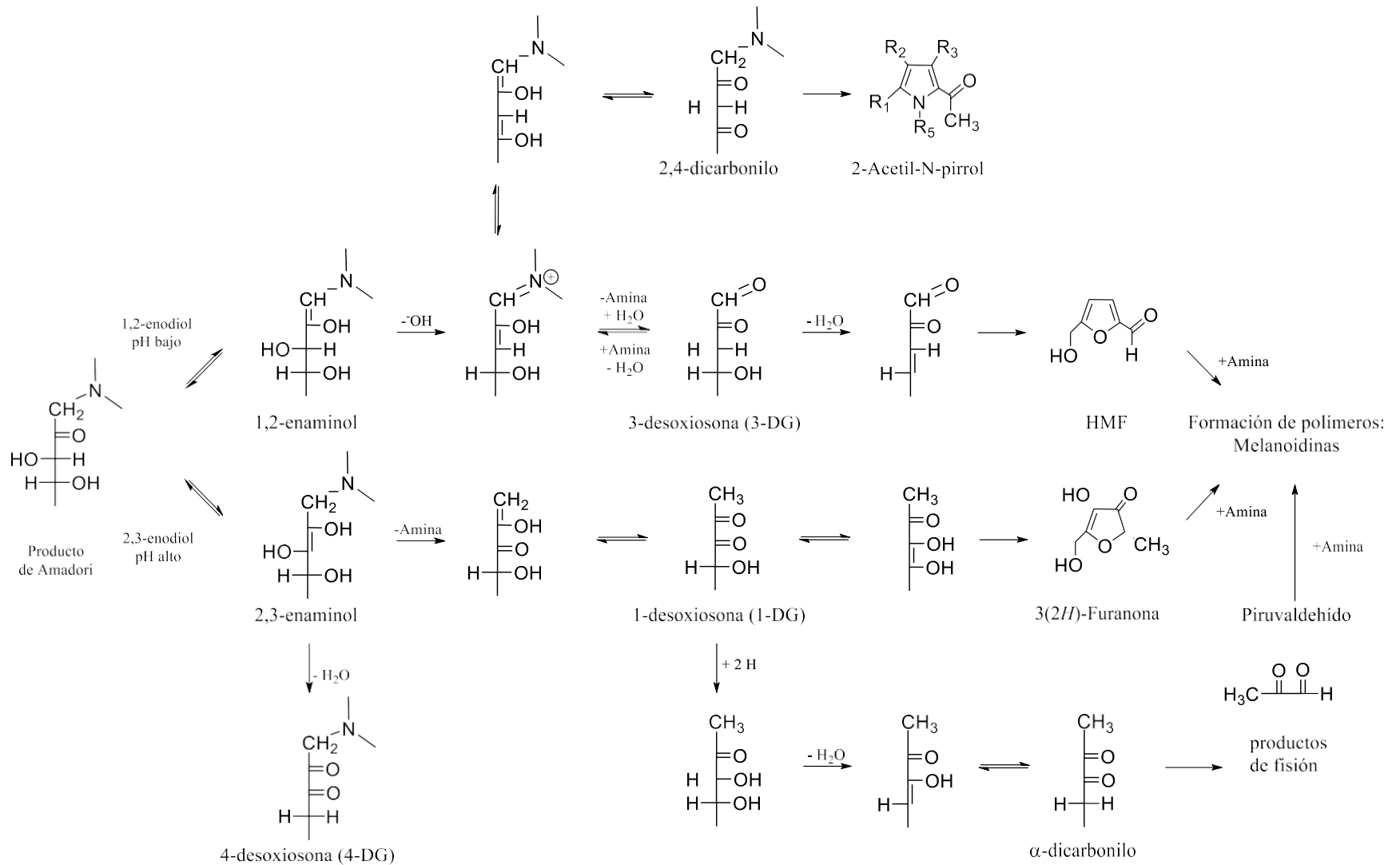


Figura 17. Rutas principales de la reacción de Maillard a partir del producto de Amadori. Nursten (2011).

4.2.4. Tratamientos térmicos de la leche

El CODEX STAN 206-1999 (*Codex Alimentarius*, 2011) define a un producto lácteo como aquel producto “obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración”. Por su parte, la NOM-183-SCFI-2012 establece la clasificación de producto lácteo con base en su concentración de proteína (%), y lo define como aquel “producto elaborado a partir de ingredientes propios de la leche, tales como caseína, grasa, suero de leche, agua para uso y consumo humano, con un mínimo de 22 g/L de proteína de la leche y, de ésta, el 80% de caseína”, el cual, asimismo, puede contener grasas de origen vegetal.

La fabricación de prácticamente todos los derivados lácteos involucra uno o varios tratamientos térmicos. Sin embargo, los resultados dependerán en gran medida de su intensidad, *i.e.*, de la relación tiempo/temperatura aplicada según el producto que se desee elaborar (Walstra *et al.*, 2006).

La leche líquida es el producto lácteo más consumido, elaborado y comercializado, y abarca alimentos como la leche pasteurizada, y la leche ultrapasteurizada (UHT) con diferentes contenidos de grasa láctea (FAO, 2020).

Los objetivos de aplicar temperaturas elevadas a la leche son la destrucción de microorganismos patógenos y la inactivación de enzimas que provocan el deterioro sensorial. A su vez, el suministro de calor permite lograr determinados perfiles sensoriales, tecnológicos o funcionales para ciertos productos lácteos. No obstante, los tratamientos térmicos pueden generar cambios indeseables como el desarrollo de sabores atípicos, la pérdida de la calidad nutrimental o la inactivación de bacterias fermentativas, por lo que las temperaturas y tiempos de trabajo deben optimizarse y adecuarse a cada producto y fin deseado (Walstra *et al.*, 2006).

Los principales tratamientos térmicos que se aplican en la producción de la leche fluida son la termización, la pasteurización, la ultrapasteurización y la esterilización, como se describe y resume en la Tabla 6 (IDF, 2018). Adicionalmente, en párrafos posteriores se indica la definición de leche esterilizada, leches concentradas, lactosuero, dulce de leche y cajeta.

4.2.4.1. Termización

La termización es un pretratamiento opcional que va de 57 a 68 °C durante 15 s que se aplica a la leche con la finalidad de controlar la carga microbiana, inactivar enzimas nativas y facilitar su descremado (Walstra *et al.*, 2006; Lewis & Deeth, 2009). No obstante, este proceso no asegura la destrucción de microorganismos patógenos ni la pérdida total de actividad enzimática nativa (Romero del Castillo-Shelly & Mestres-Lagarriga, 2004). La termización tiene ligeras repercusiones nutrimentales debido a que disminuye la concentración de vitaminas y promueve una desnaturalización inicial de las proteínas del suero; principalmente, tiene fines tecnológicos (Lewis & Deeth, 2009).

4.2.4.2. Pasteurización

La pasteurización es un tratamiento que tiene como objetivo la destrucción de la totalidad de la carga microbiana patógena y la inactivación de algunas enzimas nativas. Existen básicamente tres modalidades: el calentamiento a baja temperatura y tiempo largo (LTLT, por sus siglas en inglés), que consiste en calentar la leche a 60 °C por 30 min; la pasteurización a alta temperatura y tiempo corto (HTST, por sus siglas en inglés), cuando la leche se procesa a 72 °C por 15 s, y la pasteurización alta, que conlleva un tratamiento a 85-90 °C/30 s. El efecto nutrimental es más significativo conforme aumenta el tiempo y la temperatura de exposición debido a un alto grado de desnaturalización y reactividad de las proteínas del suero, así como a la creciente pérdida de vitaminas (Lewis & Deeth, 2009; NOM-155-SCFI-2012).

4.2.4.3. Esterilización comercial

En términos de control sanitario, la NOM-243-SSA1-2010 define esterilización comercial como el “tratamiento térmico aplicado al producto para la destrucción de todos los microorganismos viables de importancia en la salud pública y aquellos capaces de reproducirse en el alimento bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución, sin la condición de refrigeración”.

4.2.4.4. Ultrapasteurización

La leche UHT es un producto comercialmente estéril y tiene una larga vida de anaquel. La ultrapasteurización consiste en la aplicación directa de calor por inyección de vapor de agua sobrecalentado en la leche. También puede realizarse de manera indirecta a través de un intercambiador de calor. El primer caso se conoce como método directo (UHTd) y consiste en la exposición de la leche a 135-150 °C por 1-3 s, mientras que, en el segundo, denominado método indirecto (UHTi), la leche se calienta a 100-110 °C por 5-10 s. Entre los efectos químicos y fisicoquímicos debidos al tratamiento térmico se tienen, nuevamente, la desnaturalización de las proteínas del suero, la epimerización de la lactosa y un cambio marcado en las propiedades organolépticas (Lewis & Deeth, 2009; NOM-155-SCFI-2012).

4.2.4.5. Esterilización clásica

Por su parte, la esterilización clásica (110-120 °C/10-20 min o 125 °C/5 min), asegura la total destrucción térmica de las esporas bacterianas y la obtención de una leche con larga vida de anaquel. No obstante, los efectos son marcados respecto a la desnaturalización de las proteínas del suero y a la producción de sabores característicos de la reacción de Maillard (Lewis & Deeth, 2009).

Tabla 6. Resumen de los principales tratamientos térmicos aplicados a la leche y su efecto en los componentes lácteos. IDF (2018).

Tratamiento térmico		Características del proceso	Aplicaciones	Efectos Químicos significativos
Termización	57-68 °C / 15 s	Pretratamiento térmico con la finalidad conservar y/o de facilitar el procesamiento de la leche	Fabricación de algunos quesos Extender vida de anaquel de leche que será posteriormente procesada	Efectos menores en vitaminas y proteínas del suero
Pasteurización	LTLT 60°C / 30 min HTST 72-80 °C / 15-30 s Alta 85-90°C / 15-30 s	Proceso continuo en sistema cerrado donde se aplica calor usando intercambiador	Leche para consumo humano	a) Efectos sobre el contenido de vitaminas b) Desnaturalización de alrededor del 5% de las proteínas del suero Inactivación de lipasas
UHT	UHT Método directo 150-135 °C / 1-3s Método indirecto 90-100 °C / 5-10 s	Proceso continuo en sistema cerrado donde se aplica calor por inyección directa de vapor o de manera indirecta empleando intercambiadores de calor	Leche para consumo humano de larga vida de anaquel a temperatura ambiente	- Altos niveles de desnaturalización de proteínas del suero (70 - 95 % de β -lactoglobulina) - Epimerización de lactosa - Glicosilación (lactosilación) de residuos de lisina - Formación de compuestos azufrados
Esterilización	Esterilización 110-120 °C / 10-20 min ó 125 °C / 5 min	Proceso térmico a alta temperatura y tiempo prolongado que asegura la destrucción térmica de microorganismos y esporas bacterianas	Leche esterilizada, evaporada, condensada azucarada y para consumo humano de larga vida de anaquel a temperatura ambiente	Completa desnaturalización de las proteínas del suero Producción de sabores por la reacción de Maillard
Otros	90-95 °C / 5-10 min	Aplicación de calor para favorecer el proceso	Fabricación de yogurth	Desnaturalización casi completa de las proteínas del suero

4.2.4.6. Leches concentradas

En general, las leches concentradas se obtienen por remoción de agua a través de ultrafiltración, evaporación, ósmosis inversa o por la adición de otros ingredientes hasta alcanzar la concentración deseada. Su característica principal es su baja a_w (0.12-0.85) que, junto con el tratamiento térmico correspondiente, asegura una larga vida de anaquel (NOM-155-SCFI-2012; Sharma, Patel & Patel, 2016).

4.2.4.6.1. Leche condensada

La leche condensada se obtiene por la eliminación parcial del agua de la leche entera o descremada. La elaboración prevé el tratamiento térmico y su concentración por evaporación. La leche condensada puede ser edulcorada o no edulcorada, pero la mayor parte es edulcorada, y se denomina comercialmente "leche condensada azucarada". En América Latina, por ejemplo, se utiliza frecuentemente para cocinar y hornear (FAO, 2020).

4.2.4.6.1.1. Leche condensada azucarada

Es aquella leche que se obtiene mediante la evaporación de agua a través de presión reducida, a la que se le ha agregado sacarosa y/o dextrosa u otro edulcorante natural, hasta alcanzar una determinada concentración de grasa butírica y sólidos totales (NOM-243-SSA1-2010). La leche condensada azucarada contiene \approx 40% de azúcar, presenta una consistencia espesa y un sabor muy dulce. Se elabora disolviendo el azúcar en leche tibia, después se deshidrata por evaporación a presión reducida entre 49 y 55 °C hasta que el volumen es \leq 40% del original; si la leche se sobrecalienta, la albúmina se coagulará y el azúcar sufrirá oscurecimiento no enzimático. Después de la condensación, la leche se enfría y se agita constantemente hasta alcanzar 20 °C, posteriormente, se enlata, se sella y se procesa térmicamente (Smit, 2003). El incremento de la presión osmótica debido a la presencia de azúcar es responsable de la estabilidad del producto (Sharma *et al.*, 2016).

4.2.4.6.2. Leche evaporada

La leche evaporada se obtiene por eliminación parcial del agua de la leche entera o descremada. Este producto representa entre 2 y 2.5 veces su volumen de leche fresca y no contiene azúcar. Tiene la consistencia de una crema fina y es menos dulce que la leche condensada. Su elaboración prevé el tratamiento térmico para garantizar su estabilidad e inocuidad bacteriológica. Se prepara evaporando el agua de la leche fresca en condiciones de vacío hasta alcanzar un volumen de 40-50% del original, se vacía en latas y se esteriliza en autoclave. La leche evaporada es estéril y así se mantendrá mientras la lata permanezca cerrada (Smit, 2003). En general, se emplea mezclada con otros alimentos (FAO, 2020).

4.2.4.6.3. Leche en polvo

La leche en polvo es un sólido granular de tonalidad amarilla que se mezcla fácilmente con agua y produce un líquido con sabor a leche cocida (FAO, 2020). Se somete a deshidratación, proceso que consiste en reducir su contenido de agua hasta un límite máximo de 4%, por lo que también se le conoce como leche deshidratada (NOM-155-SCFI-2012). El propósito de su manufactura es prolongar la vida de anaquel de los constituyentes lácteos sin registrar una pérdida apreciable de su calidad. No obstante, la formación de sabores indeseables, el descenso del valor nutricional y la cristalización de la lactosa disminuyen su calidad. Algunas transformaciones implican la autooxidación de lípidos, la reacción de Maillard y condiciones deficientes en el secado (Walstra *et al.*, 2006).



Figura 18. Leches concentradas.

La elaboración de leche en polvo incluye por lo general la estandarización de la grasa, un precalentamiento a 95 °C por 1 min, su evaporación hasta obtener 45% de materia seca y un homogenizado que, en el caso del secado por atomización (aspersión), evita que los glóbulos de grasa obstruyan las salidas de aspersor. Después del secado, la leche concentrada disminuye su contenido de humedad hasta convertirse en un producto pulverizado (Walstra *et al.*, 2006). La leche entera o descremada en polvo contienen \approx 4% de humedad (Augustin, Clarke & Craven, 2003).

4.2.4.7. Lactosuero

La NOM-155-SCFI-2012 define al lactosuero como el "líquido obtenido de la coagulación de la caseína de la leche, mediante la acción de enzimas coagulantes de origen animal, vegetal o microbiano, por la adición de ácidos orgánicos o minerales de grado alimentario"; condición que implica la acidificación por intercambio iónico hasta alcanzar el pI de la caseína. Contiene más del 50% de los sólidos de la leche, incluyendo proteínas, lactosa, minerales y vitaminas (Hernández-Rojas & Vélez-Ruíz, 2014). En virtud de que es una fuente rica en nutrimentos esenciales, el lactosuero se utiliza en la producción de alimentos funcionales como fórmulas infantiles, bebidas fortificadas y batidos de proteína (Solak & Akin, 2012; Brito *et al.*, 2015). Asimismo, se han desarrollado diversas tecnologías para la purificación y separación de sus proteínas, como la ultrafiltración y el secado por atomización. Antes de la aplicación de dichos procesos, el lactosuero se pasteuriza y clarifica (Banco de Patentes SIC, 2013).

Figura 19. Lactosuero.



4.2.4.8. Dulces a base de leche

En general, se denominan dulces a base de leche “a los productos elaborados por tratamiento térmico de la leche y edulcorantes, pudiendo ser adicionados de aditivos para alimentos e ingredientes opcionales” (NOM-243-SSA1-2010). Por ello, esta denominación puede abarcar tanto al postre lácteo conocido como “cajeta” y al producto conocido simplemente como “dulce de leche”.

4.2.4.8.1. Dulce de leche

En particular, se entiende por “dulce de leche” al derivado obtenido por concentración y aplicación de calor a presión normal o reducida de la leche, o leche reconstituida, con o sin la adición de sólidos de origen lácteo y/o crema y adicionado de sacarosa (parcialmente sustituido o no por monosacáridos y/u otros disacáridos) con o sin la adición de otras sustancias alimenticias. El dulce de leche debe presentar una consistencia cremosa o pastosa, sin cristales perceptibles sensorialmente. La consistencia podrá ser más firme en el caso del dulce de leche para repostería o pastelería (pastelero) y para heladería (heladero). Podrá presentar consistencia semisólida o sólida y parcialmente cristalizada cuando la humedad no supere el 20% (p/p). Su color debe ser castaño acaramelado, proveniente de la reacción de Maillard. En el caso del dulce de leche heladero, el color podrá corresponder al colorante adicionado, mientras que el sabor y aroma deben ser característicos a dulce y no debe presentar olores o sabores extraños (Zunino, 1997; FAO-PRODAR, 2014).



Figura 20. Dulce de leche.

4.2.4.8.2. Cajeta

La cajeta es un producto dulce derivado de la leche que se fabricaba tradicionalmente utilizando leche de cabra, aunque actualmente es más común emplear leche de vaca. Es un producto lácteo común en América Latina que se obtiene mediante la concentración por evaporación de la leche con azúcar. Generalmente, la concentración se efectúa hasta alcanzar un contenido de sólidos totales entre el 65 y 70%. El proceso se realiza comúnmente a presión atmosférica en recipientes abiertos hasta obtener un producto de consistencia muy viscosa de color café claro hasta el pardo rojizo y de sabor característico agradable (García-Márquez, 1999). Además de leche y azúcar, la formulación incluye glucosa y NaHCO_3 . La glucosa permite controlar la cristalización de la sacarosa, evitando defectos de "arenosidad" (Giménez, Ares & Gámbaro, 2008a). De igual manera, en bajas cantidades ayuda a mejorar el brillo del producto y contribuye a prolongar su vida de anaquel. El uso de NaHCO_3 evita la coagulación de las proteínas lácteas por efecto del calentamiento (López-García *et al.*, 2011).



Figura 21. Cajeta.

Los atributos sensoriales de la cajeta son su olor, color, brillo, sabor, dulzor y viscosidad (Allasia, 2012). El color proviene de las reacciones de oscurecimiento no enzimático, ya que las condiciones de pH y temperatura del proceso favorecen estos cambios (López-García *et al.*, 2011). El principio de conservación de la cajeta y el dulce de leche se basa en la concentración de sólidos, especialmente de azúcares, lo que inhibe el desarrollo microbiano (Allasia, 2012).

4.2.5. Reacciones térmicas de la lactosa

Entre los factores que influyen los cambios químico-térmicos en la leche se encuentran la concentración de azúcares, lípidos y proteínas, el pH, la temperatura y el tiempo de calentamiento, sin olvidar el contenido de sales y minerales (Morales & Jiménez-Pérez, 1999).

Existen básicamente dos tipos de efectos de las reacciones térmicas de la lactosa en los sistemas lácteos. El primero comprende los cambios en las propiedades tecnológicas y nutritivas de la leche, y abarca la degradación de lactosa a ácidos orgánicos y lactulosa, la desnaturalización de proteínas, que incluye la inactivación de enzimas, la descomposición de lípidos y vitaminas, así como la modificación del equilibrio calcio/fósforo. El segundo está relacionado con la aparición de sabor debido a las reacciones de Maillard, transformaciones que continúan durante el almacenamiento de los productos lácteos (Van Boekel, 1998; Walstra *et al.*, 2006; Sakkas *et al.*, 2014).

Entre las reacciones térmicas de la lactosa en las que no participan proteínas se encuentra la anomerización, la isomerización a lactulosa y la epimerización (Belitz *et al.*, 2009). Y entre los productos que se forman durante el calentamiento de la leche a través de las reacciones de Maillard destacan la furosina (N^{ϵ} -(2-furoílmethyl-lisina)), la lactulosa-lisina (N^{ϵ} -desoxilactulosil-L-lisina), que es el producto de Amadori formado entre la lactosa y el grupo ϵ -amino de la lisina, la N^{ϵ} -carboximethyl-L-lisina (CML), la ϵ -(2-formil-5-hidroximethyl-1-pirrolil)-norleucina (lisil-pirralina), y diversos pigmentos y productos fluorescentes. Finalmente, productos como la galactosa, la tagatosa, el HMF, y los ácidos sacarínicos, fórmico y levulínico se producen por ambas vías, *i.e.*, con o sin la participación de proteínas lácteas (Calvo & Olano, 1989; Walstra *et al.*, 2006; Mehta & Deeth, 2016).

En la Figura 22 se muestra la estructura de algunos de los compuestos provenientes de la degradación ácido-térmica de la lactosa, de las reacciones de Maillard, o de ambas. La mayoría tiene uso como indicador térmico, como se detallará más adelante.

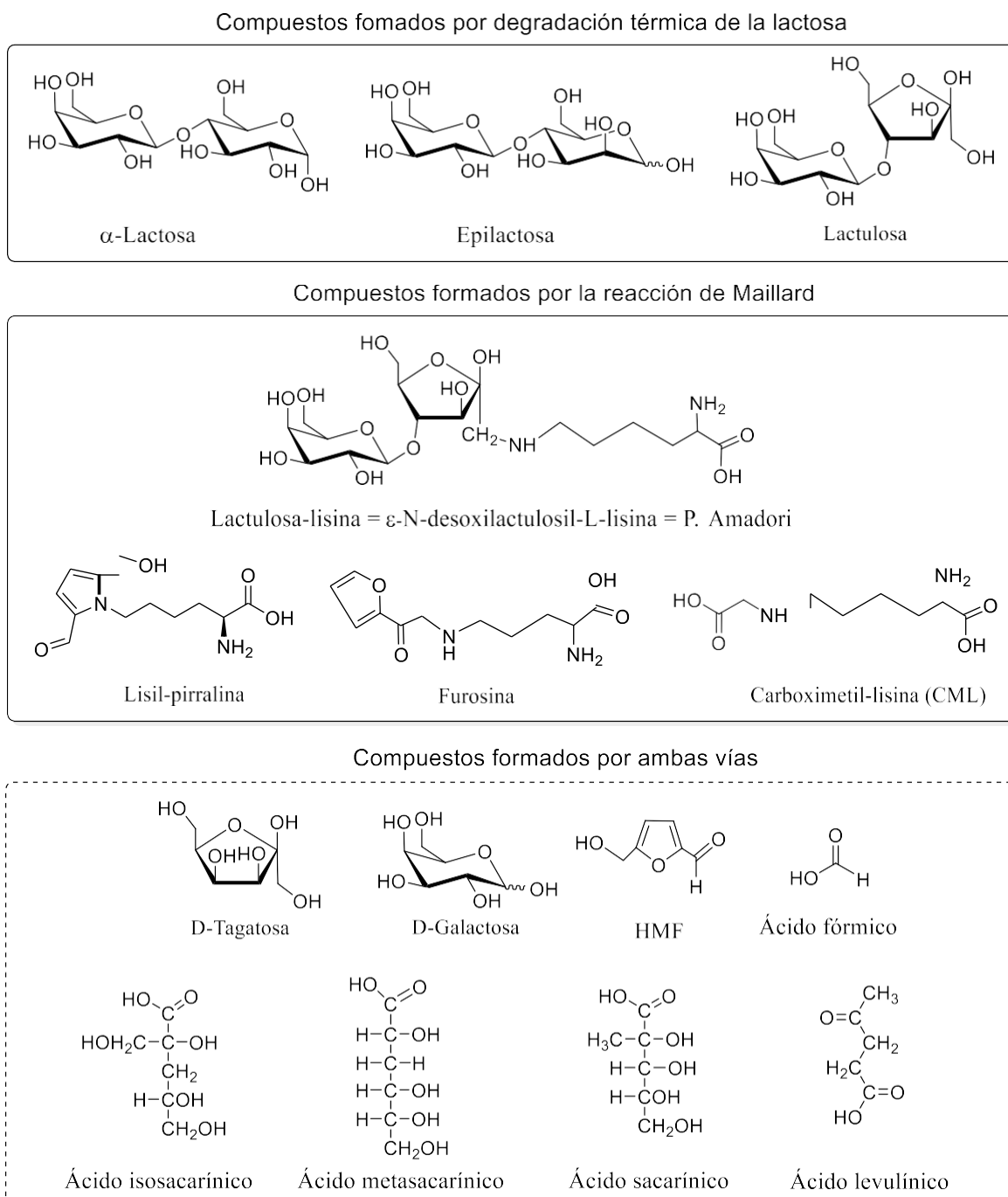


Figura 22. Compuestos provenientes de la transformación térmica de la lactosa en la leche. Esquema formulado en el presente trabajo.

4.2.6. Reacciones y productos de Maillard en los productos lácteos

Las reacciones de Maillard están ampliamente favorecidas en sistemas lácteos en virtud de su riqueza en proteínas y lactosa, especialmente cuando su procesamiento implica etapas de calentamiento, evaporación y deshidratación. Por supuesto, la composición inicial de la leche afecta la velocidad de reacción y el perfil químico resultante. Además, los cationes metálicos, el pH \approx neutro y una a_w intermedia-alta (≈ 0.72) potencian de modo muy favorable el desarrollo de dichas reacciones (Smit, 2003; Olano, Calvo & Corzo, 1989; Zunino, 1997; Claeys, Van, & Hendrickx, 2003; Morgan, Appolonia-Nouzille, Baechler, Vuataz, & Raemy, 2005).

La reacción inicia con la condensación entre la lactosa y los aminoácidos que conforman las proteínas y los péptidos de la leche, particularmente con aminoácidos básicos como la lisina, la arginina y la histidina, aunque los demás aminoácidos también participan (Mehta & Deeth, 2016). Algunos compuestos de las etapas avanzadas se forman en la leche UHT, leches concentradas, lactosuero, dulce de leche y cajeta (Smit, 2003; Zunino, 1997; Claeys *et al.*, 2003; Morgan *et al.*, 2005).

Además del oscurecimiento, los efectos térmicos de la reacción de Maillard en la leche incluyen la producción de aromas y sabores, el descenso del pH, el aumento de la actividad antioxidante, la quelación de metales, la actividad antimicrobiana, la reducción de antigenicidad, la pérdida de solubilidad de los productos en polvo, la disminución del valor biológico de las proteínas, en particular por afectación de los residuos de lisina, y la generación de agentes mutagénicos (Van Boekel, 1998; Nursten, 2011). Respecto a potenciales tóxicos, dicho suceso se limita sólo a lechequemada adherida, pues la formación de mutágenos como ciertas aminas heterocíclicas requiere temperaturas muy altas, además, la creatinina, que es precursora de este tipo de compuestos, está presente en la leche sólo en cantidades traza (Van Boekel, 1998).

4.2.7. Indicadores térmicos comunes en la leche y los productos lácteos

Los efectos nutrimentales y sensoriales que tienen lugar en múltiples procesos tecnológicos en la industria láctea pueden evaluarse mediante la determinación de varios compuestos químicos y biológicos relacionados con la intensidad térmica, la etapa de transformación y el periodo de exposición, ya sea a través de la degradación de compuestos nativos de la leche o de aquellos que resultan de las reacciones a temperaturas altas. La desnaturalización y el entrecruzamiento de proteínas, la reacción de Maillard y la isomerización de azúcares se han estudiado como fuente de indicadores o marcadores térmicos de la leche (Morales & Jiménez, 2001).

Para que un compuesto pueda emplearse como indicador térmico debe cumplir con dos requisitos. Por un lado, la sustancia indicadora debe ser lo suficientemente estable térmica y cinéticamente y, por otro, su formación debe ser predecible y ubicarse dentro del intervalo de calentamiento aplicable tecnológicamente (Ledl, Ellrich & Klostermeyer, 1986). En ocasiones, la medición de un solo indicador no permite determinar la severidad del procesamiento térmico, ya que las distintas condiciones de elaboración de los productos lácteos generan un conjunto variado de moléculas. Por ello, se opta por la evaluación de cocientes: lactulosa/furosina (Cho, Hong & Kim, 2012), y por la medición de la desnaturalización de las proteínas del suero (Sakkas *et al.*, 2014).

Otro factor importante para establecer el indicador o marcador ideal que puede emplearse en un tratamiento térmico y, por lo tanto, en un producto lácteo, es la concentración del indicador, ya que las temperaturas altas y los tiempos prologados en un procesamiento, así como las características fisicoquímicas de la materia prima, favorecerán o ralentizarán las reacciones térmicas (Moreaux & Birlouez-Aragon, 1997; Deeth & Hartanto, 2009; Hellwig *et al.*, 2010; Le *et al.*, 2013; Sakkas *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2016; Cortés-Yáñez *et al.*, 2018).

5. Parte central y desarrollo

5.1. Reacciones de la lactosa en leche tratada térmicamente

En esta parte se presentan los resultados de la investigación monográfica y los esquemas de las principales reacciones y rutas térmicas de la lactosa en la leche. En primer lugar, se indican los compuestos representativos de las reacciones térmicas generales del disacárido. En segundo, se hace una revisión de los equilibrios de isomerización. En tercero, se estudian las reacciones de Maillard, en particular con la lisina. En cuarto, se menciona la importancia de los compuestos empleados como indicadores térmicos. Y, en quinto lugar, se elabora un resumen de los principales compuestos estables provenientes de la degradación del carbohidrato en los productos lácteos señalados. Posteriormente, se exponen las reacciones de la lactosa y de algunos de sus compuestos de transformación con microcomponentes lácteos como la urea y los metales. Y, finalmente, se realiza un resumen de los productos de descomposición de la lactosa y su impacto en las propiedades alimentarias de los productos lácteos.

En la Figura 23 se indican los principales tipos de equilibrios y reacciones térmicas que experimenta la lactosa. Entre ellos destaca la mutarrotación, en la que se establece una conversión entre la estructura abierta y los anómeros β - y α - de la lactosa. Asimismo, se presenta la enolización que genera epilactosa, epímero en el C2 del residuo glucosilo de la lactosa, y lactulosa, *i.e.*, su cetosa isomérica. También se muestran los intermediarios iniciales de las reacciones de Maillard, tales como la base de Schiff de la lactosa y el P. Amadori lactulosa-lisina. Finalmente, la lactosa puede reaccionar con microcomponentes lácteos como la urea formando ureidos, y con cationes metálicos para generar complejos. En el primer caso, se trata de derivados con uniones covalentes, y en el segundo de compuestos con enlaces de coordinación.

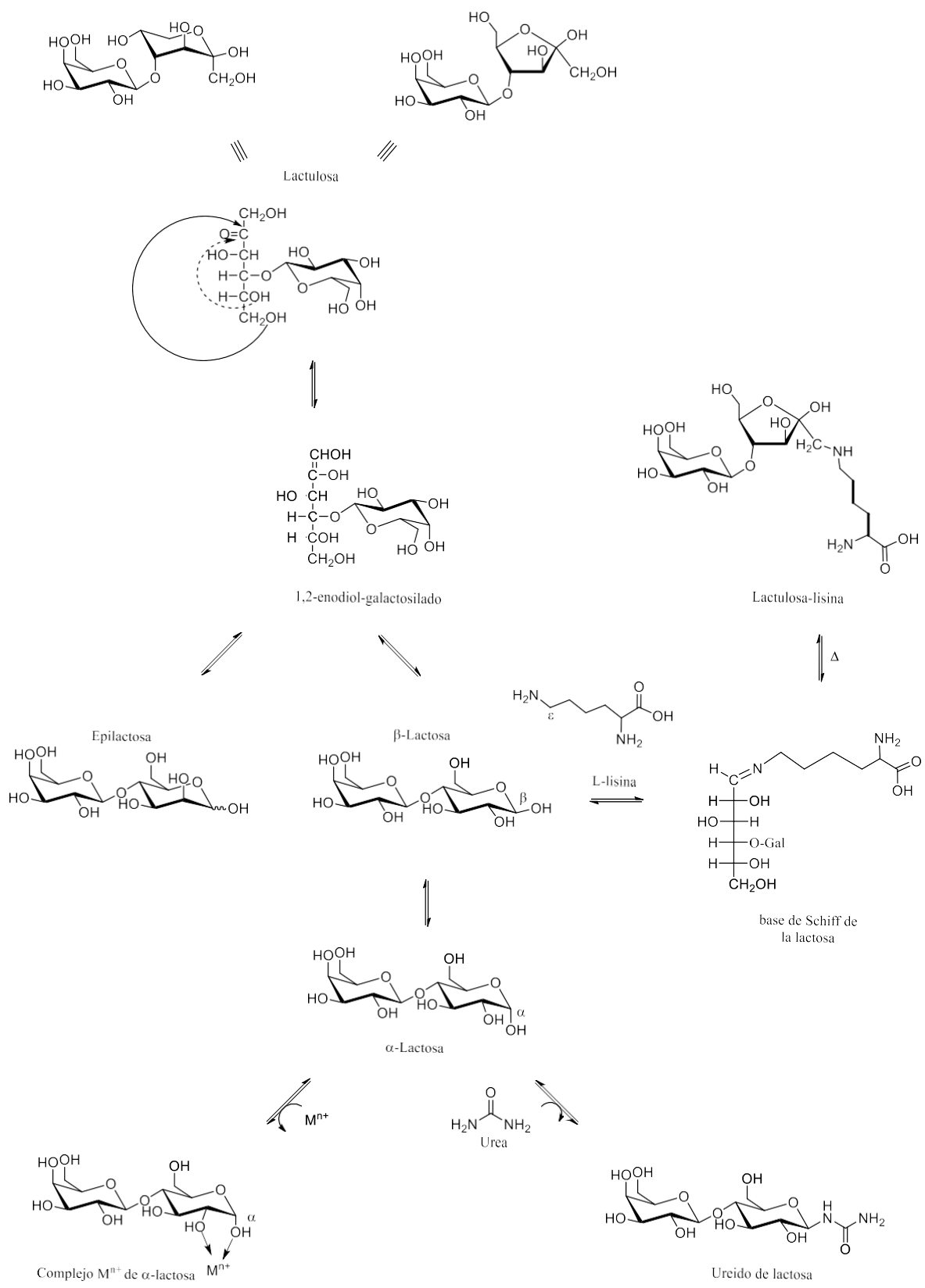


Figura 23. Reacciones generales de la lactosa en leche tratada térmicamente. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.2. Isomerización: mutarrotación y enolización

En la Figura 24 se muestran los equilibrios de mutarrotación (anomerización) y el de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein (enolización) de la lactosa.

Además de la conversión del anómero β - al α - que se presenta a temperaturas bajas (0-20 °C) y en procesos de calentamiento (> 50 °C), la mutarrotación favorece la formación de α -lactosa monohidratada cuando el tratamiento implica etapas de concentración de los componentes, en las que disminuye la a_w , como sucede en la elaboración de leches concentradas y dulces lácteos. La α -lactosa hidratada, cuya estructura se muestra en la Figura 24, es la forma más estable de la lactosa. Cabe mencionar que la deshidratación rápida de una solución de lactosa, como acontece en la producción de leche en polvo, da origen a una mezcla higroscópica de α - y β -lactosa amorfas (Belitz *et al.*, 2009).

Además de la mutarrotación, la Figura 24 muestra el equilibrio de enolización de la lactosa a partir del intermediario 1,2-enodiol-galactosilado. Los productos de epimerización e isomerización son, de manera respectiva, epilactosa y lactulosa. Cada uno de estos disacáridos puede formar los anómeros α y β de sus correspondientes estructuras piranósicas y furanósicas. En el caso de la lactulosa, la β -fructopiranososa es el anómero más estable (Walstra *et al.*, 2006; Nooshkam *et al.*, 2018). Asimismo, partiendo del intermediario 2,3-enodiol-galactosilado, la lactulosa podría formar el disacárido galactosil-psicosa, no obstante, no existen reportes sobre el particular, debido acaso a su inestabilidad.

Por otro lado, la lactosa puede experimentar reacciones significativas de degradación en medio térmico-alkalino (Aider & De Halleux, 2007), como se detallará posteriormente.

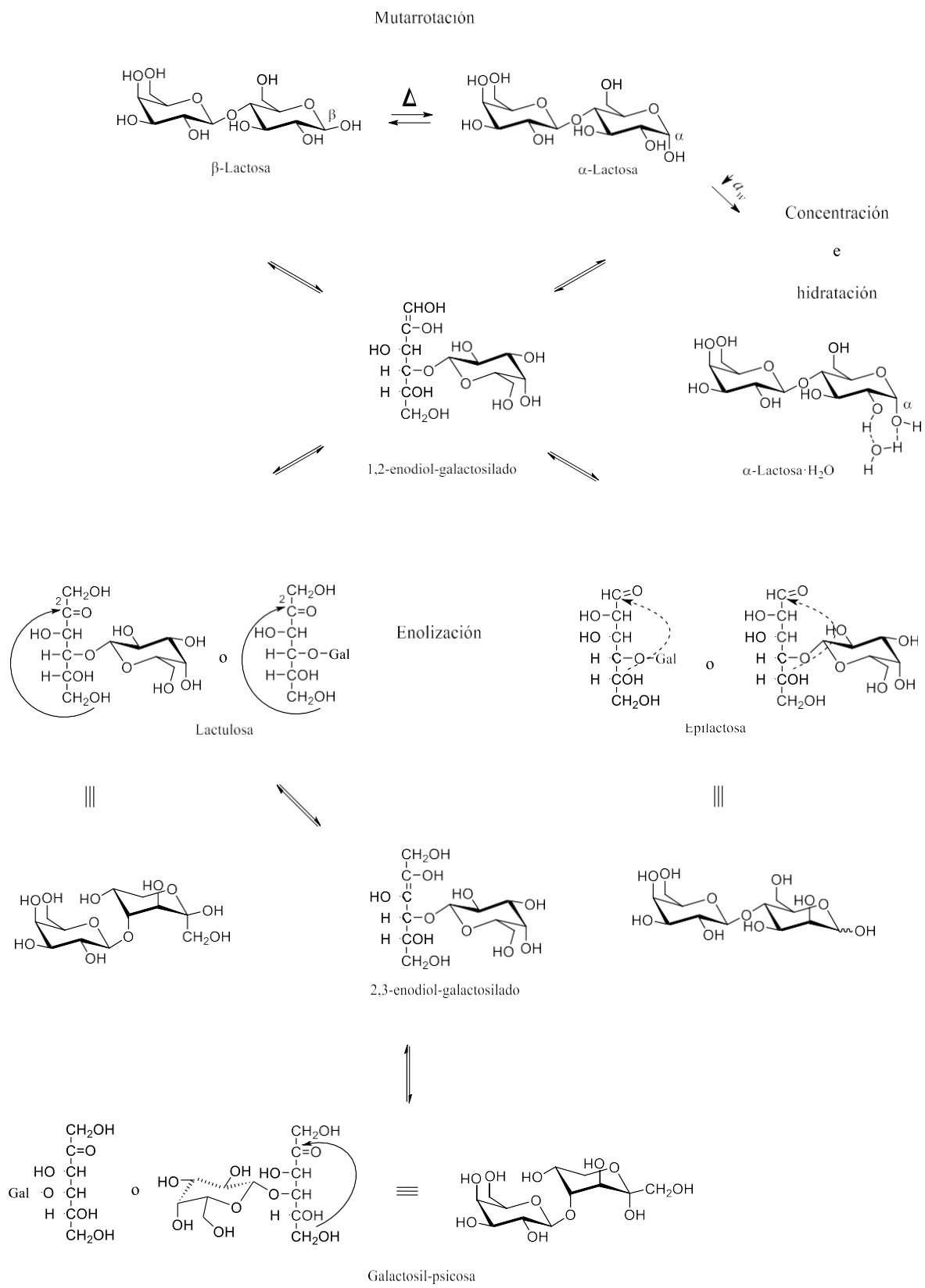
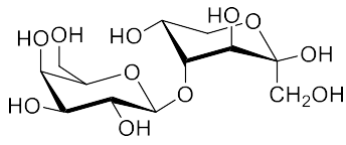


Figura 24. Mutarrotación, enolización e hidratación de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

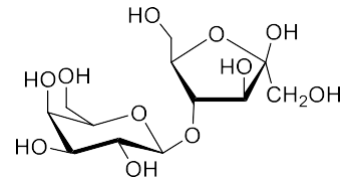
5.2.1. Lactulosa y epilactosa

En la Figura 25 se muestran los equilibrios de mutarrotación de los disacáridos lactulosa y epilactosa que pueden presentarse durante el procesamiento térmico de la leche. La conversión de lactulosa en epilactosa, y viceversa, está mediada, como se ha mencionado, por el intermediario 1,2-enodiol-galactosilado. La importancia de la lactulosa y la epilactosa radica en que ambos disacáridos poseen un alto valor prebiótico, puesto que, al ser fermentados por los microorganismos intestinales, generan ácidos grasos de cadena corta que promueven efectos benéficos en la salud humana. Además, favorecen la absorción de minerales y la disminución de niveles elevados de colesterol en el plasma sanguíneo (Nishimukai *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2008).

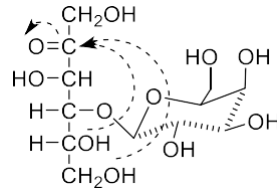
Aparte de su efecto prebiótico, la lactulosa se utiliza como indicador térmico en las leches HTST, UHTd, UHTi y en leche esterilizada, encontrándose una respectiva concentración de 15-80, 50-850, 190-830, y de 1080-1500 ppm (Sakkas *et al.*, 2014). Se trata de un compuesto termodinámica y cinéticamente estable que, sin embargo, no se detecta en sistemas como la leche cruda o la leche LTLT debido a su alta energía de activación ($E_a = 90.2 \text{ kJ/mol}$). Por otro lado, la lactulosa presenta una cinética de formación de pseudo-orden uno, puesto que el agua, *i.e.*, el otro reactivo que interviene en su producción está en exceso y no afecta la velocidad de enolización de la lactosa, un hecho que se traduce en el limitado rendimiento de lactulosa en los sistemas lácteos. Por su parte, la epilactosa representa sólo el 10% de los isómeros en las leches esterilizadas, por lo que no es un buen indicador de calentamiento excesivo en la mayoría de los tratamientos térmicos (Sakkas *et al.*, 2014). Por ejemplo, en estudios previos con leche pasteurizada, leche UHT, leche en polvo y leche esterilizada, se registró epilactosa en trazas (53-186 ppm) sólo en el último caso (Olano & Calvo, 1989).



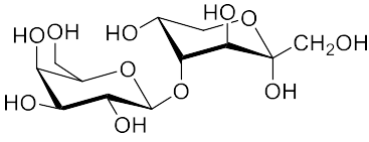
O-β-Galactopiranosil-β(1-4)-β-fructopiranososa



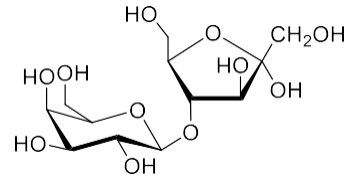
O-β-Galactopiranosil-β(1-4)-β-fructofuranosa



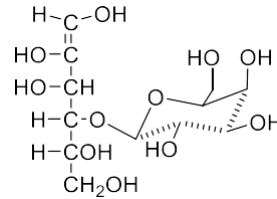
Lactulosa



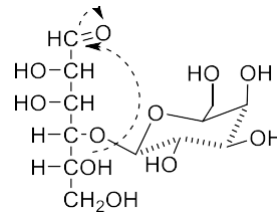
O-β-Galactopiranosil-β(1-4)-α-fructopiranososa



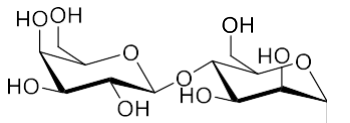
O-β-Galactopiranosil-β(1-4)-α-fructofuranosa



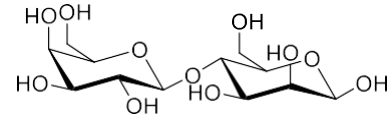
1,2-enodiol-galactosilado



Epilactosa



α-Epilactosa



β-Epilactosa

Figura 25. Enolización y mutarrotación de la lactulosa y la epilactosa: formas furanósicas y piranósicas. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.2.2. Reacciones de la lactulosa

De acuerdo con el modelo cinético de degradación térmica de la lactosa propuesto por Van Boekel (1998), además del equilibrio de enolización y mutarrotación, la lactulosa puede también sufrir fragmentación y, básicamente, producir a) galactosa + un compuesto "C6" o, bien, b) galactosa + un compuesto "C5" + HCOOH. En el primer caso, el compuesto "C6" puede ser fructosa o su epímero en C3, la psicosa, aunque esta última se formaría en concentraciones de traza en los productos lácteos. En el segundo caso, el compuesto "C5" puede ser 3-desoxipentosulosa (Troyano, Olano, Jimeno, Sanz & Martínez-Castro, 1992*b*), o una 2-desoxipentosa como la 2-desoxirribosa, a partir de la cual también puede formarse HCOOH y alcohol furfurílico (Berg, 1993). Dichas reacciones explican parcialmente la formación térmica de galactosa, fructosa, glucosa y tagatosa (Troyano, Olano, Fernández-Díaz, Sanz & Martínez-Castro, 1991; Van Boekel, 1998; Sánchez-Hernández, 2018). En general, esta última se produce en muy bajas concentraciones (Troyano, Martínez-Castro & Olano, 1992*a*) salvo en leche esterilizada a 120 °C en presencia de fructosa (Oshima, Kimura & Izumori, 2006).

Tomando en cuenta lo informado en la literatura para soluciones acuosas de lactosa tratadas en medio térmico-alcálico (Aider & De Halleux, 2007), la formación de lactulosa implica la generación del disacárido epilactosa, de los monosacáridos reductores galactosa y fructosa, y de algunos compuestos ácidos, lo que es consistente con las investigaciones de Van Boekel (1998). Asimismo, se generan productos del oscurecimiento no enzimático a partir de la degradación de los azúcares reductores formados. El descenso del pH puede a su vez acelerar la producción de galactosa y fructosa y, por ende, la de sus compuestos de degradación o, bien, promover la conversión reversible de lactulosa en lactosa mediante una enolización, a través del intermediario 1,2-enodiol-galactosilado.

Según lo observado por Van Boekel (1998), y Aider y De Halleux (2007), el orden de mayor a menor producción de azúcares reductores provenientes de la descomposición de la lactulosa es el siguiente: galactosa > fructosa > tagatosa. No obstante, la concentración de estos y otros productos dependerá de la temperatura y el pH, pues mientras más elevados sean, aumentará la reactividad de la lactulosa. En particular, el hecho de que la concentración de la galactosa formada a partir de lactulosa sea superior a aquella de la fructosa (Walstra *et al.*, 2006) y la tagatosa sugiere que la degradación del disacárido no involucra su hidrólisis, sino más bien la fragmentación del intermediario 2,3-enodiol-galactosilado (Figura 24), ya que un proceso hidrolítico generaría en principio cantidades equimolares de fructosa y galactosa. Igualmente, una baja concentración de fructosa puede deberse a su rápida descomposición. Por su parte, la tagatosa proviene de la enolización de galactosa, ya que son isómeros interconvertibles en medio básico. De esta manera, una ruta importante para la generación de galactosa, azúcares reductores y productos del oscurecimiento no enzimático durante el calentamiento de la leche es la degradación de lactosa vía lactulosa, fenómeno que se acentúa en procesos como la esterilización. En la Figura 26 se esquematiza la ruta de degradación térmico-alkalina de la lactulosa resumida en el presente trabajo de acuerdo con Berg (1993), Fox *et al.* (2015), Van Boekel (1998) y Aider & De Halleux (2007).

Como se ha revisado, un medio térmico-alkalino promueve la degradación de los disacáridos lactosa y lactulosa, así como la formación de distintos compuestos con impacto sensorial. Lo anterior implica que dichas reacciones se presenten en derivados lácteos donde se apliquen estas condiciones (pH alcalino y calentamiento), *e.g.*, dulce de leche y cajeta. Adicionalmente, la lactulosa puede también experimentar reacciones de Maillard y esterificación (Nooshkam *et al.*, 2018).

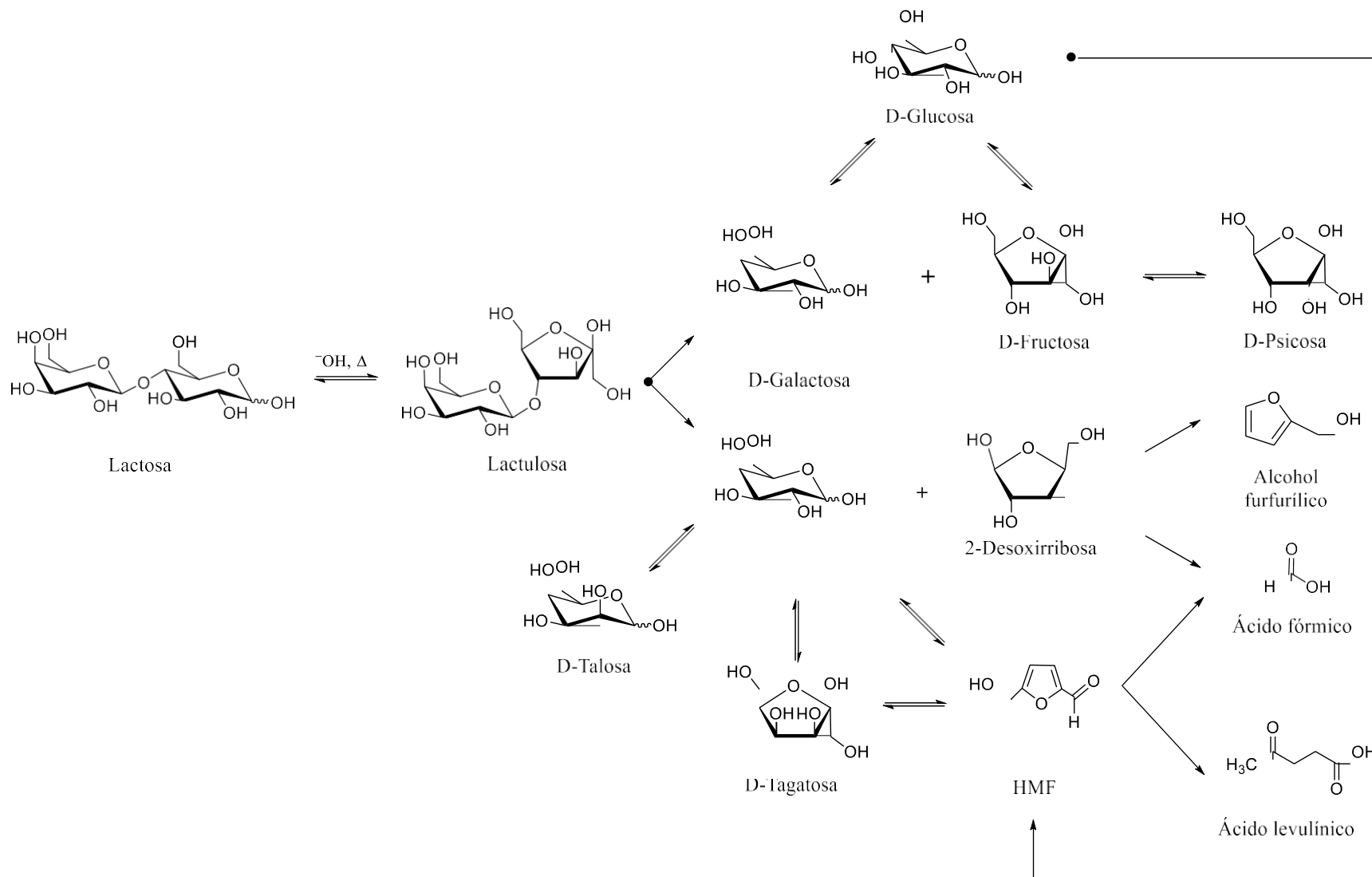


Figura 26. Ruta de la degradación térmica o térmico-alkalina de la lactulosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.3. Reacciones de Maillard durante el calentamiento de la leche

La Figura 27 muestra el esquema general de las reacciones de Maillard de la lactosa (Fox *et al.*, 2015), mismo que se adaptó para el presente trabajo. En primer lugar, se verifica una condensación entre el carbohidrato y el grupo ϵ -amino de la lisina, lo que genera el producto de Amadori conocido como lactulosa-lisina, un compuesto de estabilidad relativa correspondiente a la etapa inicial del oscurecimiento. En función de un procesamiento térmico posterior o de un calentamiento continuo, la lactulosa-lisina establece un equilibrio entre los intermediarios galactosilados 1,2- y 2,3-enaminol, los cuales representan las dos principales rutas de descomposición de la reacción de Maillard. Ambos enaminoles se transforman por deshidratación en intermediarios α -dicarbonílicos precursores de una amplia gama de compuestos de las etapas avanzadas de la reacción: ácidos carboxílicos, HMF y compuestos aromáticos volátiles como las pirazinas, el maltol e isomaltol, y moléculas de alta masa molar como las melanoidinas. En particular, el 1,2-enaminol se convierte en el 1,2-dicarbonilo denominado 3-DG, y el 2,3-enaminol en el 2,3-dicarbonilo conocido como 1-DG. La formación de ambos α -dicarbonilos se ve potenciada en productos como las leches deslactosadas, puesto que los monosacáridos remanentes de la hidrólisis de la lactosa, la glucosa y la galactosa, son más reactivos que el propio disacárido (Jansson *et al.*, 2014). La energía térmica y el almacenamiento aceleran la conversión de los α -dicarbonilos (Van Boekel, 1998; Hellwig *et al.*, 2010), que pueden a su vez establecer equilibrios enólicos e imínicos y rendir las respectivas 1-imino-3-desoxiosona y la 1-desoxiosona en forma enólica, y sufrir la posterior pérdida de galactosa. La producción de ácidos, HMF y compuestos aromáticos corresponde a la segunda etapa de las reacciones, mientras que la tercera fase se refiere a la formación de compuestos estables de alta masa molar.

Aunque las rutas de formación del 1,2- y 2,3-enaminol están favorecidas térmicamente, el pH es un factor que desplaza el equilibrio hacia un enaminol u otro. La producción de la 3-DG a través de la enolización 1,2 se promueve a valores de pH menores a 7, mientras que la 1-DG, formada mediante la enolización 2,3, se favorece tanto a pH neutro como a pH alcalino, por lo que esta vía es la más importante en la leche debido a su pH cuasi neutro (Van Boekel, 1998). No obstante, de acuerdo con los productos identificados, durante los tratamientos térmicos de la leche, ambas vías se presentan en proporción similar.

De acuerdo con la Figura 27, la deshidratación del 1,2-enaminol galactosilado produce la 1-imino-3-desoxiosona, y a partir de esta se forman los ácidos sacarínicos, fórmico y levulínico, galactosa, HMF y polímeros de éste. El HMF también puede formarse en las reacciones de Maillard o de descomposición ácido-térmica de la galactosa. En lo que concierne a la ruta del 2,3-enaminol-galactosilado, su desaminación produce la correspondiente 1-DG, y ésta genera furosina, piridosina, maltol, isomaltol-galactosilado, metilglioxal, diacetilo y ornitinoimidazolinona (OIZ). Una formación alternativa de maltol implica la deshidratación del isomaltol-galactosilado en condiciones ácido-térmicas (Ledl *et al.*, 1986). Posteriormente, la descomposición térmica del isomaltol-galactosilado genera isomaltol y galactosa, monosacárido reactivo que participa en subsiguientes reacciones.

En particular, la piridosina y la furosina son productos estables muy conocidos de la degradación del 2,3-enaminol de la lactosa. La furosina, al igual que la piridosina, se forma por hidrólisis ácida de la lactulosa-lisina, y es uno de los principales compuestos de la degradación de lactosa empleados como indicadores del daño térmico en la leche. Debido a la importancia de la furosina y la piridosina como marcadores térmicos, sus particularidades se detallarán en la subsección correspondiente.

Otro producto proveniente de la 1-DG es el metilglioxal (Figura 27), que se genera por la fragmentación entre los carbonos 3 y 4 de la misma. El piruvaldehído o metilglioxal es un α -dicarbonilo altamente reactivo implicado en las reacciones de entrecruzamiento de proteínas. Por ello, está asociado con la disminución del valor biológico y la pérdida de digestibilidad en la leche. Como α -dicarbonilo puede participar en la degradación de Strecker o, bien, reaccionar mediante nuevas condensaciones aldólicas y amínicas para formar compuestos que contribuyen al oscurecimiento no enzimático (Hellwig *et al.*, 2010; Nursten, 2011; Mehta & Deeth, 2016). Asimismo, puede reaccionar con residuos de L-Arginina (L-Arg) y dar origen a OIZ, un producto del entrecruzamiento de proteínas formado especialmente en alimentos que han recibido un tratamiento térmico-alcalino (Belitz *et al.*, 2009), así como en leche sometida a calentamiento (Ahmed *et al.*, 2005).

Por otro lado, el diacetilo, el maltol e isomaltol son compuestos que contribuyen al sabor y aroma de los alimentos (BeMiller & Huber, 2008) y, en este caso, de la leche y los lácteos. Asimismo, la Figura 27 indica la formación de CO_2 , aldehídos, dihidropirazinas y pirazinas por condensación de α -dicarbonilos provenientes de la reacción de la lactosa con α -aminoácidos libres. En específico, las pirazinas se generan por oxidación de las dihidropirazinas. Tanto los aldehídos como las pirazinas provenientes de la degradación de Strecker contribuyen al perfil aromático de los productos lácteos tratados térmicamente. Además, los aldehídos pueden participar en subsecuentes reacciones de Maillard, por ejemplo, en la generación de distintos heterociclos, polímeros y melanoidinas (BeMiller & Huber, 2008). Adicionalmente, la formación de melanoidinas también proviene de la degradación del 1,2-enaminol- galactosilado, y a partir de este tiene lugar la generación de polímeros deHMF (Wong, 2018).

Las melanoidinas y pirazinas son los principales compuestos nitrogenados de las reacciones de Maillard (Cortés-Yáñez *et al.*, 2018). Mientras que las primeras destacan por su contribución al color, las pirazinas son notables por sus propiedades sensoriales. Entre los sabores y aromas que pueden aportar se encuentran notas terrosas, amargas, aromas a quemado, olores a solvente, a dulce, malta, pan, caramelo, café y alimentos rostizados (Stojanovska *et al.*, 2017), lo que dependerá de los distintos sustituyentes de dichos heterociclos (Belitz *et al.*, 2009).

De acuerdo con el esquema de la Figura 27, los ácidos sacarínicos, fórmico y levulínico se producen a través de la galactosa, monosacárido que proviene de la fisión de lactosa inducida por la reacción de Maillard. En específico, un intermediario que lleva a la producción del ácido metasacarínico genera 2-desoxipentosa y, nuevamente, ácido fórmico. Igualmente, este ácido puede producirse a partir de HMF. Por su parte, las pentosas se forman en concentraciones micromolares (μM) en leche tratada térmicamente y aportan sabores intensamente amargos al producto final (Moreno, Villamiel & Olano, 2003).

En particular, el HMF es un precursor de color que se emplea como indicador de la degradación térmica de carbohidratos en los alimentos (Belitz *et al.*, 2009). Por su parte, los ácidos fórmico y levulínico se forman por hidrólisis del HMF, reacción que se favorece a altas temperaturas, e.g., aquellas involucradas en la elaboración de leche UHT y leches concentradas. Además de sus propiedades aromáticas y gusto ácido, ambos carboxilos disminuyen el pH de la leche durante los tratamientos térmicos y, por otra parte, el ácido fórmico es un conocido prebiótico (Walstra *et al.*, 2006), como se detallará en la subsección 5.3.2. Asimismo, estos ácidos pueden emplearse como indicadores de la intensidad térmica en la leche UHT y leches concentradas.

5.3.1. Reactividad de la lactosa

La parte más reactiva de la lactosa y, por lo tanto, la que participa en el oscurecimiento de Maillard, y en las reacciones térmicas en general, es el residuo de glucosa (glucosilo) del disacárido, debido a que presenta un C hemiacetálico con propiedades reductoras. No obstante, varios compuestos e intermediarios de la degradación de este azúcar, como el isomaltol-galactosilado y la 1-desoxiosona en forma enólica conservan el grupo galactosilo no reductor. La permanencia de este residuo en los productos lácteos les confiere una mayor capacidad de retención de agua (CRA), favorece la complejación de metales, conserva una fracción del aporte calórico y, en el aspecto sensorial, ralentiza el oscurecimiento no enzimático y la aparición de sabores amargos (Moreno, Villamiel & Olano, 2003). Sin embargo, como se presenta en la Figura 27, en las etapas avanzadas de las reacciones de Maillard el residuo de galactosa se puede liberar, proceso conocido como desgalactosilación, aumentando con ello la reactividad del sistema lácteo, ya que disminuye el impedimento estérico de las moléculas de disacárido o de los intermediarios con enlaces β -galactosídicos, y la galactosa recupera su condición de carbohidrato reductor y, con ello, su potencial reactivo. En ese sentido, los azúcares reductores estructuralmente más simples reaccionan más rápidamente que los oligosacáridos, como es el caso de la lactosa, y lo mismo aplica para la reacción con los grupos amino (Wong, 2018).

De acuerdo con lo anterior, la descomposición progresiva de la lactosa, en la que se genera una amplia gama de intermediarios reactivos, está influenciada por la temperatura elevada. Asimismo, influye el tiempo de exposición y la identidad de los aminoácidos participantes, factores que impactan en el perfil químico de los productos lácteos. Y, como se ha señalado antes, entre los aminoácidos más reactivos en los sistemas lácteos se encuentran la lisina y la arginina (Stojanovska *et al.*, 2017).

5.3.2. HMF y productos ácidos

Además de producirse en las reacciones de Maillard, el HMF y los ácidos fórmico y levulínico se generan en la degradación térmica de azúcares reductores catalizada por ácidos débiles. En el caso de la leche, el ácido cítrico nativo puede acelerar ambos tipos de reacciones y, como se ha indicado, los azúcares participantes no se limitan sólo a lactosa, sino también a la galactosa que se llega a liberar durante la degradación de Maillard y, en el caso de las leches deslactosadas, la reactividad puede deberse a la presencia de galactosa y glucosa.

En particular, el HMF proviene de la ciclo-deshidratación de hexosas vía una 1,2-enolización. Posteriormente, dicho furanoide se hidroliza para rendir los ácidos levulínico y fórmico. Por su parte, los ácidos sacarínicos son productos conocidos en la degradación básica de azúcares (Wong, 2018), no obstante, también se producen en leche calentada (Van Boekel, 1998), puesto que bases débiles como el agua pueden coadyuvar al proceso. No obstante, en la leche tratada térmicamente el ácido orgánico mayoritario es el fórmico, y es el principal responsable de su acidificación. Al respecto, varios estudios han demostrado que las bacterias lácticas crecen mejor en leche esterilizada en autoclave que en leche calentada de 80 a 90 °C debido a la formación de sustancias provenientes de la degradación térmica de lactosa, tales como el ácido fórmico (Nishimura *et al.*, 2013; Walstra *et al.*, 2006).

Por otro lado, la producción de ácido fórmico vía la reacción de Maillard se favorece sin embargo hasta cierto límite, puesto que la acumulación de compuestos carboxílicos puede reducir la velocidad de la condensación amino-carbonilo, y de las distintas etapas del oscurecimiento y, por lo tanto, desacelerar la transición del producto de Amadori a HMF, galactosa y ácidos. Asimismo, la formación de melanoidinas puede ralentizarse.

Aparte del HMF y los ácidos mencionados, furanoides como el furfural, la furilmetilcetona y el 5-metilfurfural se producen durante las etapas avanzadas de la reacción de Maillard y son al mismo tiempo intermediarios en la formación de melanoidinas (Ferrer, Alegría, Courtois & Farré, 2000; Morales & Jiménez, 2001). Igualmente, su producción es posible por degradación ácido-térmica. La Figura 28 resume la formación de estos compuestos.

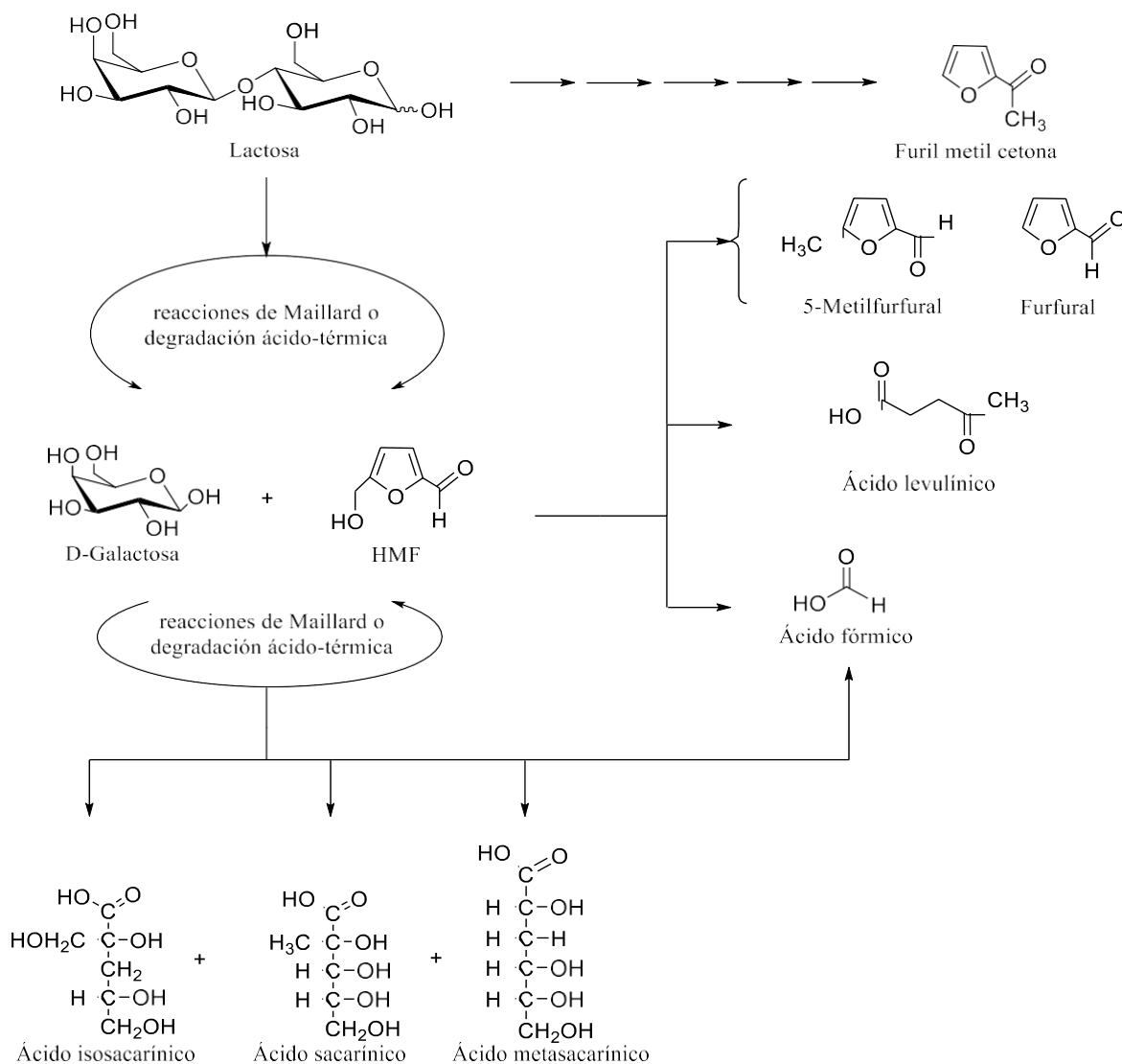


Figura 28. Formación de furanoides y ácidos por dos distintas vías de degradación térmica de la lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.3.3. Productos con propiedades antioxidantes

A medida que aumenta la temperatura de procesamiento en los sistemas lácteos se detecta una mayor capacidad antioxidante. Este fenómeno se explica por la formación gradual de compuestos con propiedades reductoras en las etapas iniciales y avanzadas del oscurecimiento no enzimático. De esta forma, conforme avanza la reacción, la actividad antioxidante se incrementa de tres a cinco veces y, de manera simultánea, la paulatina pérdida de lisina (Cortés-Yáñez *et al.*, 2018).

Entre los intermediarios con propiedades antioxidantes formados durante las reacciones térmicas en la leche, particularmente a través del oscurecimiento de Maillard, se encuentran las reductonas y las aminorreductonas (Ledl, 1984; Pischetsrieder, Schoetter & Severin, 1998; Trang, Shimamura, Kashiwagi, Ukeda & Katsuno, 2011; Stojanovska *et al.*, 2017). Al igual que las reductonas, sus productos de oxidación, las dehidrorreductonas, también registran actividad antioxidante. Ambas son especies carbonílicas formadas principalmente a partir de las 1-desoxiosonas (2,3-dicarbonilos), no obstante, pueden igualmente provenir de las 3-desoxiosonas (1,2-dicarbonilos). La degradación de estos intermediarios genera compuestos como el maltol e isomaltol, con ligeras propiedades antioxidantes debido a su capacidad quelante. En la Figura 29 se esquematiza la formación de reductonas y dehidrorreductonas que se propuso en el presente trabajo para la etapa avanzada de la reacción de Maillard (BeMiller & Huber, 2008; Kanzler, Haase & Kroh, 2014; Kanzler, Haase, Schestkova & Kroh, 2016). Por su parte, las aminorreductonas son estructuras carbonílicas análogas a las reductonas que, como su nombre lo indica, contienen grupos amino, mismos que se encuentran frecuentemente enlazados a proteínas (Pischetsrieder *et al.*, 1998; Trang *et al.*, 2011). En la Figura 30 se muestra un esquema de su producción a partir de la lactosa y caseína.

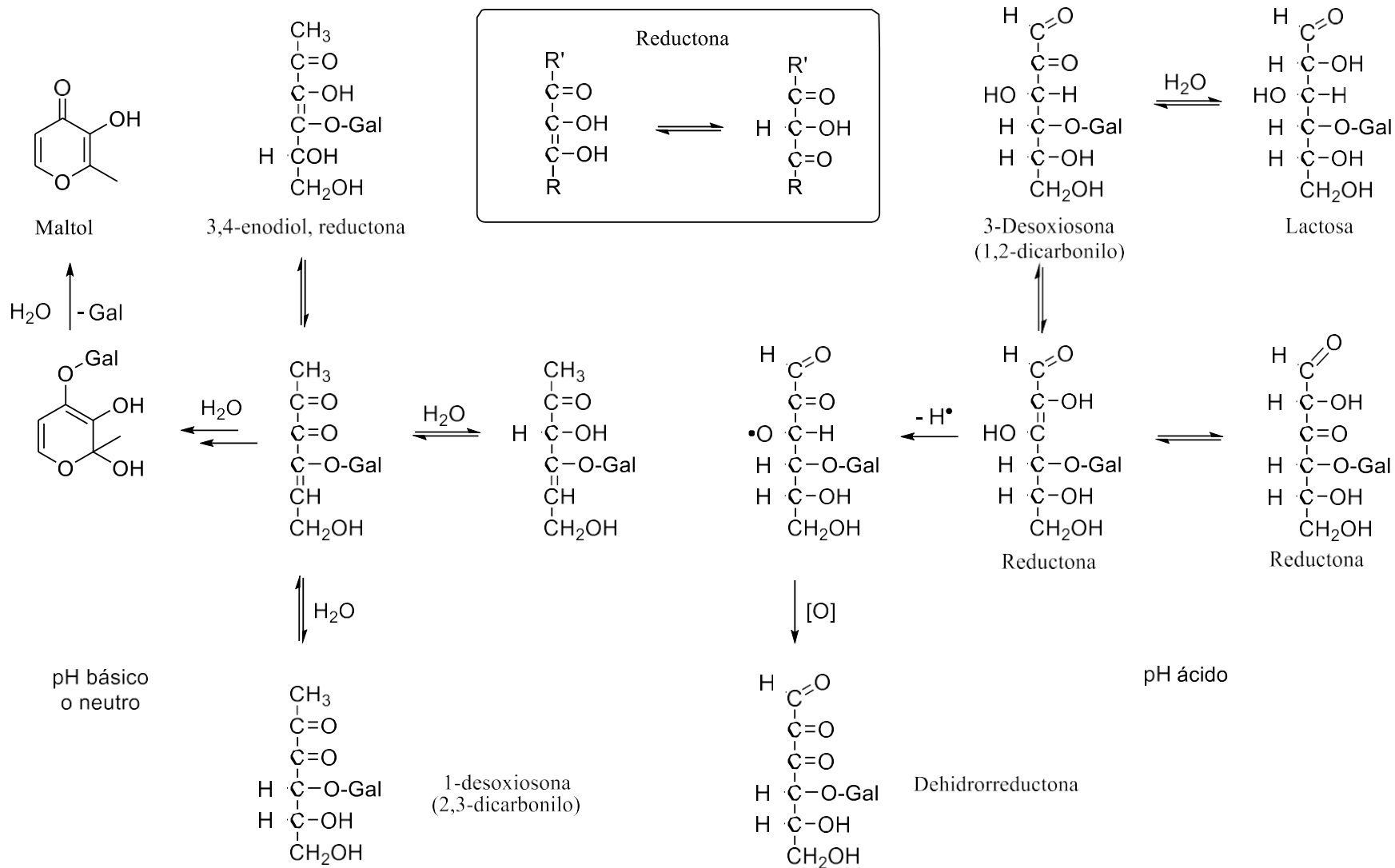


Figura 29. Propuesta de formación de reductonas y dehidrorreductonas en la reacción de Maillard en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo.

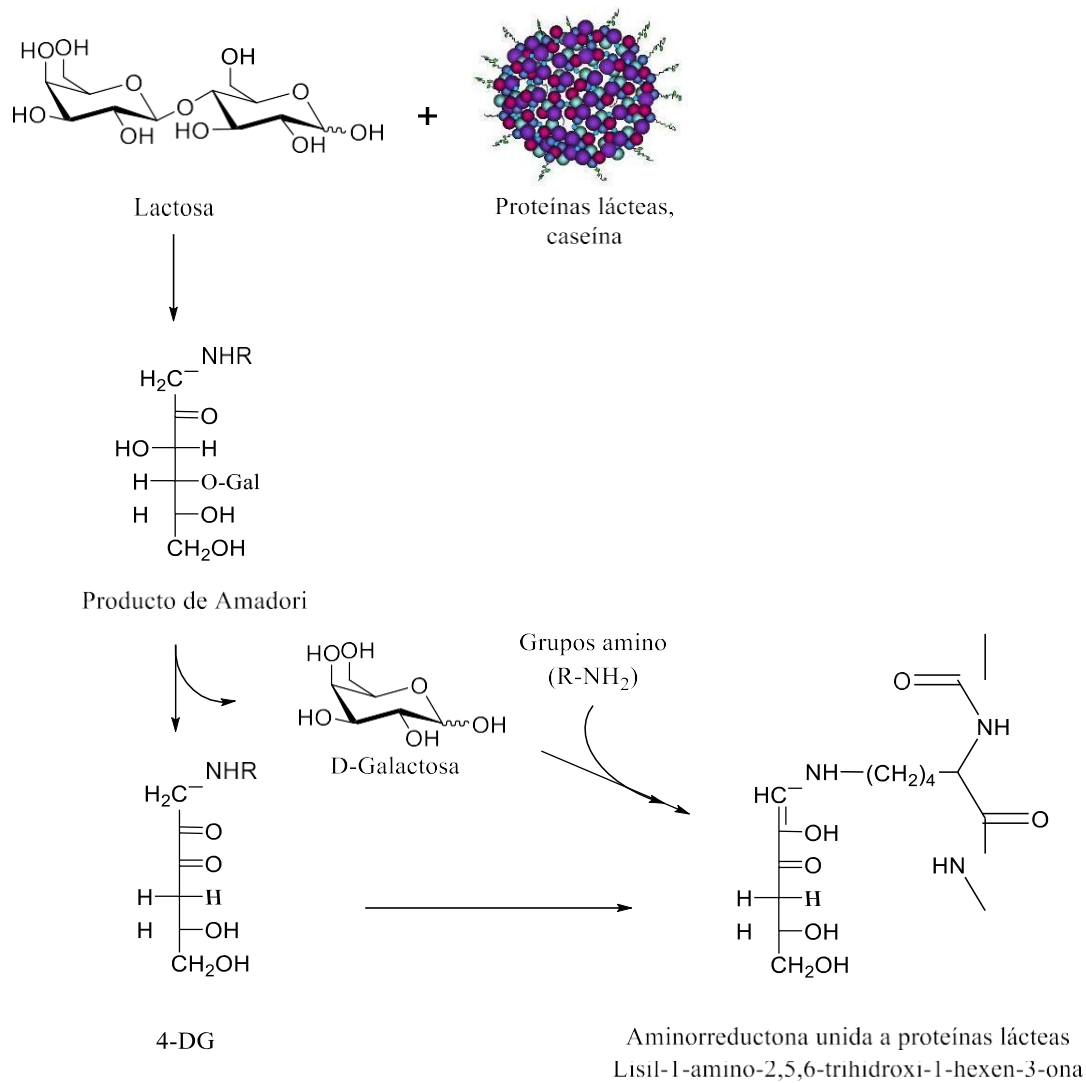


Figura 30. Formación de aminorreductonas en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo.

De acuerdo con la Figura 30, las aminorreductonas pueden derivar del producto de Amadori de la lactosa a partir del intermediario 4-DG. Estos compuestos no sólo muestran actividad antioxidante, por ejemplo, protegiendo a la vitamina B₂ de la fotodegradación, sino también propiedades antimicrobianas contra bacterias como *Helicobacter pylori*. Tal es el caso de la aminoreductona lisil-1-amino-2,5,6-trihidroxi-1-hexen-3-ona ligada a proteínas a través de residuos de lisina (Shimamura, Kurogi, Katsuno, Kashiwagi & Ukeda, 2011; Trang *et al.*, 2011) que, precisamente, se indica en la Fig. 30.

5.3.4. Melanoidinas en los sistemas lácteos

En el esquema de la Figura 27 se indica que las melanoidinas pueden provenir tanto del 1,2-enaminol como del 2,3-enaminol de la lactosa. En particular, se muestran dos estructuras poliméricas correspondientes a la etapa final de las reacciones de Maillard, *i.e.*, la producción de melanoidinas, una formada por la condensación de HMF, y otra proveniente de la unión de anillos pirrólicos.

Otros productos de la etapa de oscurecimiento de Maillard son las proteínas glicosiladas que se forman cuando los grupos laterales de los residuos de lisina y arginina -principalmente- reaccionan con compuestos carbonílicos, furfurales o pirroles (BeMiller & Huber, 2008).

Los productos lácteos con mayor concentración de melanoidinas son las leches concentradas, la cajeta y el dulce de leche. Esta característica tiene relación con una menor disponibilidad de lisina en estos sistemas en comparación con la leche UHT (Rutherford & Moughan, 2005). En el caso del dulce de leche, la mayoría de los productos de Maillard relacionados con su coloración están ligados a proteínas (98.5%), y sólo una cantidad residual está presente en forma libre (1.5%). Las melanoidinas del dulce de leche forman melanoproteínas de alta masa molar (≤ 14.3 kDa), y aquellas que se liberan en la digestión enzimática de dichas melanoproteínas presentan una masa molar entre 0.4 y 1.8 kDa. La detección de las melanoidinas se realiza a 420 nm, donde los agregados con mayor masa molar contribuyen más al color, y su concentración es proporcional al aumento de la coloración del producto lácteo (Rodríguez *et al.*, 2019). En el caso de las leches deslactosadas, el perfil de melanoidinas puede modificarse ligeramente y afectar no sólo atributos como el color, sino también la textura del dulce de leche (Giménez, Ares, Gámbaro, 2008b).

5.3.5. Afectación de aminoácidos y glicosilación de proteínas lácteas

El aminoácido más afectado en el tratamiento térmico de la leche es la lisina, ya que la reactividad de su grupo ϵ -amino le permite participar tanto en la reacción de Maillard como en degradaciones alternativas. Por ejemplo, en sistemas acuosos (pH 6.8) de lactosa (150 mM) y caseinato de sodio (3%) calentados a 120 °C por 60 min, Walstra *et al.* (2006) observaron una disminución de lisina no proporcional a la formación de melanoidinas. Una razón es la descomposición del aminoácido a través del entrecruzamiento de proteínas. En el caso de la leche en polvo y la leche condensada azucarada, la concentración de lisina residual es semejante a aquella de la leche fluida no procesada; sin embargo, los valores de absorbancia a longitudes de onda de 294 y 420 nm obtenidos para el producto en polvo indican el respectivo progreso de las etapas avanzadas y finales de la reacción. Por su parte, el dulce de leche presenta el mayor valor de absorbancia a esas longitudes de onda, así como un bajo contenido de lisina, lo que confirma el desarrollo de las etapas finales de la reacción de Maillard en ese producto (Cortés-Yáñez *et al.*, 2018).

La reacción de Maillard o glicosilación de proteínas se asume como un proceso inespecífico con grados de modificación que dependen de la a_w , y de la concentración de azúcares y proteínas; sin embargo, cada aminoácido o sitio de glicosilación en una proteína se ve afectado de forma específica durante los procesos térmicos. Por otro lado, la lactosilación reduce el poder alergénico de la β -lactoglobulina, la α -lactoalbúmina y las caseínas (Calvo & Olano, 1989; Moreaux & Birlouez-Aragon, 1997; Milkovska-Stamenova & Hoffmann, 2016).

Respecto a la glicosilación de proteínas lácteas, Meltretter, Wüst y Pischetsrieder (2014) han identificado 124 sitios de lactosilación en 28 diferentes proteínas, incluyendo fracciones como la albúmina sérica, la lactoferrina, y enzimas como la lactoperoxidasa, la superóxido-dismutasa y la xantina-oxidasa, esta última presente en la MFGM. La mayor parte de los sitios se ubican en las proteínas del suero debido a su carácter polar y alta termosensibilidad, resultando en una mayor exposición de sitios reactivos y una mayor desnaturalización. En la β -lactoglobulina, 13 de los 15 residuos de lisina pueden sufrir lactosilación, seguida por la α -lactoalbúmina, en la que nueve de los 12 residuos de lisina se ven afectados, y las caseínas, donde la κ -caseína puede presentar entre seis y nueve lactosilaciones. Respecto a las otras caseínas, el grado de lactosilación aumenta al disminuir su lipofilidad, lo que significa que el orden de mayor a menor afectación es $\alpha_2 > \alpha_1 > \beta$. (Milkovska-Stamenova & Hoffmann, 2016). No obstante, a pesar del reducido acceso de la lactosa a los sitios apolares, en todos los casos se confirma una destrucción parcial de la estructura micelar (Milkovska-Stamenova & Hoffmann, 2016). Por su parte, Zhao *et al.* (2018) verificaron que la β -caseína resulta menos afectada que la β -lactoglobulina y la seroalbúmina.

Cabe mencionar que el número real de proteínas glicosiladas en la leche puede ser incluso más alto que el referido, ya que la lactosilación sólo constituye un tipo de modificación térmica, mientras que la glicosilación de glucosa y galactosa, presentes en leches deslactosadas, formarían los respectivos derivados fructosil-lisina y tagatosil-lisina (Meltretter *et al.*, 2014; Mehta & Deeth, 2016; Milkovska-Stamenova & Hoffmann, 2016).

El tipo de tratamiento térmico influye directamente en el grado de lactosilación de proteínas, representando de 70 a 80 sitios de reacción en la leche pasteurizada, de 120 a 170 en la leche UHT, y de 160-190 en las leches en polvo (Milkovska-Stamenova & Hoffmann, 2016).

5.4. Principales indicadores térmicos en leche y productos lácteos

Existe una amplia variedad de compuestos que se utilizan como indicadores de la intensidad de los tratamientos térmicos en la leche. Como se ha señalado, la importancia de los indicadores térmicos radica en la fiabilidad para determinar la calidad nutricional y la eficiencia de los procesamientos.

Entre los indicadores térmicos empleados más frecuentemente destaca el HMF, la furosina y la lactulosa (Figura 31), debido a que, de acuerdo con la Tabla 7, son compuestos comunes en una gran diversidad de productos lácteos. Otro indicador utilizado de manera habitual es la lactulosa-lisina, cuya hidrólisis ácida rinde, precisamente, furosina.

El HMF y la furosina son furanoides que provienen de la reacción de Maillard, aunque, como se ha comentado, el HMF puede igualmente generarse por degradación ácido-térmica de la lactosa, mientras que la lactulosa es un producto de interconversión de aldosas a cetosas mediante el equilibrio de enolización de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein de la lactosa. De acuerdo con los estudios de cinética química de Claeys, Ludikhuyze y Hendrickx (2001), el HMF, la furosina y la lactulosa presentan las respectivas energías de activación de 90.2, 88.7 y 99.1 kJ/mol a 110 °C. Dichos resultados revelan que la formación de furosina o, más bien, de su precursor lactulosa-lisina es más favorable que la producción de HMF y lactulosa. En otras palabras, a 110 °C las reacciones de Maillard se ven más favorecidas que la enolización de la lactosa.

En la Figura 31 se muestran los principales compuestos empleados como indicadores térmicos en el análisis de productos lácteos (Van Boekel, 1998). Posteriormente, en la sección "Recapitulación final", se resume la información que proporciona cada indicador sobre el daño térmico en la leche.

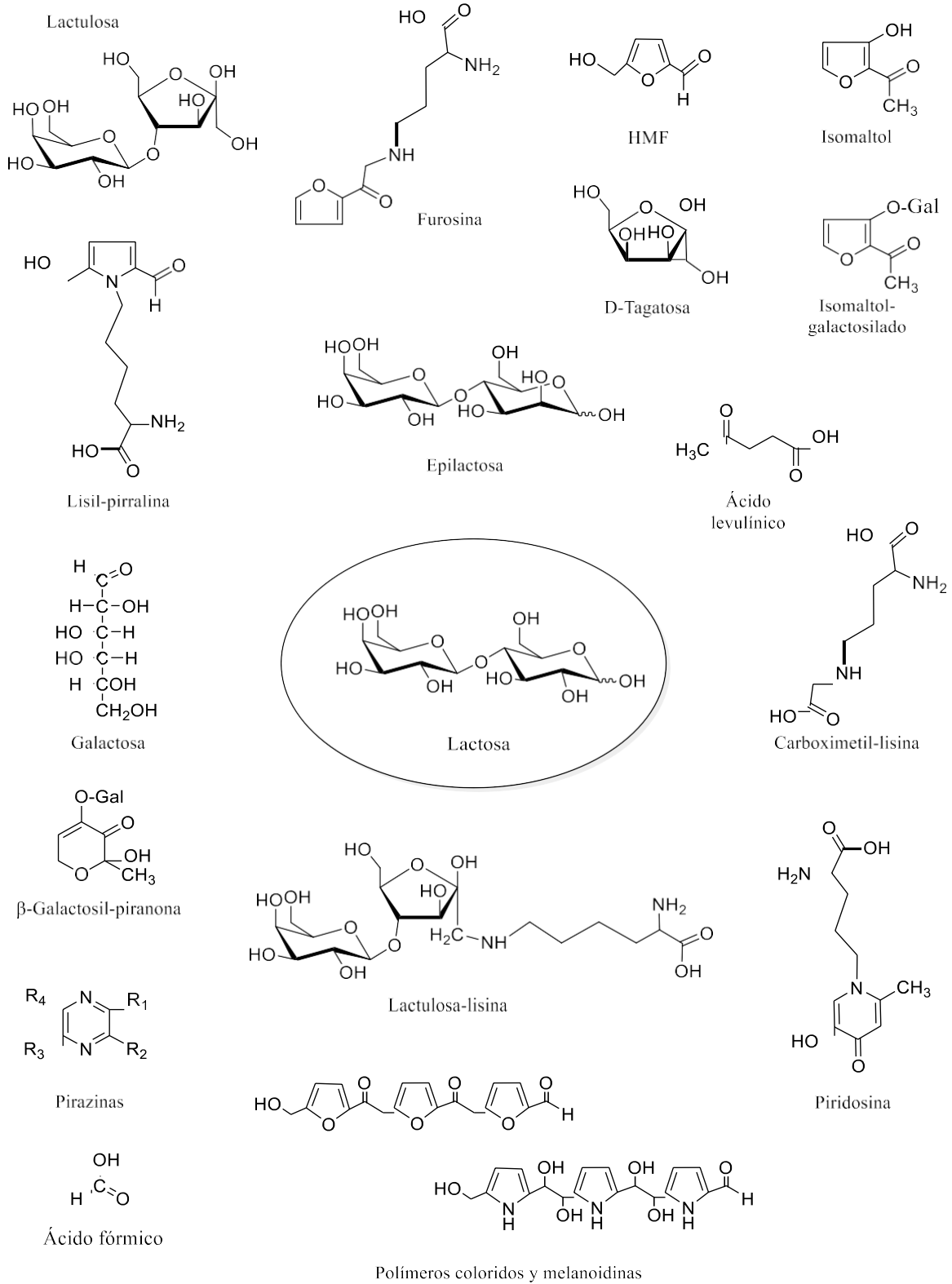


Figura 31. Indicadores térmicos más comunes empleados en sistemas lácteos. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.4.1. Lactulosa Lisina

La formación de lactulosa-lisina se muestra en la Figura 32. De acuerdo con ésta, la reacción de Maillard entre la lactosa y la lisina inicia con la condensación entre el grupo ϵ -NH₂ del aminoácido y el carbonilo libre del disacárido en su extremo reductor. Posteriormente, se forma una base de Schiff que, a su vez, se transforma en lactulosa-lisina aún enlazada a proteínas, misma que puede liberarse por hidrólisis. La formación de lactulosa-lisina implica una disminución en la concentración disponible de lisina, así como en la digestibilidad de las proteínas lácteas, principalmente de las caseínas (Van Boekel, 1998; Mehta & Deeth, 2016).

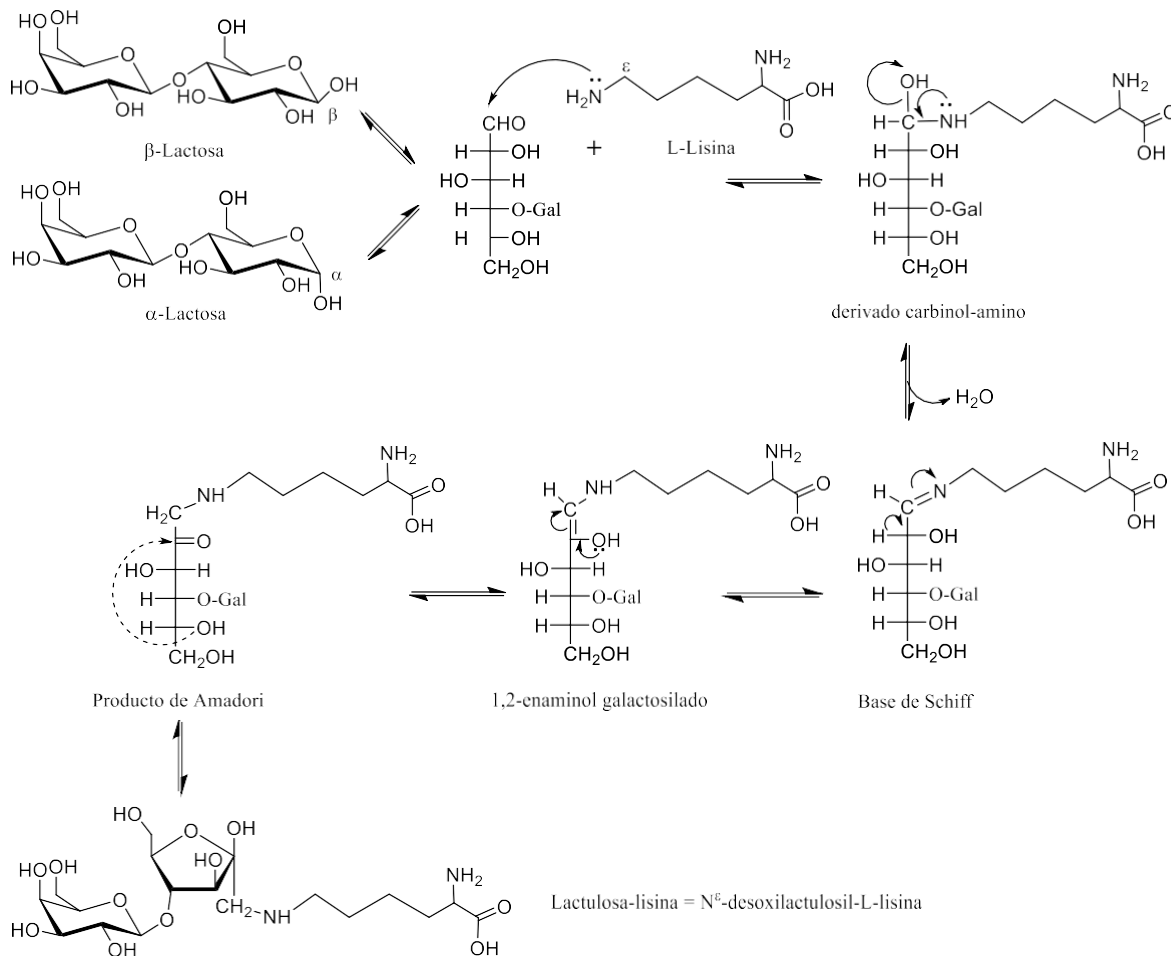


Figura 32. Formación de lactulosa-lisina a partir de lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.4.2. Furosina y piridosina

La lactulosa-lisina puede convertirse en furosina ligada a proteínas vía el intermediario dicarbonílico 4-DG que se genera por desgalactosilación de la lactulosa-lisina; posteriormente, la 4-DG se deshidrata para formar furosina. Lo anterior corresponde con lo expuesto por Belitz *et al.* (2009), y se representa en la Figura 33.

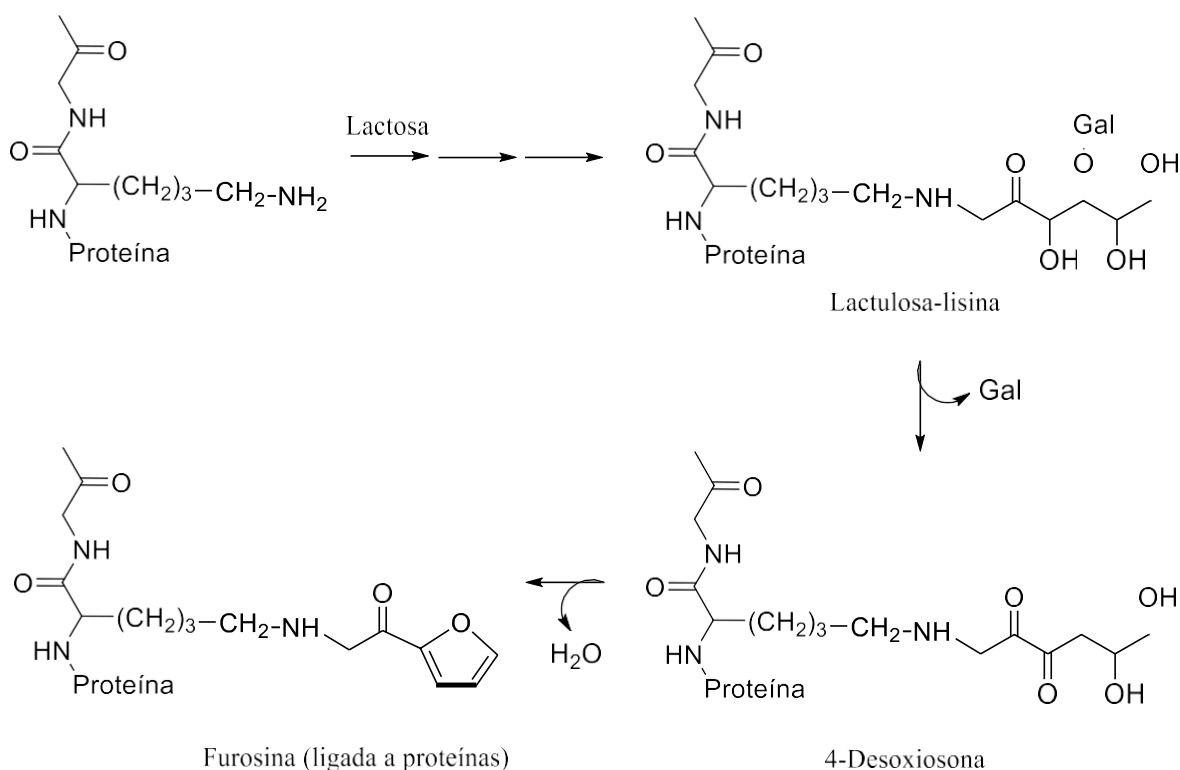


Figura 33. Formación de furosina ligada a proteínas a partir de lactosa. Belitz *et al.* (2009).

El análisis de furosina comprende una etapa de hidrólisis ácida y la identificación de los aminoácidos de las proteínas lácteas. El rendimiento hidrolítico alcanza un 40% de lisina no enlazada, 32% de furosina y \approx 14.4% del indicador térmico piridosina (Nursten, 2011). Por otro lado, la oxidación química de furosina da lugar a carboximetil-lisina (CML), que es un importante marcador térmico de la leche y los productos lácteos (Belitz *et al.*, 2009). Lo mencionado se esquematiza en la Figura 34.

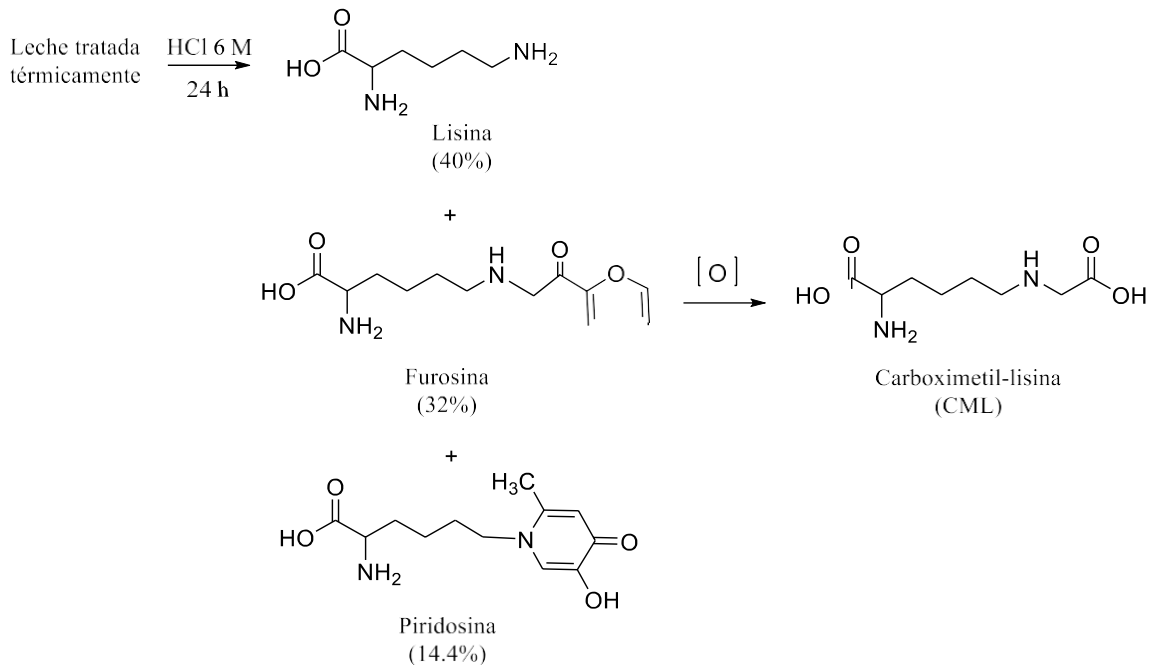


Figura 34. Productos de hidrólisis de las proteínas en un sistema lácteo tratado térmicamente. Nursten (2011).

La concentración de furosina puede emplearse como un indicador de la carga de calor aplicada a la leche líquida, ya que permite la discriminación entre tratamientos térmicos como la pasteurización y el procesamiento UHT (Schmidt, Boitz & Mayer, 2017). Para facilitar la comparación de resultados, la concentración de furosina en alimentos se expresa como mg de furosina/100 g de proteína. Respecto a su presencia en leche fluida procesada, el contenido respectivo de furosina en leches LTLT, UHTd, UHTi y leche esterilizada es 4-14, 6-485, 40-430, y 250-440 mg/100 g proteína (Sakkas *et al.*, 2014). Por su parte, Belitz *et al.* (2009) indicaron 500-1800 mg furosina/kg de proteína para leche UHT, y Delgado, Corzo, Santa-María, Jimeno y Olano (1992) señalaron una concentración de 30.21-39.44 mg furosina/L para dicho producto. Ambos intervalos corresponden, de manera respectiva, a 50-180 y 91.5-119.5 mg/100 g de proteína. Finalmente, esos datos que coinciden en orden de magnitud con los señalados por Sakkas *et al.* (2014) para leche UHT (UHTd y UHTi).

Cabe mencionar que la diferencia en el contenido de furosina entre la leche UHTi y la leche UHTd se debe a que la transferencia de calor en este último se realiza de manera prácticamente inmediata con respecto al método UHTi, en el que se presenta un mayor deterioro térmico debido a que requiere mayor tiempo de exposición, dependiendo además de la eficiencia de los intercambiadores. Al mismo tiempo, la condensación del vapor en el método UHTd disminuye la concentración de los compuestos finales. En general, para el proceso UHT se considera un exceso de calentamiento si los niveles de furosina superan los 50 mg/L de leche (1.67 g/100 g proteína) (Hewedy, Kiesner, Meissner, Hartkopf & Erbersdobler, 1994; Elliott, Datta, Amenu & Deeth, 2005).

Al igual que en el caso de la furosina, la piridosina proviene del 2,3-enaminol-galactosilado (Figura 27), y en particular de la 4-DG. Así, se trata de una estructura derivada de las aminorreductonas (Sakkas *et al.*, 2014). No obstante, su formación se da a temperaturas y valores de pH mayores que los necesarios para la producción de furosina. En ese sentido, los trabajos de Erbersdobler, Dehn, Nangpal y Reuter (1987), y Nursten (2011) expresaron una relación furosina/piridosina de 1:0.36 para la leche UHT. Por esa razón, para leche UHT o para leches con tratamiento moderado la piridosina es un indicador térmico poco utilizado, empero, su uso puede resultar ventajoso en productos como la cajeta y el dulce de leche, cuya fabricación involucra un incremento del pH de la materia prima.

Por su parte, el HMF correlaciona bien ($r=0.96$) con la furosina cuantificada en leche UHT obtenida en planta piloto, aunque no necesariamente con leche UHT comercial ($r=0.85$) (Nursten, 2011). La correlación positiva puede explicarse si se considera que las energías de activación para la formación de ambos compuestos son muy similares ($E_a \approx 90$ kJ/mol).

5.4.3 Carboximetil-lisina, lisil-pirralina e isomaltol-galactosilado

Otro indicador térmico de importancia en los sistemas lácteos es la carboximetil-lisina (CML), aminoácido no nativo que se forma durante el análisis químico por oxidación de la furosina, como se indica en la Figura 34, o, bien, por fragmentación básica de intermediarios β -dicarbonílicos generados en la deshidratación del producto de Amadori, en este caso la lactulosa-lisina, como lo muestra la Figura 35. Otra importante vía de formación de CML en la leche y los productos lácteos puede ser la reacción de glioxal, producto proveniente de la autooxidación de lípidos poliinsaturados de la leche, con el grupo ϵ -amino de la lisina (Belitz *et al.*, 2009).

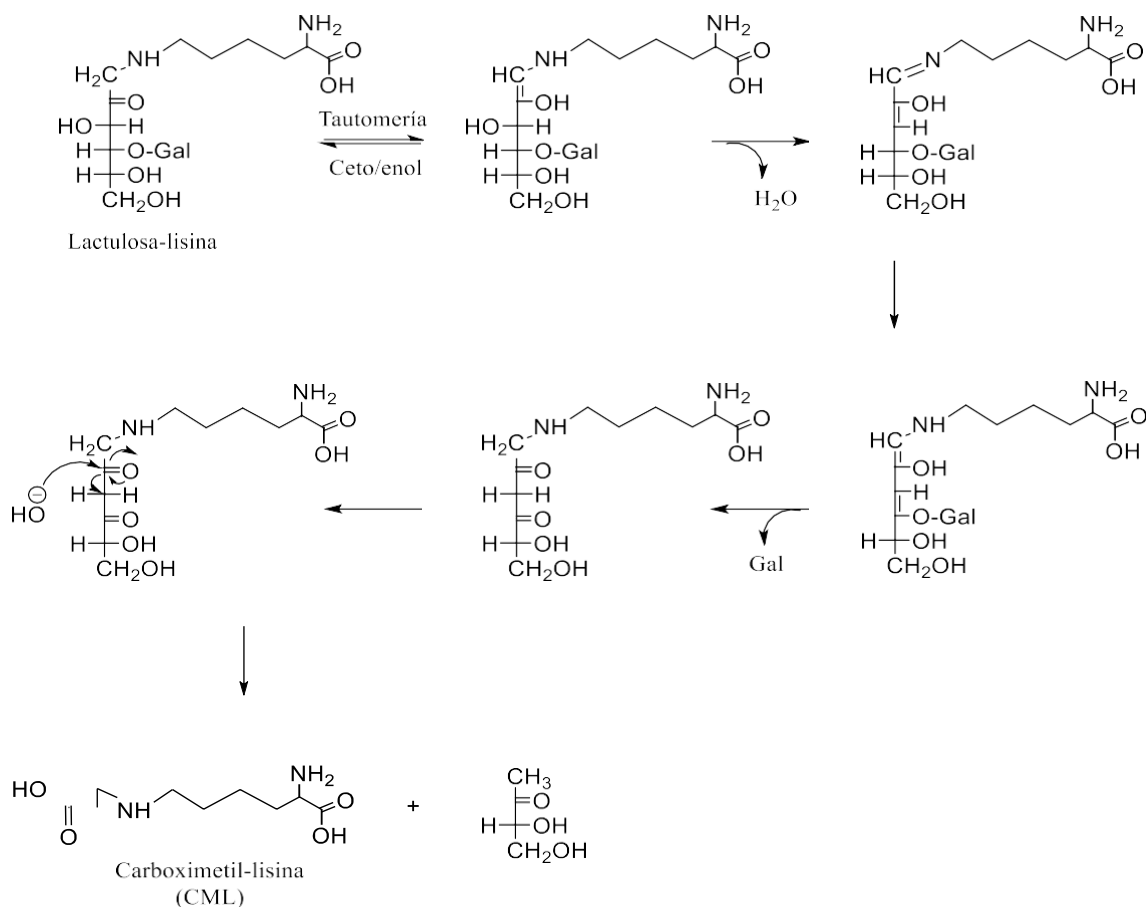


Figura 35. Formación de carboximetil-lisina (CML). Esquema adaptado de Belitz *et al.* (2009).

La CML se emplea frecuentemente como marcador de la glicosilación de proteínas en la etapa final de las reacciones de Maillard, y se utiliza para estimar el contenido del producto de Amadori y, por lo tanto, del deterioro térmico de lisina. La determinación consiste en oxidar de dicho producto para generar CML, la cual, después de una hidrólisis ácida de proteínas, se analiza por HPLC (Van Boekel, 1998; Meyer, Al-Diab, Vollmer, & Pischetsrieder, 2011; Mehta & Deeth, 2016; Prosser, Carpenter & Hodgkinson, 2019). La CML se encuentra en concentraciones micromolares en leche tratada térmicamente y, de manera particular, se emplea en la evaluación de leches UHT, evaporada y esterilizada. Por otro lado, la CML no ha sido detectada en leche cruda ni en leche pasteurizada (Meltretter *et al.*, 2014).

Por su parte, el derivado de lisil-pirralina se produce mediante la vía del α -dicarbonilo denominado 3-DG (Figura 27), y se encuentra en alimentos ricos en proteína y en productos lácteos que conllevan tratamientos térmicos drásticos, como la leche UHT, la leche esterilizada y la leche condensada. La lisil-pirralina es un precursor de color que sirve como índice de la etapa avanzada de la reacción de Maillard, mismo que se forma en concentraciones micromolares (Van Boekel, 1998; Morales & Arnoldi, 1999).

Indicadores como la 1-[3-(β -D-galactopiranosiloxi)-2-furanil]-1-etanona, mejor conocida como isomaltol-galactosilado (Figura 27), no se detectan en la leche LTLT, sino en tratamientos térmicos más intensos, pues así lo refleja el estudio de un sistema de pH 6.65 con caseinato de sodio y lactosa tratado tanto a 110 como a 120 °C por 30 min (Morales & Arnoldi, 1999), donde los resultados mostraron que la formación de isomaltol-galactosilado depende fuertemente de la temperatura, pues la mayor concentración del compuesto se encontró a 120 °C.

5.5. Principales compuestos de degradación térmica de la lactosa La Tabla 7 recopila los resultados de diferentes investigaciones (Olano *et al.*, 1989; Troyano *et al.*, 1991; Van Boekel, 1998; Morales & Arnoldi, 1999; Pellegrino & Cattaneo, 2001; Sakkas *et al.*, 2014; Mehta & Deeth, 2016; Stojanovska *et al.*, 2017), y registra 16 de los principales compuestos provenientes de la degradación térmica de la lactosa indicando su presencia en los productos lácteos estudiados. La lista incluye el HMF, los ácidos fórmico y levulínico, el isomaltol e isomaltol-galactosilado, la β -galactosil-piranona, la galactosa, la epilactosa, la tagatosa, la lactulosa y la lactulosa-lisina, la lisil-pirralina, la furosina, la CML, la piridosina y las pirazinas. Todos ellos tienen utilidad como marcadores térmicos y, por esa razón, en este resumen se hablará tanto de compuestos de degradación como de indicadores térmicos.

Cabe mencionar que no todos los marcadores se indican en la literatura para la totalidad de los productos lácteos. Una posible razón es su escasa producción o, bien, su descomposición debido a su inestabilidad y alta reactividad química, como se detallará más adelante. Lo anterior puede explicar, la ausencia de azúcares como la galactosa, epilactosa y tagatosa en ciertos productos lácteos.

Entre los 16 compuestos, la lactulosa, la lactulosa-lisina y la furosina son comunes a todos los productos lácteos. Por ejemplo, la presencia de lactulosa significa que en todos los casos se verifica el equilibrio de Lobry de Bruyn-Alberda-Van Ekenstein, aunque, como se ha dicho, implica una alta E_a y, por lo tanto, bajos rendimientos generales y, por otro lado, la formación de lactulosa-lisina y furosina demuestra que, en la totalidad de los derivados lácteos, los cuales incluyen al menos un tratamiento de pasteurización o equivalente, se llevan a cabo las reacciones de Maillard hasta alcanzar la formación de la cetosamina o producto de Amadori.

Tabla 7. Principales compuestos provenientes de la degradación térmica de la lactosa en leche y productos lácteos.

Compuestos de degradación	Producto lácteo							
	Leche LTLT	Leche UHT	Leche evaporada	Leche condensada azucarada	Leche en polvo	Lactosuero	Dulce de leche	Cajeta
HMF ^c		✓	✓	✓	✓		✓	✓
Ácido fórmico ^c		✓	✓	✓				
Ácido levulínico ^c		✓	✓	✓				
Isomaltol-galactosilado ^d			✓	✓				
Isomaltol ^d			✓	✓				
β-galactosil-piranona ^e		✓						
Galactosa ^a	✓	✓	✓	✓				
Epilactosa ^f		✓	✓	✓				
Tagatosa ^b			✓	✓				
Lactulosa ^f	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Lactulosa-lisina ^g	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Lisil-pirralina ^c			✓	✓	✓		✓	✓
Furosina ^g	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Carboximetil-lisina ^g		✓	✓	✓	✓			
Piridosina ^d					✓		✓	✓
Pirazinas ^h					✓		✓	✓

a Olano *et al.* (1989).

b Troyano *et al.* (1991).

c Van Boekel (1998).

d Morales & Arnoldi (1999).

e Pellegrino & Cattaneo (2001).

f Sakkas *et al.* (2014).

g Mehta & Deeth (2016).

h Stojanovska *et al.* (2017).

De acuerdo con la Tabla 7, para la leche LTLT y el lactosuero se observan sólo indicadores térmicos de la enolización de la lactosa, *e.g.*, lactulosa, y los correspondientes a las primeras etapas de la reacción de Maillard: lactulosa-lisina y furosina. Una razón es que su tratamiento implica temperaturas bajas: 62 °C para leche LTLT, y < 50 °C para lactosuero dulce sin pasteurizar o, bien, 62-72 °C para el producto pasteurizado.

Respecto a las leches UHT, evaporada y condensada azucarada, el conjunto de indicadores del tratamiento térmico es muy similar entre cada una: HMF, ácidos fórmico y levulínico, galactosa, lactulosa, lactulosa-lisina, furosina y CML, excepto por la ausencia de lisil-pirralina, β -galactosil-piranona, isomaltol e isomaltol-galactosilado en la leche con tratamiento UHT. Sin embargo, la presencia única de compuestos carboxílicos con apreciable potencial aromático y gustativo, como los ácidos fórmico y levulínico, en las leches UHT, evaporada, y condensada azucarada en contraste con su ausencia en leche en polvo, cajeta y dulce de leche, puede deberse a su volatilidad durante la elaboración de los últimos o, bien, a su baja concentración en productos como las leches LTLT y UHT (Tabla 7). Cabe tomar en cuenta que los sistemas cerrados característicos en leches concentradas evitan la pérdida de volátiles. Y para el lactosuero pasteurizado, la ausencia de ácidos corresponde con una baja descomposición térmica.

En lo que concierne a la leche UHT, la formación de lactulosa y lactulosa-lisina corresponde con los efectos químicos significativos descritos en la Tabla 6, ya que la primera proviene del equilibrio de enolización, y la lactulosa-lisina correlaciona con la lactosilación de residuos de lisina.

En el caso de leche evaporada, que conlleva una esterilización, la detección de isomaltol, galactosa y los ácidos fórmico y levulínico (Tabla 7) es consistente con los efectos químicos que producen sabores de la reacción de Maillard (Tabla 6).

Por otro lado, la ausencia en leche UHT de lisil-pirralina puede explicarse por su alta reactividad y, particularmente, por su proclividad para formar estructuras diméricas en condiciones de ultrapasteurización (Belitz *et al.*, 2009), mientras que la ausencia de β -galactosil-piranona, precursora de isomaltol e isomaltol-galactosilado, significa que la vía de la 2,3-enolización que conduce a dicha piranona está poco favorecida en tratamientos térmicos que involucran tiempos cortos de procesamiento. Cabe argumentar que la nula detección de isomaltol e isomaltol-galactosilado en la leche UHT sugiere que las condiciones de temperatura ultra-alta y de corto tiempo de procesado no alcanzan el valor de energía de activación requerida para estas reacciones, fenómeno que no se observa para las leches evaporada, y condensada azucarada, cuyos tratamientos comprenden mayores temperaturas y tiempos de exposición y, por lo tanto, permiten no sólo su formación, sino la retención de sustancias volátiles (isomaltol) y no volátiles (isomaltol-galactosilado), pues además incluyen etapas de concentración (Sharma *et al.*, 2016). Por lo anterior, la β -galactosil-piranona, el isomaltol y el isomaltol-galactosilado se forman en leches que conllevan tratamientos térmicos relativamente drásticos.

En términos generales, la ausencia de isomaltol, isomaltol-galactosilado y de su piranona precursora, así como de otros indicadores en los productos lácteos (Tabla 7) puede deberse a tres causas principales: a) una nula producción en lácteos que implican procesos térmicos poco intensos, como la leche LTLT y el lactosuero; b) una descomposición térmica en el propio medio de reacción, lo que podría acontecer en leche en polvo, cajeta y dulce de leche; o c) una volatilización gradual en algunas etapas propias del procesamiento. Precisamente, esta última opción aplica para volátiles como el isomaltol, que no sólo está ausente en la leche UHT, sino en la leche en polvo, dulce de leche y cajeta, productos que incluyen etapas térmicas relativamente intensas y prolongadas en sistemas abiertos.

En general, la formación de productos como el HMF, el isomaltol, la β -galactosil-piranona y algunos ácidos es característica de la etapa avanzada de las reacciones de Maillard, en la que los α -dicarbonilos generados se transforman en productos térmicamente estables. En particular, la β -galactosil-piranona y las ciclopentanonas se forman en la leche a través de la ruta de la 1-DG. Sin embargo, su uso como indicadores es limitado, ya que pueden sufrir reacciones de deshidratación ácido-térmica y convertirse en isomaltol-galactosilado, compuesto más estable y fácil de cuantificar. En la Figura 36 se indican los productos de isomerización del isomaltol-galactosilado (Van Boekel, 1998; Morales & Arnoldi, 1999; Pellegrino & Cattaneo, 2001).

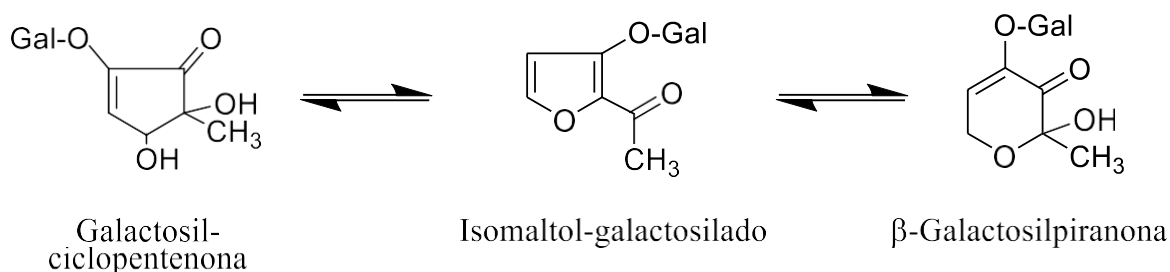


Figura 36. Isomerización del isomaltol-galactosilado. Morales & Arnoldi (1999).

Por otro lado, en presencia de grupos amino, la β -galactosil-piranona, la galactosil-ciclopentenona y el isomaltol-galactosilado pueden transformarse en productos de condensación como el acetilpirrol-galactosilado, la piridina-betaína-galactosilada y una furanona-amina (Figura 36), los cuales favorecen el entrecruzamiento de proteínas (Van Boekel, 1998; Morales & Arnoldi, 1999; Pellegrino & Cattaneo, 2001). En la Figura 37 se ilustra la formación de estos compuestos a partir de la isomerización del isomaltol-galactosilado. De esta manera, la inestabilidad térmica y las diferentes reacciones de degradación de la β -galactosil-piranona pueden explicar su ausencia en la mayoría de los productos lácteos de la Tabla 7.

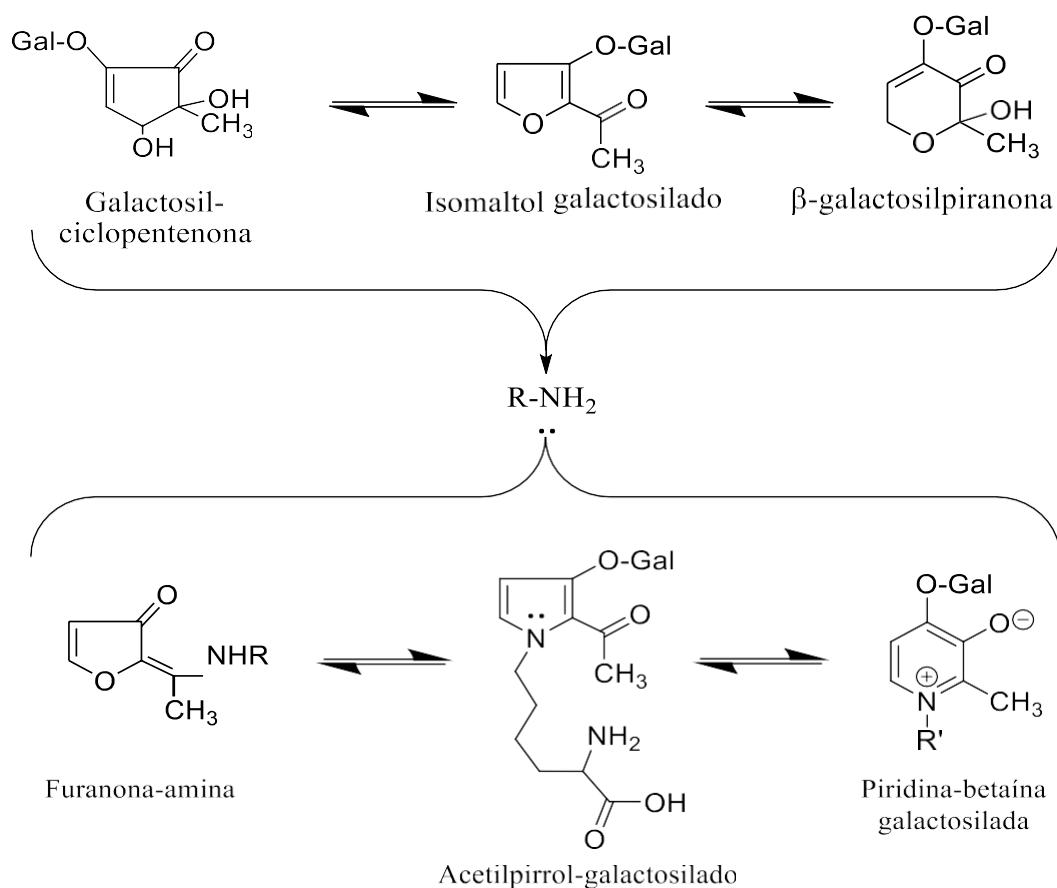


Figura 37. Formación de productos aminados a partir de isomaltol-galactosilado. Esquema formulado en el presente trabajo.

En el caso de productos lácteos que involucran reacciones de oscurecimiento intenso, como la cajeta y el dulce de leche, la degradación de la lactosa y el perfil químico final depende sustancialmente de la formulación. Por ejemplo, Francisquini *et al.* (2018) informaron que la adición de glucosa y el aumento de la concentración de NaHCO₃ en el dulce de leche incrementaron el contenido de HMF, con lo que se puede anticipar su participación en la formación de polímeros coloridos.

Las condiciones de almacenamiento de la leche y los productos lácteos tienen una gran influencia sobre los diversos compuestos e indicadores térmicos formados, puesto que su concentración varía consistentemente a lo largo del tiempo (Sakkas *et al.*, 2014).

5.6. Otras reacciones: formación de ureidos

La lactosa reacciona con microcomponentes nitrogenados no proteínicos como la urea para formar ureidos, por ejemplo, en las leches LTLT, UHT y leche en polvo. Los ureidos de lactosa son compuestos covalentes resistentes a la acción enzimática que, no obstante, la β -galactosidasa puede hidrolizar para liberar galactosa y ureido de glucosa (Suyama, Sasaki, Oritani & Hosono, 2011). En la Figura 38 se indica la formación del ureido de lactosa N-carbamoil- β -D-galactopiranosil-(1-4)-D-glucopiranosilamina (lactosil-urea), y del ureido de glucosa N-carbamoil-D-glucopiranosilamina (glucosil-urea) formado por hidrólisis enzimática. La ingestión de lactosil-urea da lugar a una lenta liberación de NH_3 en las condiciones intestinales (Fox *et al.*, 2015).

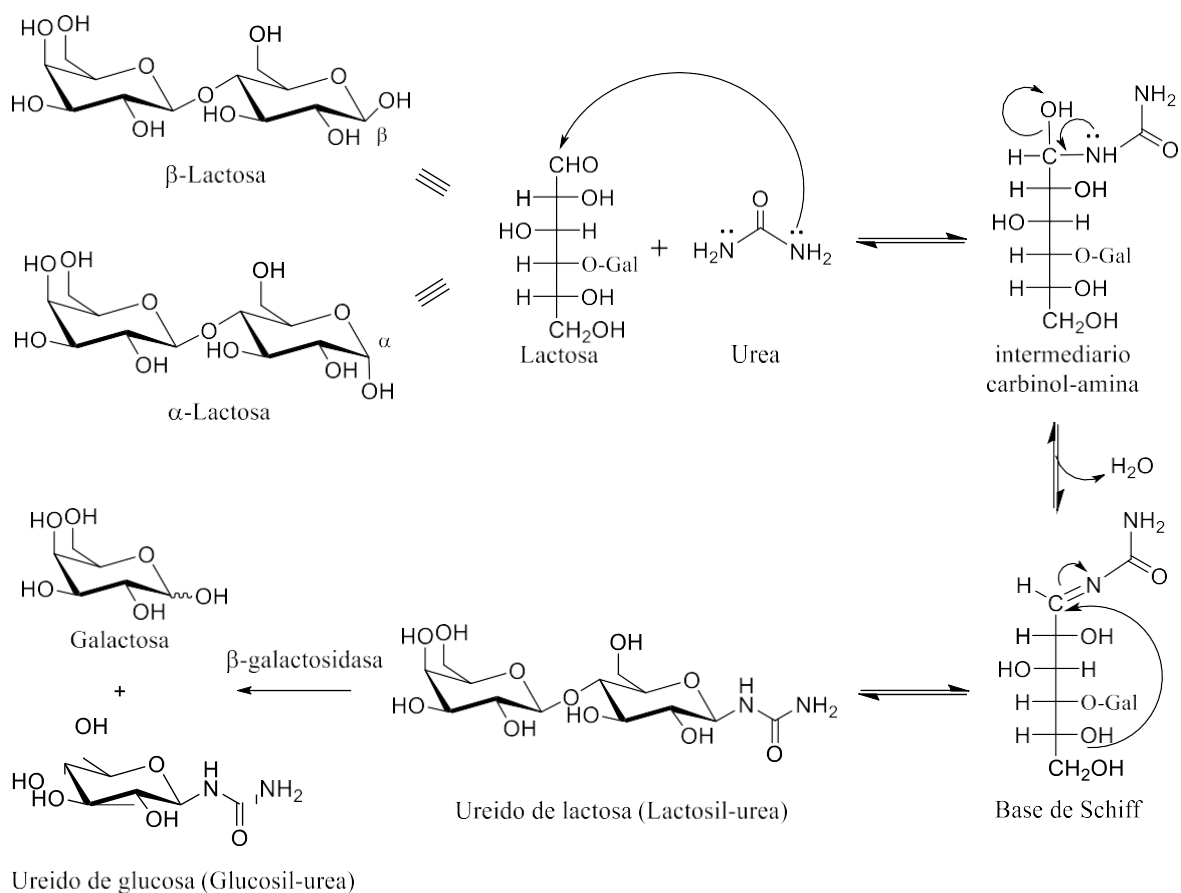


Figura 38. Formación de ureidos de lactosa y glucosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.7. Otras reacciones: Complejación de lactosa con metales

Los iones metálicos que se agregan a la leche para su fortificación dan lugar a la formación de complejos con la lactosa (Sharma *et al.*, 2015), en particular con el α -anómero. Desde el punto de vista nutricional, la quelación de metales repercute directamente en su biodisponibilidad aumentándola o inhibiéndola, lo que dependerá del tipo de complejo (Nishimukai *et al.*, 2008; Ramonaitytė *et al.*, 2009).

Al igual que la lactosa, sus productos de isomerización o degradación térmica pueden también actuar como complejantes de metales. Ese es el caso de los compuestos provenientes del equilibrio de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein, como la epilactosa, y de productos de Maillard como la lactulosa-lisina y las melanoidinas. Como se mencionó previamente, diversos metales de transición, como el Cu^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} , catalizan las reacciones de Maillard (Eskin & Shahidi, 2013), fenómeno que incluye igualmente a la lactosa.

La lactosa puede formar complejos con Zn^{2+} a $\text{pH} \geq 7.0$ (≤ 5 mg Zn/ g del disacárido) y aumentar la biodisponibilidad del mineral, pues, de acuerdo con Sharma *et al.* (2015), la leche fortificada con el complejo lactosa- Zn^{2+} muestra una mayor biodisponibilidad *in vitro* que la leche no fortificada o que aquella adicionada con ZnSO_4 . En la Figura 39 se propone la estructura general de un complejo metálico de la α -lactosa.

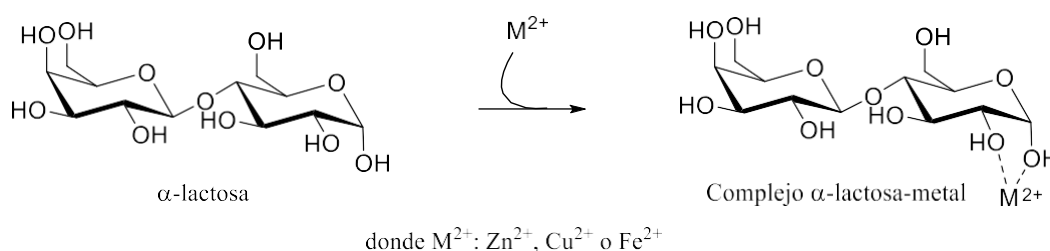


Figura 39. Formación de complejos metálicos con α -lactosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

De acuerdo con Ramonaityté *et al.* (2009), la presencia de metales afecta la intensidad del oscurecimiento de Maillard, ya que acorta su periodo de inducción, es decir, el tiempo después del cual aparece la pigmentación. Por ejemplo, el Fe^{2+} (20-100 ppm) promueve la acumulación de melanoidinas, en tanto que el Cu^{2+} y Zn^{2+} (1-5 ppm) hacen lo propio en mayor grado. Sin embargo, concentraciones elevadas de Cu^{2+} y Zn^{2+} (5-25 ppm) suprimen el oscurecimiento en sistemas modelo de lactosa-glicina, pues mientras el Fe^{2+} (10-50 ppm) induce la formación de melanoidinas no dializables o de alta masa molar ($\text{HMW} > 12.4 \text{ kDa}$), el Cu^{2+} (1-2 ppm) y el Zn^{2+} (5 ppm) promueven la formación de pigmentos de baja masa molar ($\text{LMW} < 12.4 \text{ kDa}$). Simultáneamente, los cationes Cu^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} forman complejos con las melanoidinas, y son liberados después de cierto tiempo de reacción (calentamiento a reflujo $> 1 \text{ h}$, pH 6.5-6.6). En la Figura 40 se propone la estructura de un complejo de melanoidinas con los metales mencionados.

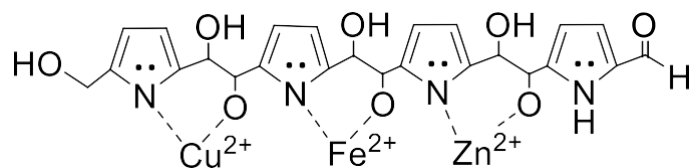


Figura 40. Posible estructura de un complejo metal-melanoidina. Esquema formulado en el presente trabajo.

Respecto a la formación de complejos metálicos con productos de las etapas iniciales de las reacciones de Maillard con la lactosa, esta puede reaccionar con aminoácidos como la glicina para formar el respectivo producto de Amadori 1-amino-1-desoxilactulosilglicina (lactulosa-glicina, Lact-Gly), mismo que puede originar un complejo con Zn^{2+} , Cu^{2+} o Fe^{2+} para nuevamente reaccionar con otra molécula de lactulosa-glicina y, finalmente, producir un complejo de coordinación dilactulosaglicina con estequiometría 2:1 respecto al metal (Ramonaityté *et al.*, 2009). En la Figura 41 se observa la formación de estos complejos.

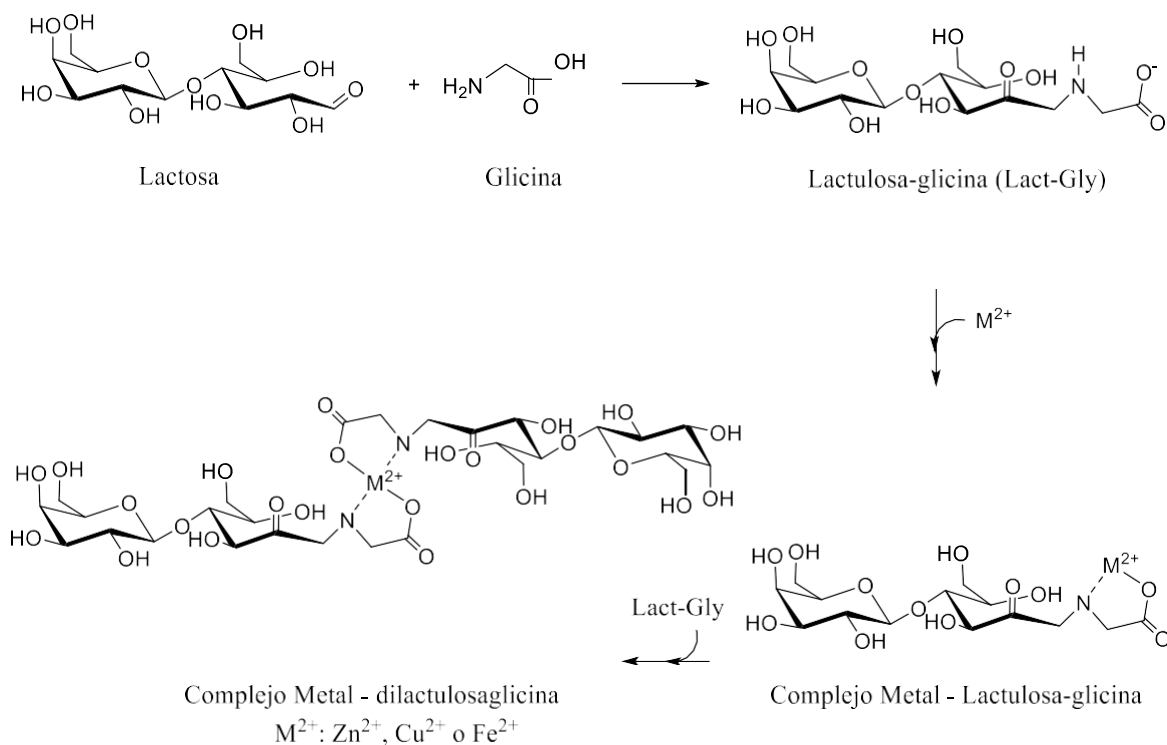


Figura 41. Formación de complejos metálicos con lactulosa-lisina. Adoptado de Ramonaityté et al. (2009).

Por su parte, los elementos de transición no sólo participan en la formación de complejos, sino también aceleran la formación del producto de Amadori y su posterior oxidación. Asimismo, catalizan la degradación de sus derivados y, aparte de la polimerización, favorecen la producción de compuestos fluorescentes característicos de la etapa final de las reacciones de Maillard (Ramonaityté *et al.*, 2009; Seiquer, Delgado-Andrade, Haro & Navarro, 2010). En la Figura 42 se indica la oxidación del compuesto lactulosa-glicina en presencia de O_2 y Cu^{2+} . Los productos son la glicina y el dicarbonilo 3-DG con grupo galactosilo, el cual, mediante una nueva oxidación, puede generar galactosa y otros productos de fragmentación. La galactosa puede también reaccionar con estos. Lo anterior evidencia la descomposición catalítica de los productos de degradación de la lactosa en presencia de metales, y la participación de estos en la fragmentación y en el oscurecimiento no enzimático.

Adicionalmente, algunas melanoidinas pueden actuar como quelantes de Ca^{2+} , metal especialmente importante para el desarrollo de infantes, ya que su complejación con dichos polímeros disminuye su absorción (Seiquer *et al.*, 2010). Las estructuras de los complejos melanoidinas- Ca^{2+} formuladas en el presente trabajo se muestran en la Figura 43.

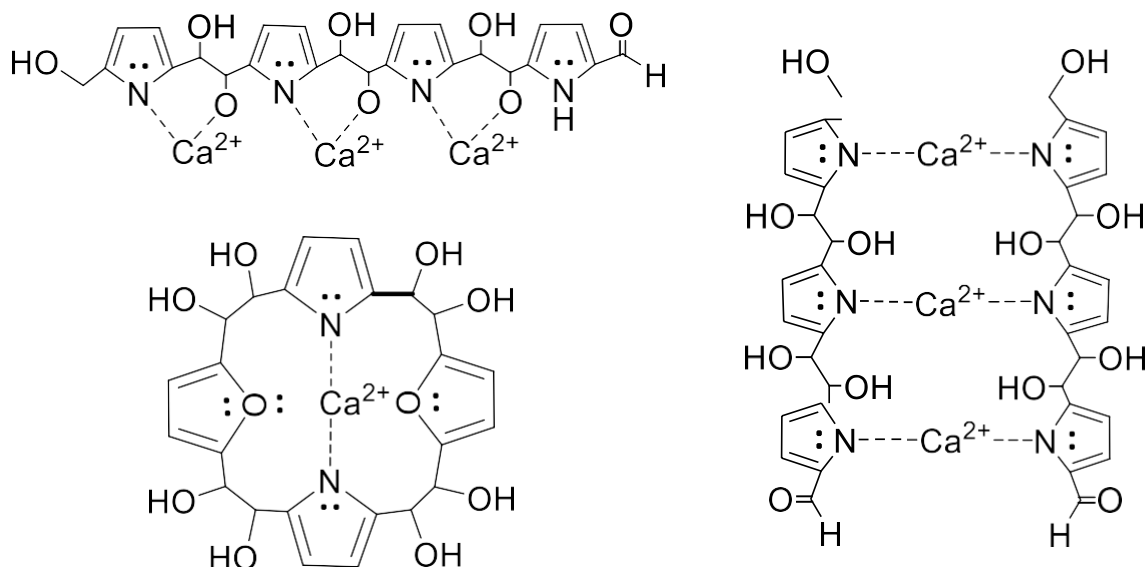


Figura 43. Estructuras propuestas de los complejos melanoidinas- Ca^{2+} . Esquema formulado en el presente trabajo.

Por otro lado, la β -epilactosa puede formar complejos que promueven la absorción de cationes como Ca^{2+} , Zn^{2+} y Mg^{2+} , con efectos benéficos en el intestino grueso (Nishimukai *et al.*, 2008). En la Figura 44 se indica la estructura general de un complejo metálico con la β -epilactosa.

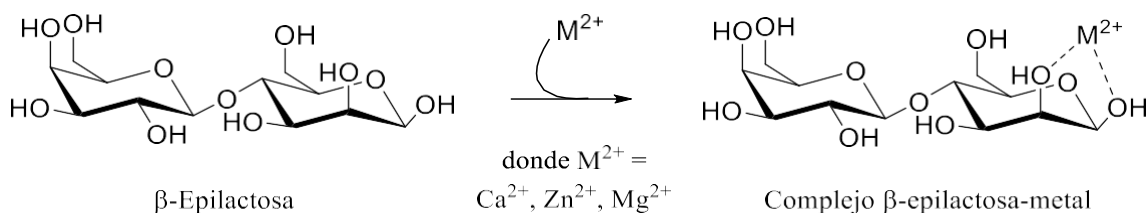


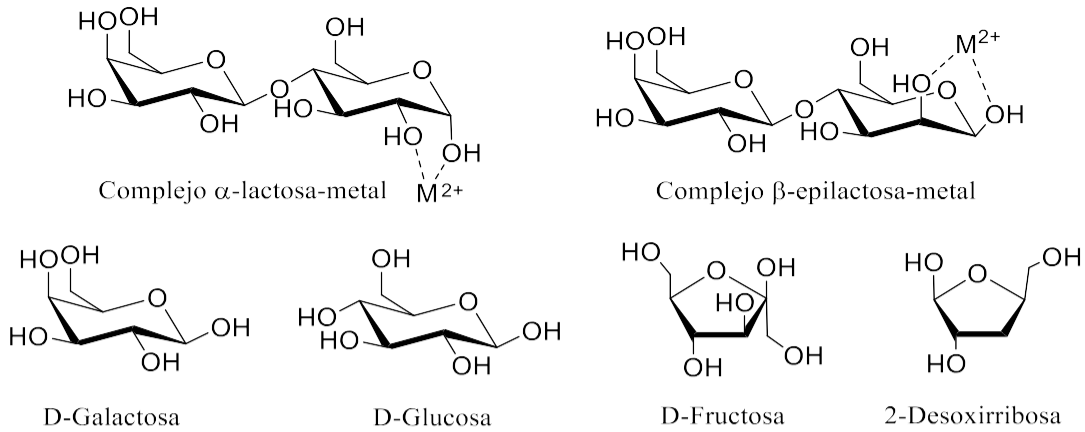
Figura 44. Formación de complejos metálicos con β -epilactosa. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.8. Recapitulación final

A manera de resumen, las Figuras 45-50 muestran las estructuras de los principales compuestos provenientes de la degradación térmica de la lactosa que se generan en los productos lácteos estudiados. Dichos compuestos se agrupan de acuerdo con sus propiedades nutrimentales, nutracéuticas o sensoriales, y algunos están relacionados con más de un aspecto. Asimismo, se muestran los indicadores térmicos más importantes que se emplean en las etapas iniciales, intermedias o avanzadas de los procesos térmicos aplicados a la leche. Y, finalmente, se señalan aquellos grupos de compuestos conocidos por su actividad toxicológica, los cuales, no obstante, se forman en concentraciones que no representan un riesgo para la salud.

En particular, en la Figura 45 se puede observar la estructura de algunos compuestos de la lactosa y la epilactosa con relevancia en el aspecto nutrimental, tal es el caso de ciertos complejos metal-disacárido que realzan la biodisponibilidad de iones como Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{2+} , y de compuestos con valor energético como la galactosa, la glucosa, la fructosa y la 2-desoxirribosa. Por el contrario, en la misma figura se indican aquellas sustancias que pueden implicar una baja digestibilidad de las proteínas y la lactosa. Ese el caso de la lactulosa-lisina y sus productos de deshidratación, la furosina, la lisil-pirralina y la piridosina, y de aquellos como la CML, que proviene de su oxidación. Asimismo, se tiene al ureido de la lactosa, resultante de la reacción de urea con el disacárido, y a la ornitinoimidazolinona, compuesto generado por reacción de la arginina con el metilglioxal. Adicionalmente, las melanoidinas pueden tener un efecto en el valor nutrimental de los productos lácteos por dos vías: a) disminuyendo la digestibilidad de las proteínas, y b) mediante la complejación de metales reduciendo su biodisponibilidad (Ramonaityté *et al.*, 2009; Wang, Qian & Yao, 2011).

- Compuestos que determinan mayor biodisponibilidad de metales o que presentan valor calórico



- Compuestos que implican una baja digestibilidad de las proteínas lácteas

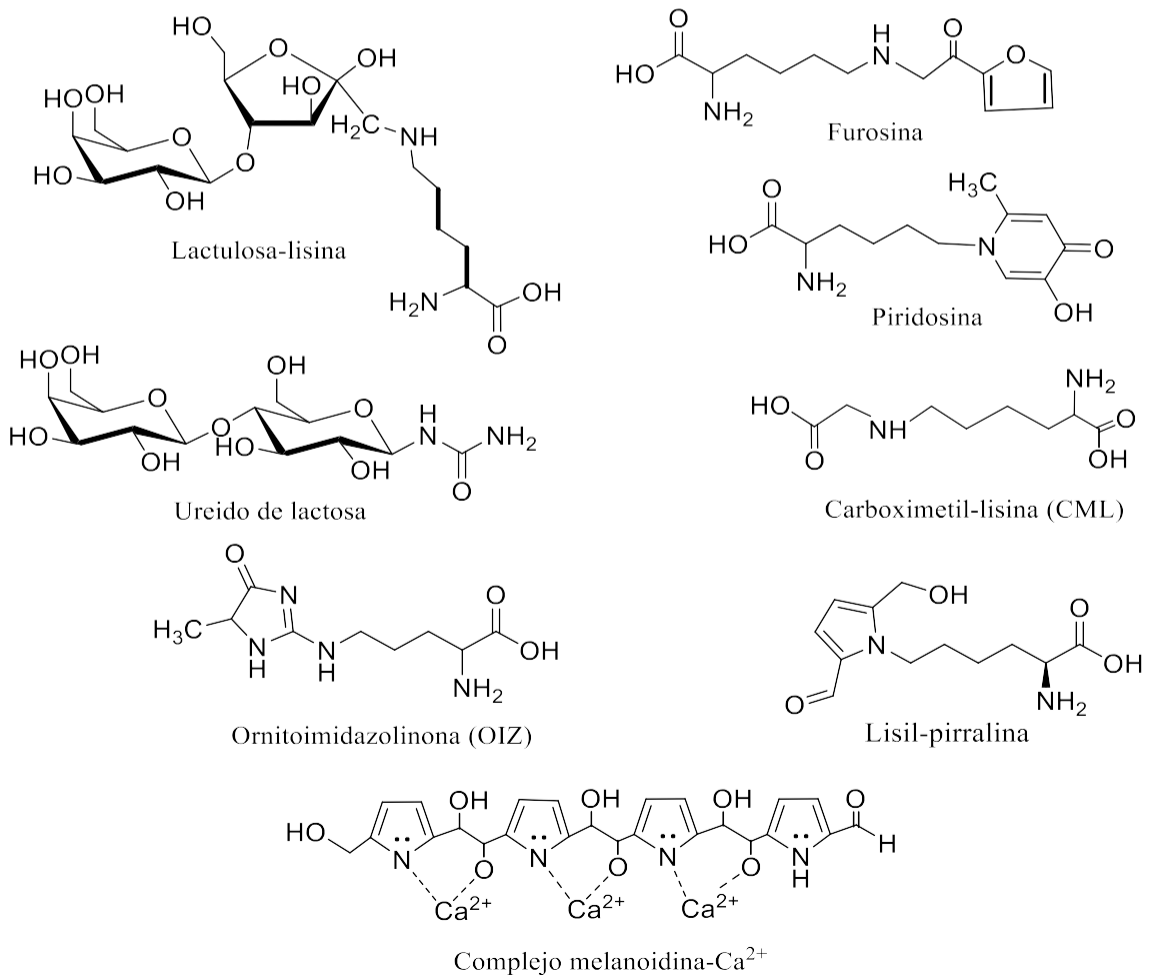


Figura 45. Productos de la degradación térmica de la lactosa con importancia nutricional. Esquema formulado en el presente trabajo.

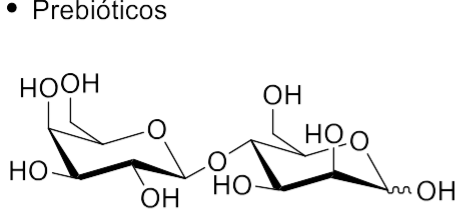
Por otro lado, en la Figura 46 se indica la estructura de compuestos con actividad nutracéutica -ya sea prebiótica, antioxidante o terapéutica-, así como de aquellos que registran propiedades antimicrobianas. En el primer rubro, la epilactosa (Watanabe *et al.*, 2008), la lactulosa (Nooshkam *et al.*, 2018), la D-tagatosa (Roy *et al.*, 2018) y el ácido fórmico (Walstra *et al.*, 2006) muestran propiedades prebióticas. Las melanoidinas también parecen resaltar el crecimiento selectivo de las bifidobacterias intestinales, por lo que, además de sus características antioxidantes, presentan de igual forma una potencial actividad prebiótica y antihipertensiva (Wang *et al.*, 2011).

En el caso de las melanoidinas se ha encontrado un poder antioxidante significativo en sistemas compuestos por caseína y glucosa sometidos a calentamiento (120 °C-130 min, pH 12), en particular en las fracciones poliméricas de alta masa molar (Gu *et al.*, 2010). Respecto a la aminoreductona 1-amino-2,5,6-trihidroxi-1-hexen-3-ona, el maltol y el isomaltol (Fig.46), estos son antioxidantes que actúan mediante un mecanismo de complejación de metales (Trang *et al.*, 2011; Kanzler *et al.*, 2016). En el caso de la tetrametilpirazina, la cual se produce en la leche procesada a temperaturas elevadas (Fox *et al.*, 2015), es un heterociclo reconocido por su actividad contra enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Zhao, Liu & Chen, 2016). En el segundo rubro, *i.e.*, en lo que se refiere a la actividad antimicrobiana, las aminorreductonas y las melanoidinas registran también esta propiedad (Shimamura *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011).

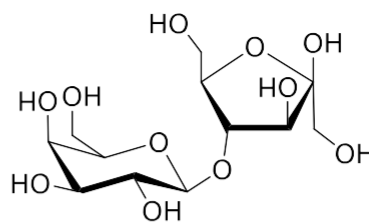
Por último, aunque la concentración de los compuestos mencionados es muy baja en la leche fluida debido tanto a la complejidad del sistema como a un efecto de dilución, así como a la manifiesta reactividad de muchos de los intermediarios generados térmicamente, sus efectos podrían ser relevantes en productos lácteos concentrados intensamente calentados.

Compuestos con actividad nutracéutica (prebiótica, antioxidante, terapéutica) o antimicrobiana

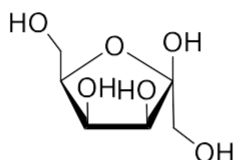
• Prebióticos



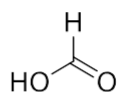
Epilactosa



Lactulosa

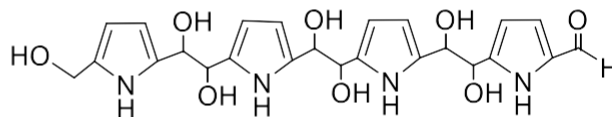
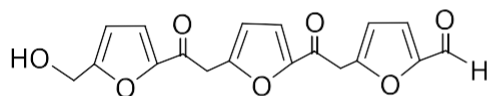


D-Tagatosa

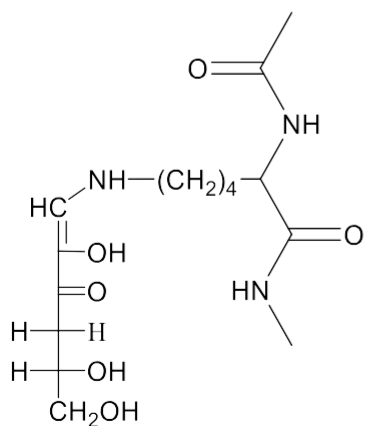


Ácido fórmico

• Prebióticos, antioxidantes y potenciales antihipertensivos y antimicrobianos

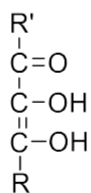


• Antimicrobiano y antioxidante

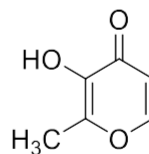
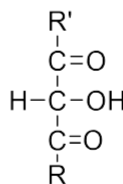


Aminorreductona
1-amino-2,5,6-trihidroxi-1-hexen-3-ona
ligada a proteínas lácteas

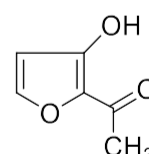
• Antioxidantes



reductonas

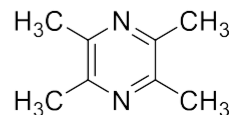


Maltol



Isomaltol

Agente con actividad terapéutica



Tetrametilpirazina

Figura 46. Compuestos de la degradación térmica de la lactosa con importancia nutracéutica y antimicrobiana. Esquema formulado en el presente trabajo.

En la Figura 47 se expone la estructura de compuestos con importancia sensorial. Tal es el caso de los complejos metálicos formados productos de Amadori de la lactosa que pueden controlar la velocidad del oscurecimiento no enzimático. Igualmente, la lisil-pirralina y el HMF se incluyen como precursores del color, así como los azúcares galactosa, glucosa, fructosa, 2-desoxirribosa y tagatosa, que presentan además distinto grado de dulzura (Shallenberger, 2012). De manera respectiva, la galactosa y la tagatosa tienen un poder edulcorante de 60% y 90% respecto a la sacarosa (Von Rymon, 2006), mientras que el valor calorífico de la tagatosa es el más bajo (Oshima *et al.*, 2006; Belitz *et al.*, 2009; Seki & Saito, 2012). También se indica la estructura de sustancias con impacto en el sabor y aroma de los lácteos, *i.e.*, el diacetilo y los ácidos sacarínicos, fórmico y levulínico. En lo que corresponde a la α -lactosa hidratada, aunado a su dulzura, su presencia contribuye a la textura de los productos lácteos concentrados (Walstra *et al.*, 2006).

Por su parte, las estructuras potenciales de melanoidinas y polímeros propuestas en el presente trabajo se muestran en la Figura 48. Entre ellas destacan las secuencias polipirrólicas derivadas de la lisil-pirralina, intermediario precursor del color en leches térmicamente procesadas (Belitz *et al.*, 2009). Asimismo, también pueden encontrarse segmentos poliméricos de estructuras furanoides (Wong, 2018).

Además de su impacto sensorial en el desarrollo de color y textura, así como de su actividad prebiótica y antioxidante (Wang *et al.*, 2011), las melanoidinas manifiestan cierto control sobre el oscurecimiento no enzimático, en particular cuando complejan metales e inhiben parcialmente el desarrollo de nuevos pigmentos (Ramonaitytė *et al.*, 2009). Igualmente, se distinguen por su escasa o nula digestibilidad, y por su toxicidad en concentraciones elevadas (Wang *et al.*, 2011). Por otro lado, el maltol e isomaltol también pueden participar en el desarrollo del color debido a su mencionada actividad complejante de metales.

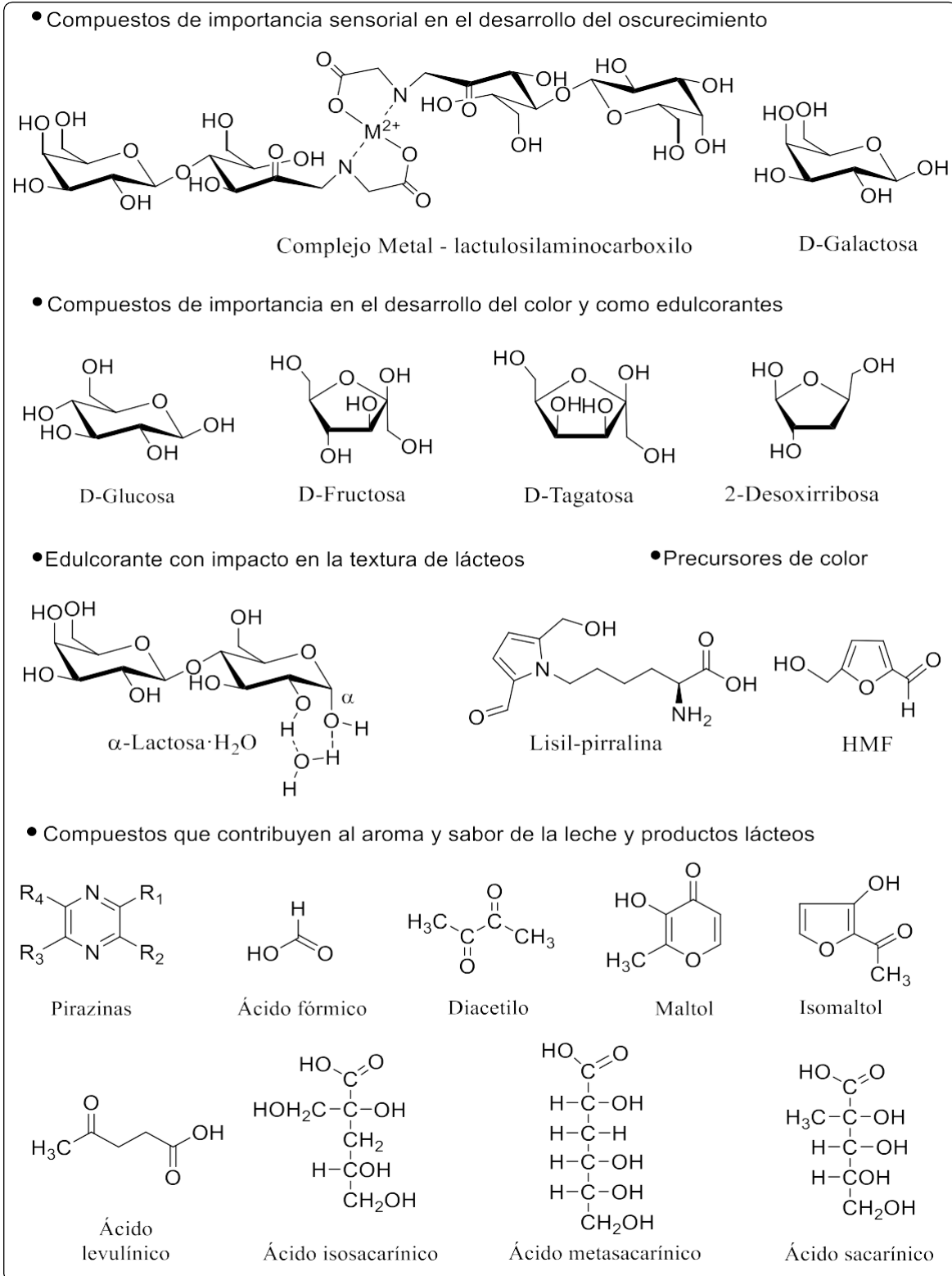


Figura 47. Compuestos de la degradación térmica de la lactosa con importancia sensorial. Esquema formulado en el presente trabajo.

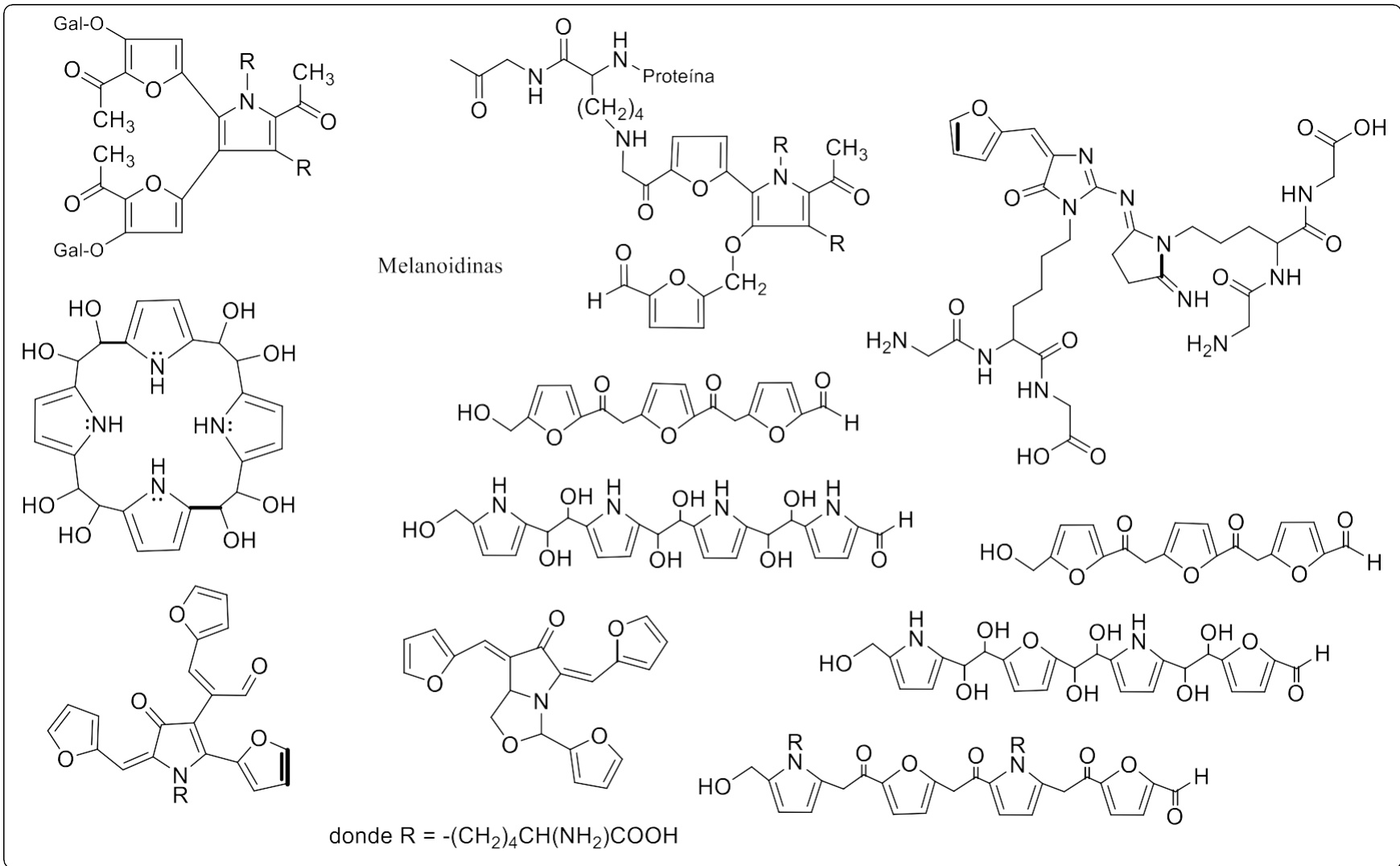


Figura 48. Estructuras de las melanoidinas potencialmente formadas en la leche tratada térmicamente. Esquema formulado en el presente trabajo.

Las melanoidinas son también marcadores de la intensidad de las reacciones térmicas que se presentan en la leche, en específico de aquellas que resultan del oscurecimiento de Maillard y, aunque no se han identificado estructuras químicas específicas en sistemas lácteos con tratamiento térmico, su cuantificación se realiza mediante un análisis espectrofotométrico a 420 nm (Eskin & Shahidi, 2013).

Respecto a compuestos con importancia analítica y tecnológica, la Figura 50 presenta la información que suministran los principales indicadores sobre el avance de las reacciones térmicas en la leche. Compuestos como la lactulosa-lisina, la furosina, la piridosina y la CML proporcionan datos sobre una degradación térmica inicial de la lactosa y la lisina. Y marcadores como la tagatosa, la galactosa, el HMF, los ácidos fórmico y levulínico, la lisil-pirralina, las pirazinas, la β -galactosil-piranona y sus productos de degradación ácida, el isomaltol y el isomaltol-galactosilado, señalan el progreso de las etapas avanzadas de las reacciones térmicas.

En particular, los monosacáridos mencionados, el HMF y los carboxilos son indicadores tanto del desarrollo de las reacciones de Maillard como de la descomposición térmica de la lactosa sin la participación de proteínas, en tanto que todos los demás productos son marcadores específicos del oscurecimiento de Maillard. Entre las transformaciones que implican sólo a moléculas de lactosa en las etapas avanzadas de descomposición térmica se encuentra la anomerización y la enolización. Esta última comprende la epimerización e isomerización y conduce a los respectivos disacáridos lactulosa y epilactosa. Cabe mencionar que la epilactosa y la tagatosa se han detectado en leche esterilizada y en leches concentradas, empero, la epilactosa también se ha registrado en leche UHT (Tabla 7). Finalmente, la última etapa incluye la formación de melanoidinas.

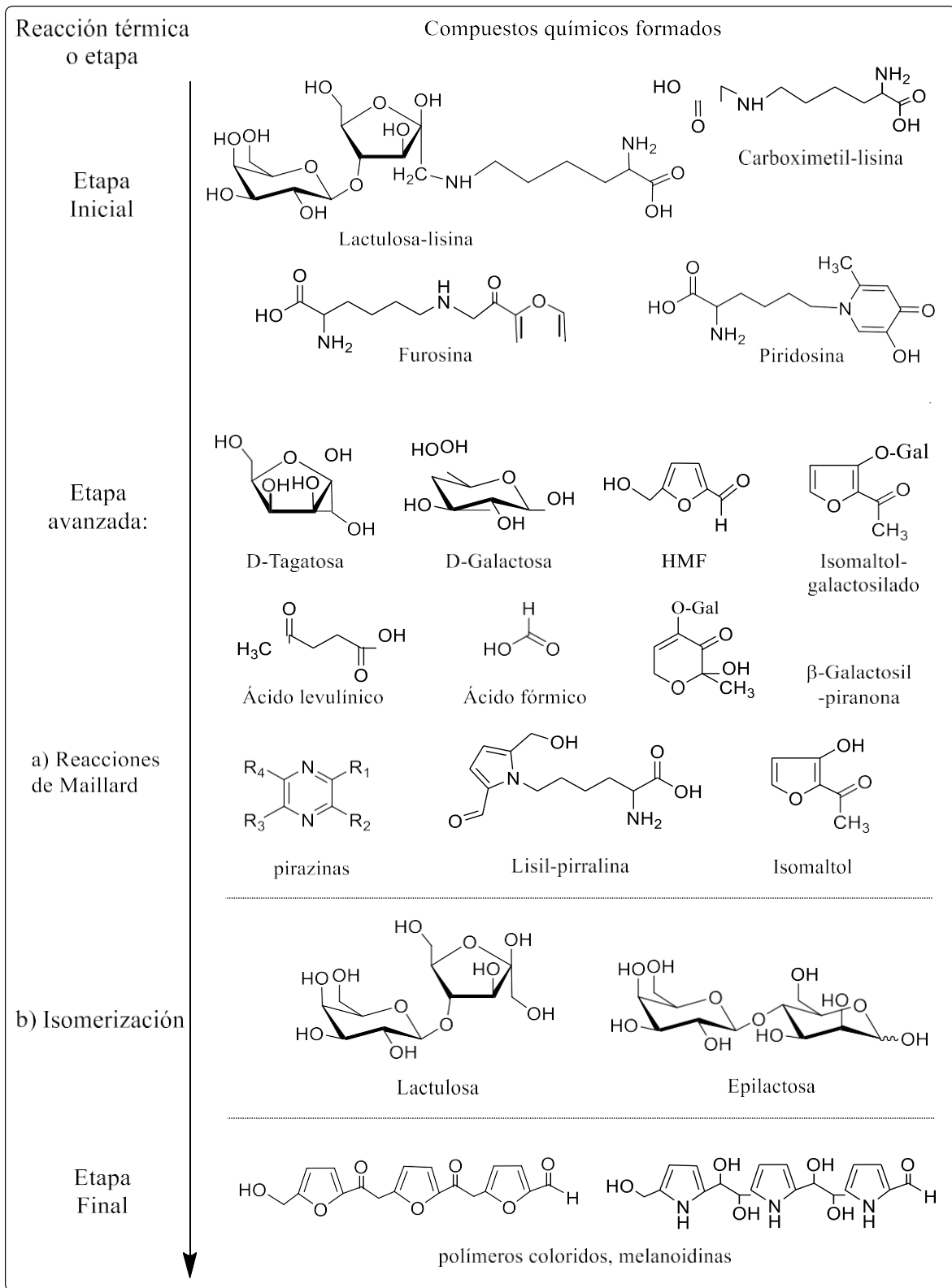


Figura 49. Indicadores formados en las distintas etapas de las reacciones térmicas de la leche. Esquema formulado en el presente trabajo.

Por último, en la Figura 50 se indican los compuestos de degradación térmica de la lactosa que presentan alguna actividad toxicológica. Tal es el caso de los furanoides HMF, furfural, 5-metilfurfural, furil metil cetona y el alcohol furfurílico, y de sustancias como el metilglioxal y las melanoidinas (Stich, Rosin, Wu & Powrie, 1981; Rahman & Hadi, 1991; Kalapos, 2008; Barlow & Schlatter, 2010; Morales, 2009; Moinuddin, Dixit, Shahab, Alam & Ali, 2011; Wang *et al.*, 2011).

Sin embargo, cabe enfatizar que la presencia y toxicidad de los compuestos mencionados sólo tiene relevancia en concentraciones elevadas en los alimentos, situación que no corresponde a los tratamientos térmicos habituales aplicados a los sistemas lácteos. En general, la cantidad de furanoides y metilglioxal es muy baja debido, en parte, a su alta reactividad, condición que determina su rápida transformación. Respecto a las melanoidinas, su concentración en productos que conllevan tratamientos drásticos, como la cajeta o el dulce de leche, no se ha vinculado con riesgos toxicológicos.

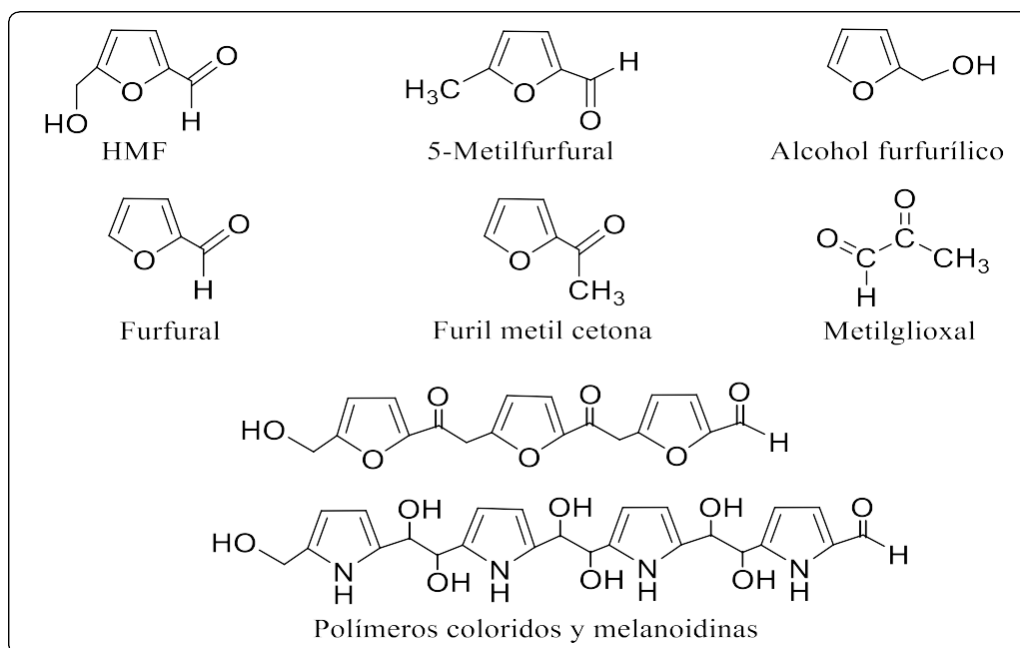


Figura 50. Compuestos potencialmente tóxicos que se forman durante el tratamiento térmico de la leche. Esquema formulado en el presente trabajo.

5.9. Consideraciones finales

La información bibliográfica y hemerográfica recabada en el presente trabajo enfatiza el estado de conocimiento de la química de la lactosa y sus reacciones térmicas en la leche entera fluida y en productos lácteos como las leches concentradas.

Respecto al estudio de la química de los productos lácteos, es importante mencionar que esta recopilación permite no sólo conocer las principales transformaciones químicas y algunos de los compuestos más importantes formados térmicamente, así como sus consecuencias en la calidad y propiedades alimentarias de los derivados lácteos finales, sino también puede contemplarse como un trabajo teórico que contribuya a establecer predicciones respecto a las reacciones e interacciones químicas de la lactosa con el resto de componentes lácteos en el ámbito del desarrollo de nuevos productos. En ese sentido, considerando la reactividad térmica de la lactosa durante los procesos de manufactura de productos lácteos novedosos, como los que incluyen la presencia de aditivos o monosacáridos, por ejemplo, las leches fortificadas o con una composición modificada, como la leche para pacientes diabéticos, baja en grasa y alta en proteína, y los productos lácteos deslactosados, es de esperar un incremento en el número de transformaciones químicas relacionadas con el aspecto sensorial, nutrimental, nutracéutico y potencialmente toxicológico en los derivados lácteos. Como un ejemplo de lo anterior, las propiedades antioxidantes de sistemas caseína-glucosa pueden realzar las características nutracéuticas de varios de estos productos.

Por lo anterior, un resumen o compendio sobre la química de la lactosa y su reactividad térmica siempre facilitará la comprensión de las transformaciones físicas y químicas de la leche y los productos lácteos. Ese es precisamente uno de los propósitos del presente trabajo.

6. Conclusiones

Generales

- Se recopiló numerosa información acerca de la reactividad química de la lactosa en las distintas condiciones fisicoquímicas de diversos sistemas lácteos tratados térmicamente: leches pasteurizada y ultrapasteurizada, lactosuero dulce pasteurizado, leches en polvo, evaporada, condensada azucarada, dulce de leche y cajeta.
- Se propusieron y desarrollaron esquemas que describen las principales secuencias químicas de formación de los compuestos provenientes de la degradación térmica de la lactosa, y se conoció su efecto sobre las propiedades alimenticias de leches fluidas y productos lácteos.
- Se conocieron los principales compuestos químicos que se emplean como indicadores de los tratamientos térmicos de la leche, así como sus rutas de formación y su uso en la evaluación del avance de las reacciones de la lactosa.

Particulares

Respecto a la degradación químico-térmica:

- El lactosuero dulce pasteurizado y la leche pasteurizada con tratamiento LTLT son los derivados que experimentan un menor número de reacciones térmicas de la lactosa.
- La cajeta y el dulce de leche involucran el mayor número de reacciones de degradación incluyendo el oscurecimiento de Maillard y, por consiguiente, presentan el mayor potencial antioxidante, prebiótico y sensorial entre los productos lácteos estudiados.

Compuestos formados en la degradación térmica de la lactosa:

Con importancia nutrimental

- Entre los derivados de la lactosa con importancia nutrimental se encuentran complejos metálicos de Zn^{2+} , Cu^{2+} y Fe^{2+} con α -lactosa y β -epilactosa, los cuales determinan una mayor biodisponibilidad de estos minerales.
- Los derivados de lactulosa-lisina, furosina, CML, piridosina, lisil-pirralina, OIZ, los ureidos de lactosa, así como las melanoidinas y sus complejos con metales como Ca^{2+} afectan la digestibilidad de las proteínas lácteas. Asimismo, el fenómeno de lactosilación de proteínas a través de las reacciones de Maillard impacta negativamente desde el punto de vista nutrimental. No obstante, las transformaciones contribuyen en algunos casos a la reducción del poder alergénico: β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina y caseínas.

Con actividad sensorial

- Entre las sustancias con actividad sensorial se encuentran complejos metálicos tipo producto de Amadori con Zn^{2+} , Cu^{2+} o Fe^{3+} que regulan procesos oxidativos dentro del oscurecimiento o que actúan como catalizadores y pueden controlar el desarrollo de color.
- La lisil-pirralina y el HMF son precursores reactivos de color que se forman en las etapas intermedias de las reacciones térmicas.
- La formación de glucosa, fructosa, tagatosa, 2-desoxirribosa y galactosa incentivan la producción de pigmentos debido a su reactividad y, además, tienen poder edulcorante.
- Compuestos implicados en el perfil aromático y el sabor de la leche procesada y los productos lácteos concentrados son las pirazinas, los ácidos sacarínicos, fórmico y levulínico, y el maltol e isomaltol.

Con importancia nutraceútica

- La epilactosa, lactulosa, tagatosa y el ácido fórmico poseen actividad prebiótica.
- Las melanoidinas, especialmente las de alta masa molar, presentan actividad prebiótica, antioxidante, antimicrobiana y potencialmente antihipertensiva.
- Las aminorreductonas ligada a proteínas poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas.
- A mayor temperatura y tiempo de procesamiento se detecta mayor actividad antioxidante en la leche y los productos lácteos. Las reductonas, dehidrorreductonas, las aminorreductonas, el maltol y el isomaltol presentan actividad antioxidante.

Compuestos potencialmente tóxicos

- El HMF, furfural, 5-metilfurfural, la furil metil cetona, el alcohol furfurílico, el metilglioxal y las melanoidinas tienen potencial toxicológico, sin embargo, en las concentraciones formadas en los sistemas lácteos no hay evidencia de que presenten un riesgo para la salud.

Indicadores térmicos

- Los principales indicadores del avance de las reacciones térmicas en una etapa inicial del procesamiento de la leche son productos de Maillard como la lactulosa-lisina, la CML, la furosina y la piridosina. Para la etapa avanzada se pueden emplear HMF, ácido levulínico, ácido fórmico y galactosa, que se forman tanto por las reacciones de Maillard como en la degradación ácido-térmica de la lactosa, isomaltol-galactosilado, β -galactosil-piranona, isomaltol y pirazinas. Asimismo, en dicha etapa se pueden monitorear los isómeros lactulosa y epilactosa. Y la fase final se basa en la detección de polímeros coloridos como las melanoidinas.

7. Referencias

1. Ahmed, N., Mirshekar-Syahkal, B., Kennish, L., Karachalias, N., Babaei-Jadidi, R., & Thornalley, P. J. (2005). Assay of advanced glycation end products in selected beverages and food by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(7), 691–699. DOI: [10.1002/mnfr.200500008](https://doi.org/10.1002/mnfr.200500008).
2. Aider, M. & De Halleux, D. (2007). Isomerization of lactose and lactulose: review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 356-364. DOI: [10.1016/j.tifs.2007.03.005](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.005).
3. Allasia, H. R. (2012). *La cristalización en el dulce de Leche*. Tesis de Maestría, Universidad Católica de Córdoba, Argentina.
4. Augustin, M. A., Clarke, P.T., & Craven, H. (2003). Powdered milk: characteristic of milk powders. En B. Caballero, L. Trugo & P. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (2nd ed.) (pp. 4703-4711). Amsterdam: Academic Press. DOI: [10.1016/B0-12-227055-X/00956-1](https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00956-1).
5. Banco de Patentes SIC (2013). Lácteos: Uso del suero de leche y sustitutos lácteos (Boletín Tecnológico). Bogotá: Superintendencia de Industria y Comercio.
6. Barlow, S., & Schlatter, J. (2010). Risk assessment of carcinogens in food. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 243(2), 180-190. DOI: [10.1016/j.taap.2009.11.004](https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.11.004).
7. Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th ed.). Germany: Springer.
8. Beltrán, H. A., Peláez, M. A., & Aguirre, A. C. (1999). Montaje del examen de urea en leche y su uso en hatos bovinos de doble propósito en el trópico húmedo. En Décima Segunda reunión

- científica tecnológica forestal y agropecuaria Veracruz (resúmenes). *Memoria Científica*, 5, 165.
9. BeMiller, J. N., & Huber, K. C. (2008). Carbohydrates. En S. Damodaran, K. I. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (4th ed.) (pp. 83-154). Boca Raton: CRC Press.
 10. Berg, H. E. (1993). *Reactions of lactose during heat treatment of milk: a quantitative study*. Ph. D. Thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
 11. Braun, K., Hanewald, A., & Vilgis, T. T. (2019). Milk Emulsions: Structure and Stability. *Foods*, 8(10), 483. DOI: [10.3390/foods8100483](https://doi.org/10.3390/foods8100483).
 12. Brito, H., Santillán, A., Mercy, A., Ramos, E., Villalón, P., & Rincón, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*, 11(26), 257-268.
 13. Broderick, G. A., & Clayton, M. K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal Dairy Science*, 80(11), 2964-2971. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76262-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76262-3).
 14. Bruice, P. Y. (2011). *Organic Chemistry* (6th ed.). USA: Prentice Hall.
 15. Calvo, M. M., & Olano, A. (1989). Formation of galactose during heat treatment of milk and model systems. *Journal of Dairy Research*, 56(05), 737-740. DOI: [10.1017/s0022029902005897](https://doi.org/10.1017/s0022029902005897).
 16. Cerón-A., J. M. (2005). Síntesis de la leche. *Despertar Lechero*, pp. 53-64.
 17. Cho, Y.-H., Hong, S.-M., & Kim, C.-H. (2012). Determination of lactulose and furosine formation in heated milk as a milk quality indicator. *Korean Journal Food Science*, 32(5), 540-544. DOI: [10.5851/kosfa.2012.32.5.540](https://doi.org/10.5851/kosfa.2012.32.5.540).

18. Choudhary, S., Arora, S., Kumari, A., Narwal, V., & Sharma, V. (2017). Effect of quality of milk on Maillard reaction and protein oxidation during preparation of cow and buffalo milk *khoa*. *Journal of Food and Science Technology*, 54(9), 2737-2745. DOI: [10.1007/s13197-017-2710-9](https://doi.org/10.1007/s13197-017-2710-9).
19. Claeys, W. L., Ludikhuyze, L. R., & Hendrickx, M. E. (2001). Formation kinetics of hydroxymethylfurfural, lactulose and furosine in milk heated under isothermal and non-isothermal conditions. *Journal of Dairy Research*, 68(2), 287-301. DOI: [10.1017/s0022029901004745](https://doi.org/10.1017/s0022029901004745).
20. Claeys, W. L., Van, A. M., & Hendrickx, M. E. (2003). Kinetics of hydroxymethylfufural, lactulose, and furosine formation in milk with different fat content. *Journal of Dairy Research*, 70(1), 85-90. DOI: [10.1017/S0022029902005897](https://doi.org/10.1017/S0022029902005897).
21. Codex Alimentarius (2011). Norma General del Codex para el uso de términos lecheros. En OMS y FAO, *Codex Stan 206-1999. Leche y productos lácteos* (2ª ed.) (pp. 187-190). Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>.
22. Cortés-Yáñez, D. A., Gagneten, M., Leiva, G. E., & Malec, L. S. (2018). Antioxidant activity developed at the different stages of Maillard reaction with milk proteins. *Food Science and Technology*, 89, 344-349. DOI: [10.1016/j.lwt.2017.11.002](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.002).
23. Deeth, H. C., & Hartanto, J. (2009). Chemistry of milk—role of constituents in evaporation and drying. In A. Y. Tamime (Ed.), *Dairy powders and concentrated products* (pp. 1-27). Singapore: Blackwell Publising Ltd.
24. Delgado, T., Corzo, N., Santa-María, G., Jimeno, M. L., & Olano, A. (1992). Determination of furosine in milk samples by ion-pair reversed phase liquid chromatography. *Chromatographia*, 33(7-8), 374-376. DOI: [10.1007/BF02275921](https://doi.org/10.1007/BF02275921).

25. DePeters E. J., & Ferguson, J. D. (1992). Non-protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal Dairy Science*, 75(11), 3192-3209. DOI:[10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78085-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78085-0).
26. Early, R. (2012). Dairy products and milk-based food ingredients. In D. Baines and R. Seal (Eds.), *Natural food additives, ingredients and flavourings* (pp. 417-445). Cornwall, UK: Woodhead Publishing Limited.
27. Elliott, A. J., Datta, N., Amenu, B., & Deeth, H. C. (2005). Heat-induced and other chemical changes in commercial UHT milks. *Journal of Dairy Research*, 72(4), 442-446. DOI:[10.1017/S002202990500138X](https://doi.org/10.1017/S002202990500138X).
28. Erbersdobler, H. F., Dehn, B., Nangpal, A., & Reuter H. (1987). Determination of furosine in heat milk as a measure of heat intensity during processing. *Journal of Dairy Research*, 54(1), 147-151. DOI: [10.1017/S0022029900025255](https://doi.org/10.1017/S0022029900025255).
29. Eskin, N. A. M., & Shahidi, F. (Eds.) (2013). *Biochemistry of foods* (3rd ed.). USA: Academic Press.
30. FAO (2020). Portal lácteo. Recuperado de <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>.
31. FAO-PRODAR (2014). Procesados de lácteos. Fichas técnicas. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-au170s.pdf%20el%2013/02/19>.
32. Fernández-Fernández, E., Martínez-Hernández, J. A., Martínez-Suárez, V., Moreno-Villares, J. M., Collado-Yurrita, L. R., Hernández-Cabria, M., & Morán-Rey, F. J. (2015). Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 92-101. DOI:[10.3305/nh.2015.31.1.8253](https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8253).

33. Ferrer, E., Alegría, A., Courtois, G., & Farré, R. (2000). High-performance liquid chromatographic determination of Maillard compounds in store-brand and name-brand ultra-high-temperature-treated cows' milk. *Journal of Chromatography A*, 881(1-2), 599-606. DOI:[10.1016/S0021-9673\(00\)00218-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00218-1).
34. Fonseca-Santilla, E. (2009). Métodos no enzimáticos de isomerización de aldosas a cetosas. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 12(2), 66-74.
35. Fox, P. F. (2009). Lactose. En P. L. H. McSweeney & P. F. Fox (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents* (3rd ed.) (pp. 1-16). New York: Springer.
36. Fox, P. F. (2011). Milk. En J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Science* (2nd ed.) (Vol. 3) (pp. 458-466). UK: Academic Press.
37. Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2nd ed.). Switzerland: Springer. DOI: [10.1007/978-3-319-14892-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2).
38. Francisquini, J. D., Neves, L. N., Torres, J. K. F., Carvalho, A. F., Perrones, I. T., & DaSilva, P. H. F. (2018). Physico-chemical and compositional analyses and 5-hydroxymethylfurfural concentration as indicators of thermal treatment intensity in experimental dulce de leche. *Journal of Dairy Research*, 85(4), 476-481. DOI:[10.1017/S0022029918000353](https://doi.org/10.1017/S0022029918000353).
39. Gangurde, H. H., Chordiya M. A., Patil, P. S., & Baste, N. S. (2011). Whey protein. *Scholars' Research Journal*, 1(2), 69-77. DOI: [10.4103/2249-5975.99663](https://doi.org/10.4103/2249-5975.99663).
40. Gantner, V., Mijić, P., Baban, M., Škrtić, Z., & Turalija, A. (2015). The overall and fat composition of milk of various species.

- Mljekarstvo*, 65(4), 223-231. DOI: [10.15567/mljekarstvo.2015.0401](https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0401).
41. Gänzle, M. G., Haase, G., & Jelen, P. (2008). Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. *International Dairy Journal*, 18(7), 685-694. DOI: [10.1016/j.idairyj.2008.03.003](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.003).
 42. García-Márquez, R. (1999). *Evaluación de las características de textura y color en la leche de vaca*. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, México.
 43. Giménez, A., Ares, G., & Gámbaro, A. (2008a). Consumer perception of sandiness in dulce de leche. *Journal of Sensory Studies*, 23(2), 171-185. DOI: [10.1111/j.1745-459X.2007.00148.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00148.x)
 44. Giménez, A., Ares, G., & Gámbaro, A. (2008b). Consumer reaction to changes in sensory profile of dulce de leche due to lactose hydrolysis. *International Dairy Journal*, 18(9), 951-955. DOI: [10.1016/j.idairyj.2007.12.007](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.12.007).
 45. Gordon, M., MacDonald, J. K., Parker, C.E., Akobeng, A. K., & Thomas, A. G. (2016). Osmotic and stimulant laxatives for the management of childhood constipation. In *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 17(8). DOI: [10.1002/14651858.CD009118.pub3](https://doi.org/10.1002/14651858.CD009118.pub3).
 46. Gu, F.-L., Kim, J. M., Abbas, S., Zhang, X.-M., Xia, S.-H., & Chen, Z.-X. (2010). Structure and antioxidant activity of high weight Maillard reaction products from casein-glucose. *Food Chemistry*, 120(2), 505-511. DOI: [10.1016/j.foodchem.2009.10.044](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.044).
 47. Gutiérrez, L.-F., Hamoudi, S., & Belkacemi, K. (2012). Lactobionic acid: A high value-added lactose derivative for food and pharmaceutical applications. *International Dairy Journal*, 26(2), 103-111. DOI: [10.1016/j.idairyj.2012.05.003](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.05.003).

48. Hellwig, M., Degen, J., & Henle, T. (2010). 3-Deoxygalactosone, a "new" 1,2-dicarbonyl compound in milk products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10752-10760. DOI: [10.1021/jf102388v](https://doi.org/10.1021/jf102388v).
49. Hernández-Rojas, M., & Vélez-Ruíz, J. F. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8(2), 13-22.
50. Hewedy, M. M., Kiesner, C., Meissner, K., Hartkopf, J., & Erbersdobler, H. F. (1994). Effect of UHT heating of milk in an experiment plant on several indicators of heat treatment. *Journal of Dairy Research*, 61(2), 305-309. DOI: [10.1017/S0022029900028326](https://doi.org/10.1017/S0022029900028326).
51. IDF (2018). Heat Treatment of Milk - Overview. Doc. 2018-02. International Dairy Federation, Brussels. Recuperado de <https://google.com.mx/?hl=es&tab=rT1#view=home&op=translate&sl=en&tl=es&text=Heat%20Treatment%20of%20Milk%20-%20Overview>.
52. IUPAC (2014-02-24). *Compendium of Chemical Terminology: Gold Book (Version 2.3.3)* [pdf file]. Recuperado de <https://goldbook.iupac.org/files/pdf/goldbook.pdf>.
53. Jansson, T., Clausen, M. R., Sundekilde, U. K., Eggert, N., Nyegaard, S., Larsen, L. B., Ray, C., Sundgren, A., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2014). Lactose-hydrolyzed milk is more prone to chemical changes during storage than conventional ultra-high-temperature (UHT) milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31), 7886-7896. DOI: [10.1021/jf501671z](https://doi.org/10.1021/jf501671z).
54. Kalapos, M. P. (2008). The tandem of free radicals and methylglyoxal. *Chemico-Biological Interactions*, 171(3), 251-271. DOI: [10.1016/j.cbi.2007.11.009](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.11.009).

55. Kanzler, C., Haase, P. T., & Kroh, L. W. (2014). Antioxidant capacity of 1-deoxy-D-erythro-hexo-2,3-diulose and D-arabino-hexo-2-ulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(13), 2837-2844. DOI: [10.1021/jf404322r](https://doi.org/10.1021/jf404322r).
56. Kanzler, C., Haase, P. T., Schestkova, H., & Kroh, L. W. (2016). Antioxidant properties of heterocyclic intermediates of the Maillard reaction and structurally related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(41), 7829-7837. DOI: [10.1021/acs.jafc.6b03398](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03398).
57. Le, T. T., Holland, J. W., Bhandari, B., Alewood, P. F., & Deeth, H. C. (2013). Direct evidence for the role of Maillard reaction products in protein cross-linking in milk powder during storage. *International Dairy Journal*, 31(2), 83-91. DOI: [10.1016/j.idairyj.2013.02.013](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.02.013).
58. Ledl, F. (1984). Bildung von Aminoreduktionen aus Disacchariden. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 179, 381-384.
59. Ledl, F., Ellrich, G., & Klostermeyer, H. (1986). Nachweis und Identifizierung einer neuen Maillard-Verbindung in erhitzter Milch. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 182, 19-24. DOI: [10.1007/BF01079885](https://doi.org/10.1007/BF01079885).
60. Lewis, M. J., & Deeth, H. C. (2009). Heat treatment of milk. En A. Y. Tamime (Ed.), *Milk processing and quality management* (pp. 169-203). Singapore: Blackwell Publishing Ltd.
61. López-García, J. C. et al. (2011). *Técnicas para la transformación de leche de cabra en zonas marginales*. Libro técnico No. 12. Campo Experimental Zacatecas. SAGARPA-INIFAP: México.
62. López-Solano, E., Villegas-Aparicio, Y., Gómez-Vázquez, A., Vinay-Vadillo, J. C., Mendoza-Martínez, G. D., Plascencia-Jorquera, A., Hernández-Garay, A., Hernández-Bautista, J., Carrillo-

- Rodríguez, J. C., & Hernández-Santiago, J. (2011). Contenido de urea láctea en lactación de bovinos en el trópico húmedo veracruzano. *Universidad y Ciencia*, 27(2), 199-208.
63. Lykos, T., Varga G. A., & Casper, D. (1997). Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: effects on ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production and composition in high producing Holstein cows. *Journal Dairy Science*, 80(12), 3341-3355. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76310-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76310-0).
64. McCarthy, O. J. (2011). Physical and Physico-Chemical Properties of Milk. En J. W. Fuquay, P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Science* (2nd ed.) (Vol. 3) (pp. 467-477). UK: Academic Press.
65. Mehta, B. M., & Deeth, H. C. (2016). Blocked lysine in dairy products: formation, occurrence, analysis, and nutritional implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 206-218. DOI: [10.1111/1541-4337.12178](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12178).
66. Meltretter, J., Wüst, J., & Pischetsrieder, M. (2014). Modified peptides as indicators for thermal and nonthermal reactions in processed milk. *J. Agric. Food Chem.*, 62(45), 10903–10915. DOI: [10.1021/jf503664y](https://doi.org/10.1021/jf503664y).
67. Meyer, B., Al-Diab, D., Vollmer, G., & Pischetsrieder, M. (2011). Mapping the glycoxidation product N^ε-carboxymethyllysine in the milk proteome. *Proteomics*, 11(3), 420–428. DOI: [10.1002/pmic.201000233](https://doi.org/10.1002/pmic.201000233).
68. Milkovska-Stamenova, S., & Hoffmann, R. (2016). Identification and quantification of bovine lactosylation sites in different milk products. *Journal of Proteomics*, 134, 112-126. DOI: [10.1016/j.jprot.2015.07.021](https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.07.021).
69. Moinuddin, S. A., Dixit, K., Shahab, U., Alam, K., & Ali, A. (2011) Genotoxicity and immunogenicity of DNA-advanced

- glycation end products formed by methylglyoxal and lysine in presence of Cu^{2+} . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 407(3), 568-574. DOI:[10.1016/j.bbrc.2011.03.064](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.03.064).
70. Morales, F. J. (2009). Hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. In R. H. Stadler & D. R. Lineback, *Process-Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks* (pp. 135-174). USA: John Wiley & Sons, Inc.
71. Morales, F. J., & Arnoldi, A. (1999). Analysis of galactosylisomaltol in milk systems using HPLC. *Food Chemistry*, 67(2), 185-191. DOI: [10.1016/S0308-8146\(99\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00120-X).
72. Morales, F. J., & Jiménez, S. (2001). Hydroxymethylfurfural determination in infant milk-based formulas by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chemistry*, 72(4), 525-531. DOI: [10.1016/S0308-8146\(00\)00284-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00284-3).
73. Morales, F. J., & Jiménez-Pérez, S. (1999). HMF formation during heat-treatment of milk-type products as related to milkfat content. *Journal of Food Science*, 64(5), 855-859. DOI: [10.1111/j.1365-2621.1999.tb15927.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15927.x).
74. Moreaux, V., & Birlouez-Aragon, I. (1997). Degradation of tryptophan in heated β -lactoglobulin-lactose mixtures is associated with intense Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1905-1910. DOI: [10.1021/jf9605005](https://doi.org/10.1021/jf9605005).
75. Moreno, F. J., Villamiel, M., & Olano, A. (2003). Effect of high pressure on isomerization and degradation of lactose in alkaline media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1894-1896. DOI: [10.1021/jf020624j](https://doi.org/10.1021/jf020624j).
76. Morgan, F., Appolonia-Nouzille, C., Baechler, R., Vuataz, G., & Raemy, A. (2005). Lactose crystallisation and early Maillard

- reaction in skim milk powder and whey protein concentrates. *Lait*, 85, 315-323. DOI: [10.1051/lait:2005017](https://doi.org/10.1051/lait:2005017).
77. Nishimukai, M., Watanabe, J., Taguchi, H., Senoura, T., Hamada, S., Matsui, H., Yamamoto, T., Wasaki, J., Hara, H., & Ito, S. (2008). Effects of epilactose on calcium absorption and serum lipid metabolism in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10340-10345. DOI: [10.1021/jf801556m](https://doi.org/10.1021/jf801556m).
78. Nishimura, J., Kawai, Y., Aritomo, R., Ito, Y., Makino, S., Ikegami, S., Isogai, E., & Saito, T. (2013). Effect of Formic Acid on Exopolysaccharide Production in Skim Milk Fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Bioscience of microbiota, food and health*, 32(1), 23-32. DOI: [10.12938/bmfh.32.23](https://doi.org/10.12938/bmfh.32.23).
79. Nooshkam, M., Babazadeh, A., & Jooyandeh, H. (2018). Lactulose: Properties, techno-functional food-applications, and food grade delivery system. *Trends in Food Science & technology*, 80, 23-34. DOI: [10.1016/j.tifs.2018.07.028](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.028).
80. Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012. *Leche. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba*, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 15 de marzo de 2012.
81. Norma Oficial Mexicana NOM-183-SCFI-2012. *Producto lácteo y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba*, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de mayo de 2012.
82. Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. *Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba*, publicada el 25 de junio de 2010.

83. Nursten, H. (2011). Maillard Reaction. En J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Science* (2nd ed.) (Vol. 3) (pp. 217-235). UK: Academic Press.
84. Olano, A., & Calvo, M. M. (1989). Kinetics of lactulose, galactose and epilactose formation during heat-treatment of milk. *Food Chemistry*, 34(4), 239-248. DOI: [10.1016/0308-8146\(89\)90101-5](https://doi.org/10.1016/0308-8146(89)90101-5).
85. Olano, A., & Corzo, N. (2009). Lactulose as a food ingredient. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(12) 1987-1990. DOI: [10.1002/jsfa.3694](https://doi.org/10.1002/jsfa.3694).
86. Olano, A., Calvo, M. M., & Corzo N. (1989). Changes in the carbohydrate fraction of milk during heating processes. *Food Chemistry*, 31(4), 259-265. DOI: [10.1016/0308-8146\(89\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0308-8146(89)90067-8).
87. O'Mahony, J. A., & Fox, P.F. (2014). Milk: An Overview. En H. Singh, M. Boland & A. Thompson (Eds.), *Milk Protein: From Expression to Food* (2nd ed.) (pp. 19-73). USA: Academic Press.
88. Oshima, H., Kimura, I., & Izumori, K. (2006). Psicose contents in various food products and its origin. *Food Science and Technology Research*, 12(2), 137-143. DOI: [10.3136/fstr.12.137](https://doi.org/10.3136/fstr.12.137).
89. Patrignani, M., Rinaldi, G. J., Rufián-Henares, J. A., & Lupano, C. E. (2019). Antioxidant capacity of Maillard reaction products in the digestive tract: An *in vitro* and *in vivo* study. *Food Chemistry*, 276, 15, 443-450. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.10.055](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.055).
90. Pedraza, G. C., Mansilla M. A., Merucci, D. F., Pinedo, P., & Contreras, C. H. (2006). Niveles de urea láctea en vacas de la región del Bío-bío, Chile. *Agricultura técnica*, 66(3), 264-270.
91. Pellegrino, L., & Cattaneo, S. (2001). Occurrence of galactosyl isomaltol and galactosyl β -pyranone in commercial drinking milk. *Food/Nahrung*, 45(3), 195-200. DOI: [10.1002/1521-3803\(20010601\)45:3<195::AID-FOOD195>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20010601)45:3<195::AID-FOOD195>3.0.CO;2-A).

92. Peña-Castellanos, F. (2002, junio). Importancia del nitrógeno ureico de la leche: Índice para evaluar la eficiencia productiva y reproductiva de las vacas lecheras. *Revista Acovez*, 27(1). Recuperado de <https://encolombia.com/veterinaria/publi/acovez/ac271/revacovez27102-importancianitro/>.
93. Petrotos, K., Tsakali, E., Goulas, P., & D'Alessandro, A. G. (2014). Casein and whey proteins in human health. In A. Kanekanian (Ed.), *Milk and dairy products as functional foods* (pp. 94-146). UK: John Wiley & Sons, Ltd. DOI: [10.1002/9781118635056.ch4](https://doi.org/10.1002/9781118635056.ch4).
94. Pischetsrieder, M., Schoetter, C., & Severin, T. (1998). Formation of an aminoreductone during the maillard reaction of lactose with N α -acetyllysine or proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 928-931. DOI: [10.1021/jf970843i](https://doi.org/10.1021/jf970843i).
95. Prosser, C. G., Carpenter, E. A., & Hodgkinson, A. J. (2019). N ϵ -carboxymethyllysine in nutritional milk formulas for infants. *Food Chemistry*, 274, 886–890. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.09.069](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.069).
96. Rahman, S. A., & Hadi, S. M. (1991). Reaction of furfural and methylfurfural with DNA: Use of single-strand-specific nucleases. *Food and Chemical Toxicology*, 29(10), 719-721. DOI: [10.1016/0278-6915\(91\)90131-p](https://doi.org/10.1016/0278-6915(91)90131-p).
97. Ramonaitytė, D. T., Keršienė, M., Adams, A., Tehrani, K. A., & De Kimpe, N. (2009). The interaction of metal ions with Maillard reaction products in a lactose–glycine model system. *Food Research International*, 42(3), 331-336. DOI: [10.1016/j.foodres.2008.12.008](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.008).
98. Rodríguez, A., Lema, P., Bessio, M. I., Moyna, G., Panizzolo, L. A., & Ferreira, F. (2019). Isolation and Characterization of

- Melanoidins from Dulce de Leche, A Confectionary Dairy Product. *Molecules*, 24(22), 4163. DOI: [10.3390/molecules24224163](https://doi.org/10.3390/molecules24224163).
99. Romero del Castillo-Shelly, R., & Mestres-Lagarriga, J. (2004). *Productos Lácteos: Tecnología*. Cataluña: Edicions UPC, S.L.
100. Roy, S., Chikkerur, J., Roy, S. C., Dhali, A., Kolte, A. P., Sridhar, M., & Samanta, A. K. (2018). Tagatose as a potential nutraceutical: Production, properties, biological roles, and applications. *Journal of Food Science*, 83(11), 2699-2709. DOI: [10.1111/1750-3841.14358](https://doi.org/10.1111/1750-3841.14358).
101. Rutherford, S. M., & Moughan, P. J. (2005). Digestible reactive lysine in selected milk-based products. *Journal of Dairy Sciences*, 88(1), 40-48. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72660-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72660-6)
102. Sakkas, L., Moutafi, A., Moschopoulou, E., & Moatsou, G. (2014). Assessment of heat treatment of various types of milk. *Food Chemistry*, 159, 293-301. DOI: [10.1016/j.foodchem.2014.03.020](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.020).
103. Sánchez-Hernández, V. B. (2018). *Evaluación del rendimiento de la producción de lactulosa a partir de lactosa presente en lactosuero*. Tesis de Licenciatura en Química de Alimentos, UNAM.
104. Schmidt, A., Boitz, L. I., & Mayer, H. K. (2017). A new UHPLC method for the quantitation of furosine as heat load indicator in commercial liquid milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 104-109. DOI: [10.1016/j.jfca.2016.12.014](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.014).
105. Seiquer, I., Delgado-Andrade, C., Haro, A., & Navarro, M. P. (2010). Assessing the effects of severe heat treatment of milk on calcium bioavailability: In vitro and in vivo studies. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5635-5643. DOI: [10.3168/jds.2010-3469](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3469).
106. Seki, N., & Saito, H. (2012). Lactose as a source for lactulose and other functional lactose derivatives. *International Dairy Journal*, 22(2), 110-115. DOI: [10.1016/j.idairyj.2011.09.016](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.09.016).

107. Shallenberger, R. S. (1993). *Taste Chemistry*. Springer Science and Business Media. DOI: [10.1007/978-1-4615-2666-7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2666-7).
108. Sharma, A., Shilpa-Shree, B. G., Arora, S., & Tomar, S. K. (2015). Lactose-Zinc complex preparation and evaluation of acceptability of complex in milk. *Food Science and Technology*, *64*(1), 275-281. DOI: [10.1016/j.lwt.2015.05.056](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.056).
109. Sharma, P., Patel, H., & Patel, A. (2016). Evaporated and sweetened condensed milks. In R. C. Chandan, A. Kilara, & N. P. Shah, *Dairy processing and quality assurance* (2nd ed.) (pp. 310-332). Chichester, UK: John Wiley & Sons. DOI: [10.1002/9781118810279](https://doi.org/10.1002/9781118810279).
110. Shendurse, A. M., & Khedkar, C. D. (2016). Lactose. En B. Caballero, P. M., Finglas & F., Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (Vol. 2) (pp. 509-516). UK: Academic Press.
111. Shimamura, T., Kurogi, Y., Katsuno, S., Kashiwagi, T., & Ukeda, H. (2011). Demonstration of the presence of aminoreductone formed during the Maillard reaction in milk. *Food Chemistry*, *129*(3), 1088-1092. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.05.079](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.079).
112. Smit, G. (2003). *Dairy Processing. Improving Quality*. (2nd ed.). England: Woodhead Publishing Limited.
113. Solak, B. B., & Akin, N. (2012). Health benefits of whey proteins: A review. *Journal of Food Science and Engineering*, *2*, 129-137. DOI: [10.17265/2159-5828/2012.03.001](https://doi.org/10.17265/2159-5828/2012.03.001).
114. Stich, H. F., Rosin, M. P., Wu, C. H., & Powrie, W. D. (1981). Clastogenicity of furans found in food. *Cancer Letters*, *13*(2), 89-95. [10.1016/0304-3835\(81\)90133-6](https://doi.org/10.1016/0304-3835(81)90133-6).
115. Stojanovska, S., Gruevska, N., Tomovska, J., Tasevska, J., Krstanovski, A., & Menkovska, M. (2017). Maillard reaction and

- lactose structural changes during milk processing. *Chemistry Research Journal*, 2(6), 139–145. Recuperado de <http://chemrj.org>
116. Suyama, K., Sasaki, A., Oritani, T., & Hosono, A. (2011). Identification of lactose ureide, a urea derivative of lactose, in milk and milk products. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5857-5863. DOI: [10.3168/jds.2011-4704](https://doi.org/10.3168/jds.2011-4704).
 117. Swaisgood, H. E. (2008). Characteristics of Milk. En S. Damodaran, K. I. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (4th ed.) (pp. 885-921). Boca Raton: CRC Press.
 118. Trang, V. T., Shimamura, T., Kashiwagi, T., Ukeda, H., & Katsuno, S. (2011). Elucidation of mechanism of aminoreductone formation in the Maillard reaction of lactose. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 188-196. DOI: [10.1111/j.1471-0307.2010.00648.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00648.x).
 119. Troyano, E., Martínez-Castro, I., & Olano, A. (1992a). Kinetics of galactose and tagatose formation during heat treatment of milk. *Food Chemistry*, 45(1), 41-43. DOI: [10.1016/0308-8146\(92\)90010-Y](https://doi.org/10.1016/0308-8146(92)90010-Y).
 120. Troyano, E., Olano, A., Fernández-Díaz, M., Sanz, J., & Martínez-Castro, I. (1991). Gas Chromatographic analysis of free monosaccharides in milk. *Chromatographia*, 32, 379-382. DOI: [10.1007/BF02321437](https://doi.org/10.1007/BF02321437).
 121. Troyano, E., Olano, A., Jimeno, M. L., Sanz, J., & Martínez-Castro, I. (1992b). Isolation and characterization of 3-deoxypentulose and its determination in heated milk. *Journal of Dairy Research*, 59(4), 507-515. DOI: [10.1017/S0022029900027175](https://doi.org/10.1017/S0022029900027175).
 122. Van Boekel, M. A. J. S. (1998). Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry*, 62(4), 403-414. DOI: [10.1016/S0308-8146\(98\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00075-2).

123. Villamiel, M., Corzo, N., Martínez-Castro, I. & Olano, A. (1996). Chemical changes during microwave treatment of milk. *Food Chemistry*, 56(4), 385-388. DOI:[10.1016/0308-8146\(95\)00196-4](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00196-4).
124. Von Rymon, G. W. (2006). Reduced-calorie sweeteners and caloric alternatives. En Spillane, W. J., *Optimising Sweet Taste in Foods*. (pp. 252-282). Cambridge, England: Woodhead Publishing.
125. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy science and technology* (2nd ed.). Boca Raton, Florida: CRC Press.
126. Wang, H. Y., Qian, H., & Yao, W. R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), 573-584. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.03.075](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.075).
127. Watanabe, J., Nishimukai, M., Taguchi, H., Senoura, T., Hamada, S., Matsui, H., Yamamoto, T., Wasaki, J., Hara, H., & Ito, S. (2008). Prebiotic properties of epilactose. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4518-4526. DOI: [10.3168/jds.2008-1367](https://doi.org/10.3168/jds.2008-1367).
128. Wijesinha-Bettoni, R., & Burlingame, B. (2013). *Milk and dairy product composition*. En E. Muehlhoff, A. Bennett & D. McMahon (Eds.) (2013), *Milk and dairy products in human nutrition* (pp. 41 - 102) Rome: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf>.
129. Wong, D. W. S. (2018). *Mechanism and Theory in Food Chemistry* (2nd ed.). Cham, Switzerland: Springer.
130. Zhang, Y., Zhang, S., Guan, W., Chen, F., Chen, L., Lv, Y., & Chen, J. (2018). GLUT1 and lactose synthetase are critical genes for lactose synthesis in lactating sows. *Nutrition & Metabolism*, 15(40) 1-13. DOI: [10.1186/s12986-018-0276-9](https://doi.org/10.1186/s12986-018-0276-9).
131. Zhao, D., Li, L., Le, T. T., Larsen, L. B., Xu, D., Jiao, W., Sheng, B., Li, B., & Zhang, X. (2019). Digestibility of glycated milk

- proteins and the peptidomics of their in vitro digests. *Journal of Science Food and Agriculture*, 99(6), 3069-3077. DOI: [10.1002/jsfa.9520](https://doi.org/10.1002/jsfa.9520).
132. Zhao, Y., Liu, Y., & Chen, K. (2016). Mechanisms and clinical application of tetramethylpyrazine (an interesting natural compound isolated from *Ligusticum Wallichii*): Current status and perspective. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Vol. 2016. DOI: [10.1155/2016/2124638](https://doi.org/10.1155/2016/2124638).
133. Zimmer, F. C., Gohara, A. K., De Souza, A. H. P., Matsushita, M., De Sousa, N. E., & Rodrigues, A. C. (2017). Obtainment, quantification and use of lactulose as a functional food – a review. *Food Science Technology*, 37(4), 515-521. DOI: [10.1590/1678-457x.03817](https://doi.org/10.1590/1678-457x.03817).
134. Zunino, A. (1997). Dulce de leche: Aspectos básicos para su adecuada elaboración. Recuperado de <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/03/560.pdf>.