



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE LACTOSUERO
DULCE, DESLACTOSADO BOVINO Y CAPRINO ADICIONADA
CON PULPA DE FRUTA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

DAFNE LORENA JACALES ROJAS



MÉXICO, D.F.

2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: Juan Diego Ortíz Palma Pérez

VOCAL: Gabriela Alatorre García

SECRETARIO: Aurora Hilda Ramírez Pérez

1er. SUPLENTE: Armando Conca Torres

2° SUPLENTE: Juan Carlos Ramírez Orejel

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA,
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

ASESORA DEL TEMA:

Dra. Aurora Hilda Ramírez Pérez

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. Juan Carlos Ramírez Orejel

SUSTENTANTE:

Dafne Lorena Jacales Rojas

ESTE TRABAJO FUE FINANCIADO POR EL PROYECTO PAPIIT IT 201013 “ELABORACIÓN DE BEBIDAS PARA CONSUMO HUMANO A BASE DE LACTOSUERO DE LECHE, QUE CONTRIBUYAN A MEJORAR LA ALIMENTACIÓN Y DISMINUIR EL IMPACTO AMBIENTAL CAUSADO POR LA ELIMINACIÓN DE LACTOSUERO”, BAJO LA RESPONSABILIDAD DE LA DOCTORA AURORA HILDA RAMÍREZ-PERÉZ.

“Paneb el Ardiente disfrutó de la mejor comida de su corta vida. El pan era crujiente, la carne sabrosa, tiernas las lentejas y la cerveza suave. Un queso de cabra completaba el festín.”

-La Piedra de Luz, Nefér El Silencioso. Christian Jacq.

ÍNDICE TEMÁTICO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	6
I.1 LACTOSUERO DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN Y COMPOSICIÓN	6
<i>I.1.1 Lactosa</i>	9
<i>I.1.2 Proteínas del suero</i>	10
<i>I.1.3 Vitaminas</i>	13
I.2 IMPACTO AMBIENTAL POR LACTOSUERO.....	14
<i>I.2.1 Generación de las aguas residuales de lactosuero (CWW)</i>	14
<i>I.2.2 Métodos biológicos para el tratamiento de lactosuero (CW)</i>	15
<i>I.2.3 Métodos fisicoquímicos para el tratamiento de lactosuero (CW)</i>	18
<i>I.2.4 Métodos alternativos de reúso en la agricultura</i>	19
I.3 IMPORTANCIA DEL LACTOSUERO EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS	22
<i>I.3.1 Productos de lactosuero concentrados y deshidratados</i>	22
<i>I.3.2 Concentrados, hidrolizados y aislados de proteína</i>	23
<i>I.3.3 Fórmulas infantiles</i>	26
<i>I.3.4 Generación de biomasa</i>	26
<i>I.3.5 Yogurt y queso a base de lactosuero</i>	26
<i>I.3.6 Biopelículas y su aplicación en empaques</i>	27
I.4 BEBIDAS, UN SECTOR POTENCIAL PARA EL LACTOSUERO.....	28
<i>I.4.1 Bebidas alcohólicas de lactosuero</i>	28
<i>I.4.2 Bebidas no alcohólicas de lactosuero</i>	29
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	33
II.1 PRIMERA ETAPA: RECOLECCIÓN, ACONDICIONAMIENTO Y DESLACTOSADO DEL LACTOSUERO	34
II.2 ANÁLISIS COMPOSICIONAL (AOAC, 1990).	36
II.3 SEGUNDA ETAPA: FORMULACIÓN, DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS BEBIDAS	37
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
III.1 CARACTERIZACIÓN DEL LACTOSUERO RECOLECTADO.	42
III.2 CARACTERIZACIÓN DEL LACTOSUERO DESCREMADO Y PASTEURIZADO.	45
III.3 PROCESO DE DESLACTOSADO Y COMPOSICIÓN PROXIMAL DEL LACTOSUERO.....	46
III.4 FORMULACIÓN Y DESARROLLO DE LAS PRIMERAS BEBIDAS (SABOR MANGO).	49
III.5 FORMULACIÓN Y DESARROLLO DE LAS BEBIDAS FINALES.	54
III.6 ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL	61
CONCLUSIONES	65
PERSPECTIVAS	67
ANEXOS	68
BIBLIOGRAFÍA	75

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. APARIENCIA DE LACTOSUERO DULCE BOVINO.....	6
FIGURA 2. FÓRMULA ESTRUCTURAL DE LA A Y B-LACTOSA (PROYECCIÓN HAWORTH) TOMADA DE FOX, 2011.	9
FIGURA 3. ESTRUCTURA DIMÉRICA DE LA B-LG A. (TOMADO DE DELANO, 2002 EN EDWARDS, 2009).	11
FIGURA 4. ESTRUCTURA DE LA A-LA BOVINA QUE MUESTRA EL SITIO DE UNIÓN DEL IÓN Ca^{2+} (COLOR AMARILLO). TOMADA DE DELANO, 2002, EN EDWARDS, 2009.	11
FIGURA 5. ESTRUCTURA DE HSA COMPLEJO CON HALOTANO, PARCIALMENTE OCUPANDO SIETE SITIOS DISTINTOS Y ÁCIDO MIRÍSTICO OCUPANDO PLENAMENTE CINCO SITIOS DISTINTOS. TOMADA DE DELANO, 2002, EN EDWARDS, 2009.	12
FIGURA 6. A) ESTRUCTURA DE LA MOLÉCULA DE IGG1 HUMANA. B) ESTRUCTURA DE LA LF BOVINA. TOMADAS DE DELANO, 2002, EN EDWARDS, 2009.	13
FIGURA 7. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA DEL QUESO. PRINCIPALES FORMAS DE VALORIZACIÓN. RESUMEN DE LOS SISTEMAS ACTUALES DE TRATAMIENTO Y FUTURAS SOLUCIONES. (TOMADO DE CARVALHO, ET AL., 2013).	21
FIGURA 8. DIAGRAMA GENERAL DE LA METODOLOGÍA.	33
FIGURA 9. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE PULPA DE MANGO MANILA Y/O ATAULFO.	37
FIGURA 10. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE LACTOSUERO DULCE, DESCREMADO Y DESLACTOSADO ADICIONADA CON PULPA DE MANGO.	38
FIGURA 11. MODELO GRÁFICO DE UN SET PARA PRUEBA DE PREFERENCIA PAREADA.	38
FIGURA 12. ESCALA HEDÓNICA DE NUEVE PUNTOS EMPLEADA EN ESTE ESTUDIO PARA LA PRUEBA DE NIVEL DE AGRADO.	39
FIGURA 13. CUESTIONARIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL APLICADO A 50 PERSONAS, PARA DETERMINAR PREFERENCIA Y NIVEL DE AGRADO DE LAS BEBIDAS EN FUNCIÓN AL TIPO MANGO.	40
FIGURA 14. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE LACTOSUERO DULCE, DESCREMADO Y DESLACTOSADO ADICIONADA CON PULPA ESTANDARIZADA DE FRUTA.	41
FIGURA 15. ACTIVIDAD DE LA B-GALACTOSIDASA ⁶ SOBRE LA HIDRÓLISIS DE LA LACTOSA PRESENTE EN EL LACTOSUERO DULCE DE ORIGEN CAPRINO.	47
FIGURA 16. NIVEL DE AGRADO DE LA BEBIDA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE MANGO CON EL QUE SE ELABORÓ LA PULPA ADICIONADA.	52
FIGURA 17. PORCENTAJE DE ACEPTACIÓN DE LA BEBIDA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE MANGO CON QUE SE ELABORÓ LA PULPA ADICIONADA.	53
FIGURA 18. BEBIDAS DESARROLLADAS CON LACTOSUERO CAPRINO.	56
FIGURA 19. BEBIDAS DESARROLLADAS CON LACTOSUERO BOVINO.	56
FIGURA 20. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDAS SABOR MANZANA DE LACTOSUERO CAPRINO (IZQUIERDA) Y BOVINO (DERECHA).	61
FIGURA 21. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDAS SABOR GUAYABA DE LACTOSUERO CAPRINO (IZQUIERDA) Y BOVINO (DERECHA).	62
FIGURA 22. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDAS SABOR DURAZNO DE LACTOSUERO CAPRINO (IZQUIERDA) Y BOVINO (DERECHA).	62
FIGURA 23. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDAS SABOR FRESA DE LACTOSUERO CAPRINO (IZQUIERDA) Y BOVINO (DERECHA).	63
FIGURA 24. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDA DE LACTOSUERO CAPRINO SABOR MANGO (IZQUIERDA) Y BEBIDA COMERCIAL SABOR MANGO (DERECHA).	64

FIGURA 25. ETIQUETAS DE INFORMACIÓN NUTRIMENTAL DE BEBIDA DE LACTOSUERO BOVINO SABOR MANGO (IZQUIERDA) Y BEBIDA COMERCIAL SABOR MANGO (DERECHA)	64
FIGURA 26. CURVA PATRÓN DE LACTOSA, PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES POR EL MÉTODO DNS.....	68
FIGURA 27. NÚMERO MÍNIMO DE JUICIOS CORRECTOS PARA ESTABLECER SIGNIFICANCIA A VARIOS NIVELES DE PROBABILIDAD, PARA PRUEBAS DE PREFERENCIA PAREADA Y DUO-TRIO. (UNA-COLA, $P=1/2$) ^A	72

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE LACTOSUERO DULCE Y ÁCIDO.....	7
TABLA 2. COMPOSICIÓN QUÍMICA PARA LACTOSUERO DULCE Y ÁCIDO, DATOS RECOPIADOS DE DIVERSAS FUENTES.....	8
TABLA 3. COMPARACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE VITAMINAS DEL LACTOSUERO CON VALORES DE INGESTA DIARIA RECOMENDADA (IDR).	13
TABLA 4. ESPECIFICACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL LACTOSUERO EN POLVO NO HIGROSCÓPICO, LACTOSUERO EN POLVO DESMINERALIZADO Y LACTOSUERO EN POLVO DESLACTOSADO.	23
TABLA 5. VALOR BIOLÓGICO DE ALGUNAS FUENTES COMUNES DE PROTEÍNA.	24
TABLA 6. ESPECIFICACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS CONCENTRADOS DE PROTEÍNA DE LACTOSUERO Y AISLADOS DE PROTEÍNA DE LACTOSUERO.....	25
TABLA 7. CLASIFICACIÓN DE LOS SUEROS PRODUCIDOS EN EL CEPIPSA.	42
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS LACTOSUEROS RECOLECTADOS EN EL CEPIPSA EN COMPARACIÓN CON VALORES DE REFERENCIA.....	42
TABLA 9. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL LACTOSUERO CAPRINO ANTES Y DESPUÉS DE SER DESCREMADO Y PASTEURIZADO.	45
TABLA 10. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL LACTOSUERO BOVINO, ANTES Y DESPUÉS DE SER DESCREMADO Y PASTEURIZADO.	45
TABLA 11. PORCENTAJE DE AZÚCARES REDUCTORES, REGISTRADO CADA TRES MINUTOS, DURANTE EL PROCESO DE DESLACTOSADO PARA LACTOSUERO DULCE DE ORIGEN CAPRINO.	47
TABLA 12. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL LACTOSUERO CAPRINO DESCREMADO/PASTEURIZADO, ANTES Y DESPUÉS DE SER DESLACTOSADO.	48
TABLA 13. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL LACTOSUERO BOVINO DESCREMADO/PASTEURIZADO, ANTES Y DESPUÉS DE SER DESLACTOSADO.	49
TABLA 14. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS PULPAS DE MANGO FABRICADAS EN EL LABORATORIO.	49
TABLA 15. FORMULACIÓN PRUEBA PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO DULCE DE BOVINO Y CAPRINO USANDO PULPA DE MANGO (MANILA O ATAULFO) PARA CONFERIR SABOR.....	50
TABLA 16. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS BEBIDAS DE LACTOSUERO BOVINO CON PULPA DE MANGO ATAULFO Y MANILA.....	51
TABLA 17. COMPARACIÓN ENTRE LA COMPOSICIÓN DE LA PULPA COMERCIAL Y LA PULPA DE MANGO MANILA ELABORADA EN EL LABORATORIO.	54
TABLA 18. FORMULACIÓN FINAL PARA LA ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO DULCE DE BOVINO Y CAPRINO USANDO PULPA ESTANDARIZADA DE FRUTA PARA CONFERIR SABOR	55
TABLA 19 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO DULCE, DESCREMADO, PASTEURIZADO Y DESLACTOSADO DE ORIGEN CAPRINO.....	57
TABLA 20. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS BEBIDAS A BASE DE LACTOSUERO DULCE, DESCREMADO, PASTEURIZADO Y DESLACTOSADO DE ORIGEN BOVINO.....	58
TABLA 21. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PORCENTAJE DE PROTEÍNA Y CARBOHIDRATOS REDUCTORES PRESENTE EN LAS BEBIDAS PARA SABER SI HAY O NO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.	60
TABLA 22. RESULTADOS DE LA PRUEBA NIVEL DE AGRADO PARA BEBIDAS SABOR MANGO MANILA Y ATAULFO, USANDO ESCALA HEDÓNICA DE NUEVE PUNTOS.	70
TABLA 23. RESULTADOS DE LA PRUEBA PREFERENCIA PAREADA PARA BEBIDAS SABOR MANGO MANILA Y ATAULFO.....	73

RESUMEN

El lactosuero es considerado un desecho altamente contaminante por sus valores de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5) y Demanda Química de Oxígeno (DQO) que al ser vertido sin tratamiento alguno en el drenaje o extensiones de agua; representa una amenaza para el medio ambiente. Desperdiciando a la vez el alto valor nutritivo que éste posee al contener minerales, carbohidratos y proteínas de buena calidad (β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina). En México y gran parte de Latinoamérica, donde la elaboración de quesos se hace significativamente de manera artesanal o nivel microempresa, resulta económicamente imposible, para los pequeños productores, el correcto tratamiento de estos desechos, lo que da como resultado una contaminación de las zonas aledañas a las plantas queseras. Es primordial utilizar efluentes industriales con alto valor nutricional para elaborar productos alternativos con posibilidad de inserción en el mercado. Frente a la problemática actual, el objetivo de este estudio fue la elaboración de una bebida utilizando como materia prima el lactosuero dulce de origen bovino y caprino, deslactosado, adicionando pulpa de fruta para conferir sabor (fresa, mango, manzana, guayaba y durazno). El suero se recolectó en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), FMVZ-UNAM. Se realizó la homogeneización del lactosuero, así como el descremado y deslactosado del mismo. Para deslactosar se utilizó enzima β -galactosidasa, a $37^\circ\text{C}/30$ min. Ulteriormente, se pasteurizó a $63^\circ\text{C}/30$ min. Se desarrollaron diferentes prototipos hasta establecer la formulación base para todas las bebidas. Éstas una vez envasadas y pasteurizadas se sometieron a un análisis químico proximal (AQP), para conocer algunas de sus principales características, generar las etiquetas de Información Nutricional y finalmente compararlas con productos comerciales similares. Se puede afirmar que la bebida aquí elaborada es un producto con un importante aporte energético, proteínico y de minerales; de fácil elaboración, no requiere mayor maquinaria a la ya existente en la industria láctea. Su futuro desarrollo a mayor escala es una posible solución para la industria quesera y de esta forma lograr disminuir el impacto ambiental.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en los países desarrollados, una gran mayoría de las compañías pertenecientes a la industria láctea, están conscientes de los beneficios que implica el reducir, pero sobre todo aprovechar los remanentes generados en la producción de derivados lácteos con un alto valor agregado; tal es el caso del suero lácteo que se obtiene como residuo en la elaboración de quesos, caseína, caseinatos y mantequillas. Este “subproducto” se emplea en la elaboración de pastas de suero, productos industriales fermentados (ácido láctico y etanol), obtención de sólidos de mantequilla, se procesa como suero en polvo, en forma de concentrado y desmineralizado. Sin embargo, estos usos no son suficientes para disminuir la cantidad de desechos generados; ya que el porcentaje utilizado es menor en comparación con el volumen producido al año; se sabe que por cada 10 litros de leche se obtiene 1 ó 2 kg de queso, el resto es suero lácteo (cerca del 90%).

Dentro de la industria alimentaria, el lactosuero ha dejado de ser percibido como un residuo y poco a poco ha llegado a adquirir gran importancia. Constituye una fuente económica de proteínas que otorga múltiples propiedades en una amplia gama de alimentos (Parra, 2009). Por ejemplo, solubilidad, textura, hidratación, gelificación, estabilidad espumante y emulsificación. Lo anterior se atribuye principalmente al contenido significativo de inmunoglobulinas en el suero de leche.

Con el creciente uso de proteínas como aditivos alimentarios, se ha incrementado la demanda de los Concentrados de Proteína de Lactosuero o WPC, por sus siglas en inglés, que presentan entre un 35-80% de proteína. Dependiendo del método de separación, tecnología de secado y uso al que esté destinado el concentrado. Otros son los Aislados de Proteína de Suero (WPI) con un 90-95% de proteína (Fox et al., 2000; Tovar et al., 2012). En México, la mayoría de estos productos se importan, al carecer de la tecnología necesaria para su producción.

No existen cifras respecto a la utilización del suero lácteo mexicano, algunos cálculos estiman que es alrededor del 10% (García et al., 1993). Se destina principalmente a la elaboración de alimento para animales de granja, el restante se vierte directamente al medioambiente, convirtiéndose así en el contaminante

principal de la industria quesera. Si se utiliza íntegramente el lactosuero generado es viable disminuir la contaminación.

Las bebidas representan una gran opción para poder emplear el suero lácteo en forma líquida, sin costosos o largos tratamientos previos. Es un sector que permite la innovación y desarrollo de productos, normalmente bien recibidos por los consumidores, ávidos de nuevas experiencias. La mayoría de los esfuerzos se han dirigido a la creación de bebidas fermentadas, bebidas energéticas, bebidas funcionales y bebidas simbióticas. Siendo el refresco Suizo; *Rivella*® el caso más exitoso, se comercializa en Holanda, Alemania, Francia, Austria, China, Australia y en su país de origen, desde 1952 (Rivella AG, 2014).

El principal inconveniente al usar lactosuero para la elaboración de bebidas, es su alto contenido de lactosa, 50g/L (Fox et al., 2000; Carvalho et al., 2013), disacárido al que un sector importante de la población mexicana es intolerante. El problema se puede disminuir con un proceso de fermentación; sin embargo, en México las bebidas lácteas fermentadas como el Kéfir, Leben, Filmjölök y Långfil no tienen gran aceptación por la fuerte sensación de astringencia que éstas generan. Con el propósito de brindar una solución al 83% de mexicanos con dificultades al digerir la lactosa (Novillo et al., 2010); en el presente trabajo se establecen las condiciones necesarias para lograr un proceso de deslactosado eficiente y al mismo tiempo usar el poder edulcorante de los monosacáridos resultantes (galactosa/glucosa).

Otro reto que enfrenta este tipo de bebidas es minimizar el aroma y sabor propios del lactosuero; que podrían llegar a ser desagradables. Para contrarrestar esta problemática se decidió emplear sacarosa y pulpa estandarizada de fruta en las formulaciones. Los sabores seleccionados por presentar un mejor poder enmascarante son durazno, fresa, guayaba, mango y manzana (Burrington, 2012). Además de ser las frutas con mayor presencia en yogurt y jugo comercial, se espera que la familiaridad de los consumidores con estos sabores facilite en un futuro la comercialización de las bebidas diseñadas en este trabajo.

OBJETIVOS

General

Elaborar una bebida para la alimentación humana utilizando como materia prima el lactosuero dulce de origen bovino y caprino, deslactosado, adicionando pulpa de fruta (fresa, mango, manzana, guayaba y durazno) y al mismo tiempo disminuir el impacto ambiental causado por este subproducto de la industria láctea.

Particulares

Realizar un proceso de deslactosado con ayuda de una β -galactosidasa, bajo condiciones específicas de tiempo, temperatura y pH, para disminuir la lactosa presente en el lactosuero y que las personas intolerantes a este carbohidrato puedan consumir las bebidas.

Establecer la formulación base de los cinco sabores de bebida, mediante prototipos con variaciones en la proporción de ingredientes, para la elaboración de la bebida final.

Determinar la composición final de las bebidas, a través de métodos fisicoquímicos para generar su correspondiente Etiqueta de Información Nutrimental, conforme a lo establecido en la NOM-051-SCFI/SSA-2010.

HIPÓTESIS

Si se utiliza el lactosuero dulce como materia prima en la elaboración de bebidas se podrá proponer una alternativa de uso que reduzca la cantidad de desechos generados por la industria del queso.

Si se establecen las condiciones adecuadas para un proceso de deslactosado eficiente el lactosuero resultante podrá ser empleado en la elaboración de bebidas aptas para personas intolerantes a la lactosa.

Si se desarrolla una formulación base será posible la producción de los cinco sabores de bebidas con lactosuero dulce de origen bovino y caprino.

Si se generan las etiquetas de Información Nutricional se facilitará la observación evaluación y comparación del contenido nutricional de las bebidas elaboradas.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

I.1 Lactosuero definición, clasificación y composición

El lactosuero se define como la parte líquida residual, en la elaboración de quesos, al eliminar por precipitación o coagulación la caseína y grasa de la leche. Representa el 85-95% del volumen de la leche; muestra un color entre amarillo y verde (Figura 1), con aroma a leche cocida y dependiendo del tipo de queso fabricado presentará mayor o menor intensidad de gusto salado (Fox et al., 2000; Badui, 2006; Dragone et al., 2008; Montero et al., 2009; Parra, 2009 y Prazeres et al., 2012).

La clasificación, hasta ahora, más aceptada para este producto, es la que se basa en diferenciar el suero por el tipo de método empleado para efectuar la coagulación de la leche y el valor final de pH (Fox et al., 2000; Panesar et al., 2007 y Callejas et al., 2012), dando como consecuencia dos tipos de lactosuero:

- Lactosuero dulce: Es el resultado de romper las micelas de caseína por acción enzimática de la quimosina (renina/cuajo) en el enlace peptídico 105-106 de la κ -caseína.
- Lactosuero ácido: Se obtiene al precipitar las caseínas (pH=4.6 punto isoeléctrico) por adición de ácidos minerales u orgánicos (CH_3COOH), o vía fermentación microbiana (cultivos iniciadores o flora natural de la leche).



Autor: Juan C. Ramírez.

Figura 1. Apariencia de lactosuero dulce bovino.

En la siguiente tabla comparativa se resumen las principales diferencias entre lactosuero dulce y ácido.

Tabla 1. Principales diferencias entre lactosuero dulce y ácido.

Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
Se obtiene por precipitación isoeléctrica (por añadir ácidos o microorganismos fermentadores de lactosa).	Se obtiene por coagulación enzimática (Quimosina/ Renina/ cuajo).
pH < 5	5.6 > pH < 6.6
Mayor concentración de calcio, magnesio, fósforo, lactato y citrato.	Mayor concentración de lactosa y proteína.
Libre de caseína	Tiene restos de κ -caseína (glicomacropéptido)
Genera más astringencia al ser degustado (Ye, 2012).	Presenta menos astringencia, pero mayor resabio graso (Ye, 2012).

Tratar de establecer una composición “ideal” para los lactosueros, es un verdadero desafío, ya que ésta dependerá del tipo y calidad de leche empleada, queso fabricado, técnicas de elaboración y finalmente las condiciones de recuperación y almacenamiento del lactosuero (Abaigar, 2009; Valencia y Ramírez, 2009; De la O, 2012; Nava, 2012 y Poveda, 2013). Sin embargo, realizar la compilación de valores reportados en diversas fuentes (Fox et al., 2000; Badui, 2006; Panesar et al., 2007; Abaigar, 2009 y Jelen, 2009) permite establecer una composición aproximada para los dos tipos de suero (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química para lactosuero dulce y ácido, datos recopilados de diversas fuentes.

Parámetro	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
pH	5.6-6.7	> 5
Acidez (%)	>0.20	0.64-0.80
Proteína (%)	0.80	0.60
Lactosa (%)	0.55	0.45
Cenizas (%)	0.50	0.75
Grasa (%)	0.05	0.05
Humedad (%)	93	92.5
Sólidos Totales (%)	6.3-7.0	5.5-6.5
Fosfato (%)	0.10-0.30	0.20-0.45
Calcio (%)	0.05	0.16
Potasio (%)	0.14	0.16
Sodio (%)	0.53	0.51
Cloruros (%)	0.11	0.11

Como se aprecia en la tabla anterior, la cantidad de minerales, principalmente calcio y fósforo, será mayor en el lactosuero ácido por aumentar la solubilidad de estos al incrementar la acidez del medio. Por otro lado, los valores de lactosa y proteína serán mayores en los lactosueros dulces (Jeličić, 2008; Miranda et al., 2009; Cárdenas y De la Mora, 2011; Paredes et al., 2014), razón por la que este último tipo de suero es el más usado en el desarrollo de productos, a base de lactosuero, con alto valor nutritivo ya sea para alimentación animal o humana.

En general, los lactosueros presentan un gran porcentaje de agua, superior al 90% (Montero et al, 2009). De tal manera que cerca del 50% del total de los sólidos de la leche (la mayoría compuestos hidrosolubles de la misma) están contenidos en el lactosuero (Fox et al., 2000 y Abaigar, 2009).

La cantidad de grasa (0.3-0.8%) dependerá de la leche empleada para la obtención del suero, si ésta fue entera o descremada, si recibió o no algún tratamiento térmico, si fue homogeneizada y/o normalizada (Fox et al., 2000 y Paredes et al., 2014).

A continuación se describen los principales nutrientes del lactosuero, ordenados de acuerdo al porcentaje que estos presentan en el suero.

I.1.1 Lactosa

Después del agua, es la lactosa el principal componente del lactosuero, llegando a representar hasta el 70% de los sólidos no grasos. Por cada 100 litros de lactosuero se obtienen cerca de 55 kilogramos de lactosa.

La lactosa es un disacárido reductor, formado por α -glucosa y β -galactosa, unidas mediante un enlace glucosídico $\beta(1,4)$. En el lactosuero la lactosa está en sus dos formas isoméricas α y β (Figura 2). Con una relación de equilibrio $\beta/\alpha = 1.68$ a 20°C (Fennema, 2000; Badui, 2009 y Fox, 2011).

Se sabe que la lactosa es el menos soluble de los disacáridos, con 5g y 45g/100mL de agua, para la forma α y β respectivamente (Fennema, 2000; Fox et al., 2000; Badui, 2006 y Fox, 2011).

Este carbohidrato se sintetiza en la glándula mamaria, por ello sólo está presente en la leche y sus derivados; tiene un 15% del poder edulcorante de la sacarosa (Badui, 2009; Fox, 2011). El valor energético de la lactosa (4kcal) no es lo más importante desde el punto de vista nutricional, pero sí lo es el valor de glúcido estructural, debido a la molécula de galactosa que forma parte de los cerebrósidos, lípidos presentes en el tejido nervioso, lo que la destaca como un glúcido superior a otros (Reyes, 2005; Lodoño et al., 2008 y Fox, 2011).

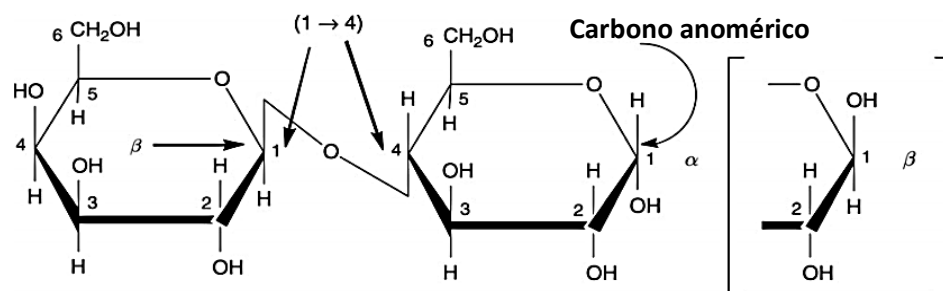


Figura 2. Fórmula estructural de la α y β -lactosa (Proyección Haworth) Tomada de Fox, 2011.

I.1.2 Proteínas del suero

Representan el 20% de las proteínas presentes en la leche de origen bovino, ovino y caprino; entre ellas se encuentran principalmente β -lactoglobulina (50%), α -lactoalbúmina (20%), seroalbúmina (3-10%), inmunoglobulinas (10%) y lactoferrina (<0.1%), (Fox et al., 2000; Badui, 2009 y Edwards et al., 2009). La desnaturalización de las proteínas del suero ocurre rápidamente a temperaturas superiores a 70°C, intervalo de temperatura de muchos procesos térmicos de la leche y productos lácteos, por lo que su funcionalidad es sensible al control preciso de tales tratamientos (Fennema, 2000).

- **β -lactoglobulina (β -Lg)**

Contiene 162 aminoácidos y tiene un peso molecular de 18.3 kDa y tamaños de partículas entre 2 μ m-4 μ m (Edwards, 2009 y Callejas et al., 2012). Pertenece a las lipocalinas, llamadas así por su habilidad a enlazar pequeñas moléculas hidrofóbicas dentro de su cavidad hidrofóbica. Esto lleva a proponer que la β -Lg funciona como proteína de transporte para especies retinoides, como la vitamina A (Edwards, 2009). Es insoluble en agua destilada, pero soluble en soluciones diluidas de sales (Badui, 2009).

Es la proteína de lactosuero más abundante, sin embargo, ésta no es detectada en la leche humana, donde la α -lactoalbúmina es la proteína sérica dominante (Edwards, 2009). Se considera como responsable de reacciones alérgicas que presentan algunos infantes alimentados con leche de vaca (Badui, 2006).

Las variantes genéticas más abundantes son β -Lg A y β -Lg B, difieren por dos sustituciones de aminoácidos, Asp64Gly / Val118Ala, respectivamente (Edwards, 2009). La estructura cuaternaria de la proteína varía entre monómeros, dímeros u oligómeros dependiendo de pH, temperatura y fuerza iónica (Fennema, 2000; Edwards, 2009 y Callejas et al., 2012). Bajo condiciones fisiológicas predomina la forma de dímero (Figura 3). Este estado de asociación variable es resultado de un delicado balance entre interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y puentes de hidrógeno (Edwards, 2009).

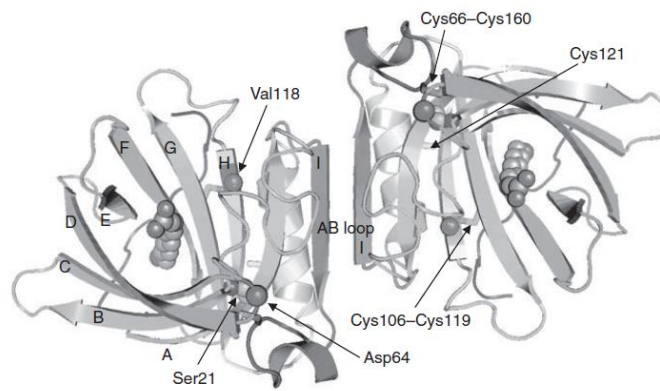


Figura 3. Estructura dimérica de la β -Lg A. (Tomado de Delano, 2002 en Edwards, 2009).

- **α -lactoalbúmina (α -La)**

Proteína globular de 123 aminoácidos, 14.2 kDa y tamaños de partículas entre $1\mu\text{m}$ - $2\mu\text{m}$ (Edwards, 2009 y Callejas et al., 2012), se encuentra en la leche de todos los mamíferos. La proteína bovina se une a Ca^{2+} , con la forma holo llegando a ser la forma más abundante (Edwards, 2009). Es decir, se trata de una metaloproteína cálcica, con un único Ca^{2+} ligado con alta afinidad a una “acodadura Ca-ligante” compuesta por oxígenos coordinantes aportados por las cadenas laterales carboxilo del Asp 82, 87 y 88 y por los grupos carbonilo peptídicos de Lys 79 y Asp 84 (Fennema, 2000). Su estructura terciaria es similar a la lisozima, ver Figura 4, (Fennema, 2000, Badui, 2006 y Edwards, 2009), pero no tiene efecto bactericida. Participa como coenzima en la síntesis de lactosa (Badui, 2006). El sitio de unión del Ca^{2+} está alejado del sitio activo donde se localiza el complejo que permite la síntesis de lactosa (Edwards, 2009).

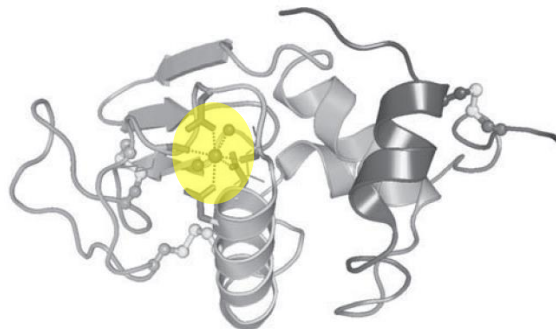


Figura 4. Estructura de la α -La bovina que muestra el sitio de unión del ión Ca^{2+} (Color amarillo). Tomada de Delano, 2002, en Edwards, 2009.

- **Seroalbúmina o albúmina sérica bovina (BSA)**

Es una proteína de aproximadamente 580 residuos de aminoácidos, su punto isoeléctrico es 4.7, se encuentra tanto en el suero de la sangre como en la leche de todos los mamíferos; parece funcionar como un transportador promiscuo de moléculas hidrófobas (ácidos grasos) (Badui, 2006 y Edwards, 2012). Sin embargo, como con muchas proteínas, este papel de transporte no parece ser la única función fisiológica. La estructura de la albúmina de suero humano (HSA), es notable también por el número de puentes disulfuro (17 en total) y cisteínas (Edwards, 2012). Es fácilmente desnaturizable incluso a bajas temperaturas (Badui, 2006).

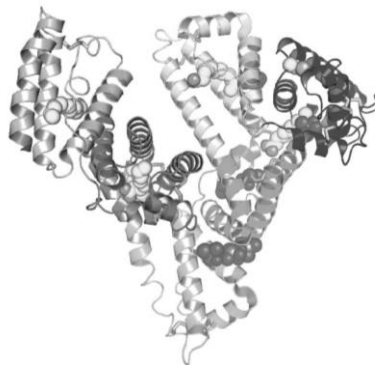


Figura 5. Estructura de HSA complejo con halotano, parcialmente ocupando siete sitios distintos y ácido mirístico ocupando plenamente cinco sitios distintos. Tomada de Delano, 2002, en Edwards, 2009.

► **Inmunoglobulinas y lactoferrina**

Inmunoglobulinas (Ig): Son proteínas que tienen actividad biológica de anticuerpos. De composición heterogénea, incluso dentro de una misma subclase. En la leche bovina, la especie predominante de proteínas Ig son miembros de la subfamilia de IgG, en particular IgG1. Cada molécula de IgG es un polímero constituido por dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), Figura 6a. Las inmunoglobulinas puedan actuar frente a muchos antígenos e inhibir el crecimiento bacteriano (Fox et al., 2000 y Edwards, 2012).

Lactoferrina (Lf): Glicoproteína, monomérica, globular, unida a Fe^{3+} , comprendida por ≈ 680 aminoácidos, con una masa molecular de $\approx 80kDa$, Figura 6b (Edwards, 2009). Tiene propiedades bactericidas y otras propiedades fisiológicas (Fox et al., 2000).

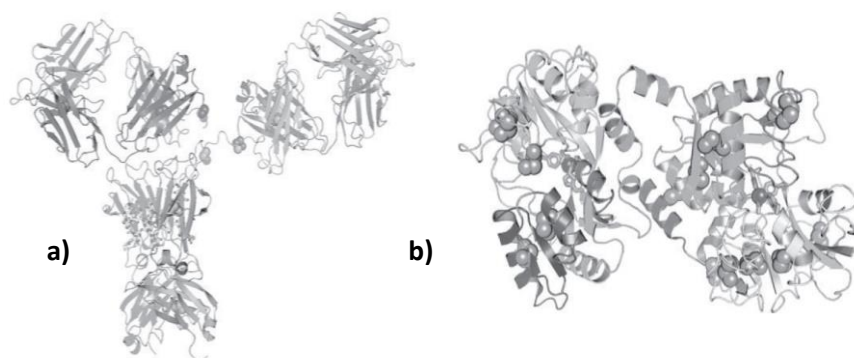


Figura 6. a) Estructura de la molécula de IgG1 humana. b) Estructura de la Lf Bovina. Tomadas de Delano, 2002, en Edwards, 2009.

I.1.3 Vitaminas

El lactosuero posee un importante contenido vitamínico (Gómez, et al., 1999). Resaltando la presencia de vitaminas hidrosolubles; complejo B (B₁, ácido pantoténico, B₂, B₃, B₆ y B₁₂) y ácido ascórbico (Vitamina C), como se muestra en la Tabla 3.

Es interesante que el suero pueda contener mayores cantidades de riboflavina que la leche, debido a la actividad de algunas bacterias ácido-lácticas utilizadas en la fabricación de quesos. La coloración del suero de leche es consecuencia al contenido relativamente alto de riboflavina (Jeličić, 2008).

Tabla 3. Comparación entre la concentración de vitaminas del lactosuero con valores de ingesta diaria recomendada (IDR).

Vitamina	Concentración en el lactosuero	IDR
Tiamina (B ₁)	0.38	0.9-1.2
Riboflavina (B ₂)	1.2	0.9-1.3
Niacina (B ₃)	0.85	12-16
Ácido pantoténico	3.4	5
Piridoxina (B ₆)	0.42	1.0-1.7
Cobalamina (B ₁₂)	0.03	1.8-2.4**
Ácido ascórbico (Vit. C)	2.2	45-90

Adaptación de Parra, 2009. Concentración expresada en (mg/mL); Valores de IR (USDA-Food and Nutrition-2010) para hombres y mujeres de 9 a 70 años en (mg/día). ** Valor de IDR en (µg/día).

Debido al bajo contenido de grasa que presenta el lactosuero, en él sólo quedan trazas de vitaminas liposolubles (A, D, E y K).

I.2 Impacto ambiental por lactosuero

Desde el punto de vista ambiental, el lactosuero desechado sin tratamiento previo se convierte en un contaminante importante con valores de DBO₅ y DQO en intervalos de 27-60kg/m³ y 50-120kg/m³ respectivamente (Prazeres et al., 2012 y Carvalho et al., 2013); esto se debe principalmente al alto contenido de lactosa; no obstante la cantidad de grasa y proteína que presenta el lactosuero, también es parcialmente responsable de la contaminación orgánica. Mientras que la contaminación inorgánica es consecuencia a la adición de NaCl durante la producción del queso (Prazeres et al, 2012).

Aunque varias posibilidades de uso para el lactosuero se han explorado, una porción importante de la producción mundial del suero (cerca del 47%) se desecha en ríos y lagos, o directamente en la tierra (Dragone et al., 2009 y Panesar et al., 2007). Esto origina graves problemas de contaminación en el entorno inmediato, ya que afecta a la estructura física y química del suelo, lo que resulta en una disminución en el rendimiento de cultivos y cuando se libera en ríos y lagos (o mantos acuíferos), reduce la vida acuática por el agotamiento del oxígeno disuelto. Es así como la disposición del lactosuero de manera arbitraria, representa una gran amenaza para la salud humana y el medio ambiente, por lo que se necesita con urgencia una solución eficaz y permanente (Panesar et al., 2007).

I.2.1 Generación de las aguas residuales de lactosuero (CWW)

La industria del queso es responsable de tres importantes tipos de efluentes; **lactosuero** (resultado de la producción de queso), **segundo lactosuero** (resultado de la producción de queso Cottage, en México: Requesón) y por último el agua de lavado de tuberías, tanques de almacenamiento, que generan las llamadas **“Aguas residuales de lactosuero”** (CWW, por sus siglas en Inglés). Las CWW también contienen lactosuero (CW) y segundo lactosuero (SCW), ver Figura 7, (Prazeres et al., 2012 y Carvalho et al, 2013).

Estos efluentes también pueden ser una fuente de proteínas y lactosa. La recuperación de proteínas se lleva a cabo normalmente por medio de procesos fisicoquímicos tales como; la precipitación térmica y/o isoeléctrica, electrocoagulación, coagulación-floculación con quitosano; precipitación ácida, y

tecnologías de membrana. La valorización de lactosa se lleva a cabo a través de procesos biológicos, principalmente, por hidrólisis enzimática o fermentación a etanol, hidrógeno o ácido láctico. Sin embargo, la lactosa también puede recuperarse por procesos químicos, por ejemplo, nanofiltración, ósmosis inversa y de intercambio iónico (Carvalho et al., 2013 y Prazeres et al., 2014).

1.2.2 Métodos biológicos para el tratamiento de lactosuero (CW)

Para el tratamiento de suero lácteo se aplican tratamientos biológicos antes de que sea vertido a los suelos y ríos. Para ello, se plantean procesos “sin valorización” y “con valorización” (Valencia y Ramírez, 2009; Prazeres et al, 2012).

Sin valorización: La investigación sobre la digestión biológica de lactosuero comenzó en los años 1970, con la aplicación de los procesos aeróbicos tales como lodos activados, filtros percoladores y lagunas de almacenamiento (Prazeres et al., 2012).

- **Digestión aeróbica.**

Se caracteriza por la degradación de materia orgánica relativamente rápida a temperatura ambiente (22-24°C). Sin embargo, la alta carga orgánica en el lactosuero hace que la digestión aeróbica sea inapropiada. Cuando se trata de efluentes altamente contaminados, pueden producirse limitaciones en la transferencia de oxígeno. En general, la alta contaminación de las aguas residuales de lactosuero (CWW) podría causar el crecimiento excesivo de microorganismos filamentosos y las dificultades subsiguientes en la sedimentación de lodos. La aplicación de unidades de membrana para la separación de sólidos puede minimizar las principales desventajas de sedimentación convencional cuando se trata con altas concentraciones de biomasa. Las aguas residuales tratadas por este método son libres de sólidos y organismos infecciosos; desafortunadamente la tasa de flujo a través de las membranas disminuye con el tiempo de uso (Prazeres et al., 2012).

Con valorización: Estos tratamientos aíslan en una primera etapa las corrientes residuales sin mezclarlas con corrientes indeseables, su objetivo es utilizar el residuo industrial para obtener diversos productos de fermentación (Valencia y Ramírez, 2009).

- **Digestión anaeróbica**

La digestión anaerobia de lactosuero se lleva a cabo normalmente en condiciones mesófilas (35-37°C). Los principales productos formados en este tipo de biodegradación a partir de las proteínas por proteasas incluyen polipéptidos, aminoácidos y amoníaco. Sin embargo, algunas proteínas, tales como la caseína (la proteína principal de la leche, 80%), son bastante resistentes a la degradación por microorganismos. Por lo tanto, se requiere el uso de microorganismos aclimatados o específicos. Contrariamente, los hidrocarburos son más susceptibles a la biodegradación. Así que, la lactosa fácilmente se puede convertir en ácido propiónico, etanol y acetato. En general, la digestión anaerobia presenta altas eficiencias en la eliminación de materia orgánica, sin embargo, los bajos valores de alcalinidad pueden conducir a un fallo en los digestores anaerobios. Para resolver estos problemas algunos investigadores han propuesto diferentes alternativas, como la suplementación alcalina con cal, hidróxido de sodio, bicarbonato de sodio y la mezcla de bicarbonato de sodio con bicarbonato de potasio, observándose mejores resultados (Prazeres et al., 2012 y Carvalho et al., 2013)

- **Hidrólisis de lactosa**

Debido a que el número de microorganismos comercializados capaces de metabolizar la lactosa de manera directa es menor a la cantidad de microorganismos capaces de usar glucosa y galactosa como fuente de energía. Se recomienda un pretratamiento al lactosuero para hidrolizar la lactosa química o enzimáticamente.

La hidrólisis química se caracteriza por condiciones ácidas (pH <1,5) y altas temperaturas (> 150°C). Puede llevarse a cabo con adición directa del ácido, tal como ácido sulfúrico o mediante el uso de un ácido sólido, como la forma de ácido

de una resina de intercambio catiónico. Sin embargo, este tipo de hidrólisis tiene algunas desventajas tales como la desnaturalización de proteínas, la necesidad de predesmineralizar el lactosuero, la aparición de un color marrón debido a las reacciones de Maillard y la formación de productos indeseables. Lo que hace a la hidrólisis enzimática la mejor alternativa para hidrolizar la lactosa (Prazeres et al., 2012). Ésta se realiza con ayuda de la enzima lactasa, que convierte al disacárido en sus dos componentes monosacáridos (glucosa y galactosa) facilitando así la degradación de estos carbohidratos por acción microbiana. Las principales desventajas de la hidrólisis enzimática de lactosa son: polimerización de lactosa o galactosa con la formación de oligosacáridos y limitaciones económicas (García et al., 1993 y Prazeres et al., 2012).

- **Fermentación a etanol**

El tratamiento del lactosuero y la producción simultánea de etanol ha recibido una gran atención. En este sentido, varios estudios han sido reportados con el uso de lactosuero entero, soluciones de lactosuero en polvo, lactosuero permeado por ultrafiltración y lactosuero desproteínizado. Este tratamiento requiere un grupo específico de microorganismos, capaces de usar la lactosa directamente, principalmente, *S. cerevisiae* (García et al., 1993 y Prazeres et al., 2012). Una alternativa es la previa hidrólisis enzimática de la lactosa por β -galactosidasa y la subsiguiente fermentación del etanol (García et al., 1993).

Las principales desventajas de este pretratamiento son el precio de la enzima, el lento crecimiento y el rendimiento. El etanol proveniente de lactosuero se puede utilizar en la industria alimentaria, química, farmacéutica y como combustible alternativo (Prazeres, et al., 2012).

- **Fermentación a hidrógeno**

El hidrógeno representa una fuente de energía limpia que no contribuye a la generación de gases tipo invernadero o lluvia ácida. Debido a su baja solubilidad puede ser fácilmente separado del agua y purificarse (Davila et al., 2009).

Procesos de fermentación anaeróbica de lactosuero, lactosuero diluido, solución de lactosuero en polvo y lactosuero permeado en polvo se han conducido por la producción de hidrógeno. Este proceso debería conducir a un rendimiento teórico de 8 moles de hidrógeno por mol de lactosa. La mezcla del biogás formado, en la producción de hidrógeno, también contiene CH₄ y CO₂. La fermentación se lleva a cabo por cepas, de microorganismos anaerobios estrictos, de la especie *Clostridium* y anaerobios facultativos como *Enterobacter*, *Citrobacter sp.* y *Escherichia coli* (Prazeres et al., 2012).

- **Fermentación a ácido láctico**

Una fracción grande del lactosuero generado es manejado por procesos de membrana, principalmente, ultrafiltración. En esta situación, el permeado tiene bajo contenido de proteína y elevadas concentraciones de lactosa y sales minerales. La producción de ácido láctico a partir de lactosuero o lactosuero permeado se obtiene sin la suplementación de nutrientes, pero su aplicación a nivel industrial es limitada por su baja productividad. (Prazeres et al., 2012). Los microorganismos usados en ésta fermentación son *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *K. marxianus*, *Leuconostoc*, y *Pediococcus* (Panesar et al., 2007). Sin embargo, algunos estudios reportan el uso de mezclas de cultivos. (Plessas et al., 2008).

El ácido láctico es usado en la industria de alimentos y la industria química (productos farmacéuticos y textiles,) primordialmente para ayudar a la preservación de los alimentos y como acidulante. (Prazeres et al., 2012) También tiene aplicaciones como componente de plásticos biodegradables (ácido poliláctico, polímeros, polihidroxitirato) (García et al., 1993; Tango y Ghaly, 1999).

1.2.3 Métodos fisicoquímicos para el tratamiento de lactosuero (CW)

Se basan en reducir los indicadores de contaminación, como materia orgánica, turbidez y sólidos suspendidos, pero a la vez recuperan productos valiosos presentes en el lactosuero, principalmente lactosa y proteínas. (Prazeres et al., 2012 y Carvalho et al., 2013).

- **Coagulación/floculación y precipitación térmica e isoelectrica**

Los tratamientos del lactosuero mediante procesos fisicoquímicos pueden completarse por procesos de coagulación-floculación con sales metálicas o electroquímicamente con electrodos metálicos (Callejas et al., 2012 y Prieto et al., 2012). Así como, con las técnicas de valorización usando quitosano y alginato como agentes coagulantes-floculantes (Bolaños, 2011), coagulación electroquímica, precipitación ácida, precipitación térmica o procesos de membrana para obtener proteínas y lactosa a partir de lactosuero. Adicionalmente, como se describió en el apartado anterior, la lactosa recuperada puede ser usada para la producción de glucosa y galactosa por hidrólisis química (Souza et al., 2010).

- **Separación con membrana**

Proceso extensivamente usado para obtener concentrados de proteínas y lactosa a partir de lactosuero y segundo lactosuero (Prazeres et al., 2012). La microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y osmosis inversa han reportado los siguientes porcentajes promedio para retención de proteína: 50, 68, 90 y 95%, respectivamente (Cuartas et al., 2006, 2009; Yorgun et al., 2008 y Souza et al., 2010).

Los permeados provenientes de procesos de membrana siguen manteniendo un alto valor de indicadores de contaminación, como consecuencia estos permeados no pueden ser descargados directamente a aguas receptoras, pero tanto los concentrados de proteína como los de lactosa presentan potenciales aplicaciones en la industria de alimentos y farmacéutica, dependiendo del uso al que sea destinado el permeado será el proceso de separación empleado (Prazeres et al., 2012).

1.2.4 Métodos alternativos de reúso en la agricultura

Normalmente las pequeñas y medianas fábricas de queso están aisladas de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales, y en algunos casos, situadas junto a zonas ecológicamente sensibles, lo que agrava los riesgos ambientales. La aplicación al suelo es a menudo la única opción viable para la disposición de aguas residuales. La presencia de sólidos en suspensión y alto contenido de

salinidad podría afectar a las estructuras físicas y químicas de los suelos (Dragone et al., 2009) y, finalmente, contaminar el agua subterránea (Carvalho et al., 2013).

- **“Wetland” o humedal**

Los humedales artificiales son una tecnología emergente que utiliza plantas y las comunidades microbianas para eliminar diversos contaminantes químicos orgánicos y/o inorgánicos. Teóricamente, esta tecnología podría ser una buena solución respetuosa del medio ambiente. No necesita una estrategia completa de monitoreo en tiempo, presenta bajos costos de construcción y de operación con una buena integración ecológica y paisajística. Sin embargo, debido a las características especiales del lactosuero, el uso de humedales artificiales para su tratamiento presenta algunas limitaciones. Por lo tanto, estas aguas residuales necesitan un pretratamiento para la eliminación de grasa e incluso la dilución con aguas residuales domésticas (Carvalho et al., 2013).

En los estudios de humedales construidos (Dragone et al., 2009), el efluente final no es compatible con la descarga directa, pero puede ser utilizado en la agricultura. Desde este punto de vista, los humedales artificiales pueden ser considerados sistemas de descarga cero (Carvalho et al, 2013).

- **Aplicación al suelo**

Bajo condiciones controladas, el lactosuero se puede usar como un fertilizante, al mejorar las características físicas y químicas de los suelos. Promoviendo la agregación de las partículas del suelo que actúan simultáneamente como una fuente de carbono, energía y nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, etc.) para las plantas y los microorganismos. Sin embargo, algunos inconvenientes se asociaron a la aplicación de estos productos, principalmente, debido al exceso de grasa, sólidos en suspensión o contenidos de sal. Por lo tanto, bajo la aplicación incontrolada, el alto nivel de salinidad puede afectar negativamente a la estructura del suelo, la disminución de la permeabilidad y aireación del suelo (Prazeres et al., 2012 y Prazeres et al., 2014).

Se han observado en cultivos de jitomates (Prazeres, et al. 2014) y lechugas (Carvalho et al., 2012) resultados exitosos; lo que podría transformar un problema (disposición del lactosuero) en una solución (lodo/composta y biofertilizante).

En el futuro, será necesario ampliar estos estudios agrícolas a otros cultivos para completar los resultados sobre los efectos del lactosuero en el suelo (Carvalho et al., 2013).

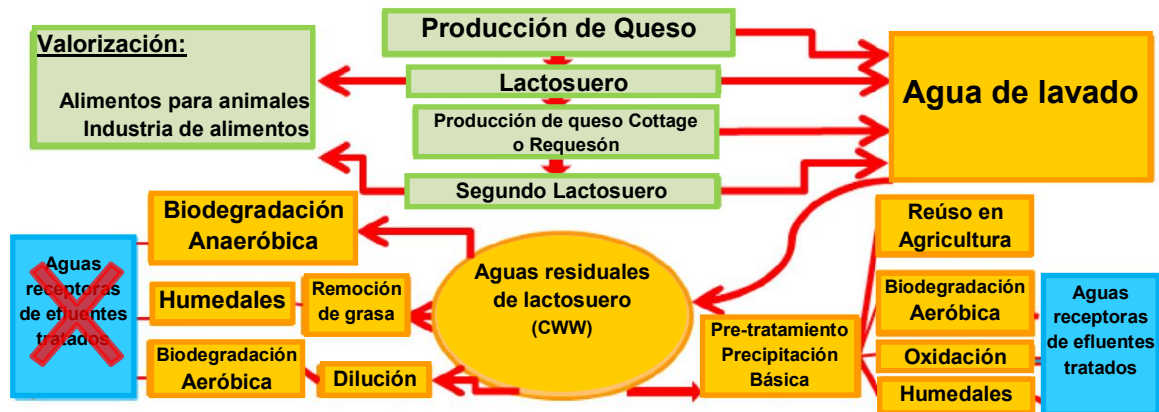


Figura 7. Descripción general de la producción de efluentes de la Industria del queso. Principales formas de valorización. Resumen de los sistemas actuales de tratamiento y futuras soluciones. X= No se generan efluentes para aguas receptoras (Tomado de Carvalho, et al., 2013).

La mayor parte de los países industrialmente desarrollados tienen una legislación estricta sobre la evacuación de los efluentes. Tecnologías de tratamiento biológico, en combinación con procesos fisicoquímicos, para las aguas residuales de la industria láctea pueden ayudar en la eliminación segura de lactosuero dentro de las especificaciones ambientales, pero éstas son costosas y quedan fuera del alcance de las pequeñas y medianas empresas (Panesar et al., 2007; Prazeres et al., 2012 y Carvalho et al., 2013). Una mejor alternativa consiste en procesar al lactosuero para fabricar productos de valor añadido y que la comercialización de los mismos contribuya a disminuir total o parcialmente los costos de eliminación de este “subproducto” (Panesar et al., 2007).

I.3 Importancia del lactosuero en la industria de alimentos

A nivel mundial existe una gran variedad de tecnologías para la utilización del lactosuero (García et al., 1993). En la Industria de Alimentos, la mayoría de los esfuerzos se han dirigido al aprovechamiento de su valor nutritivo y funcional; a través de investigaciones enfocadas a desarrollar diversos productos. Dependiendo la calidad nutrimental que presenten los lactosueros, se determinará el uso al que estos podrán ser destinados.

Lo anterior ha dado como resultado una amplia gama de productos alimenticios, aditivos y empaques; desde los primeros permeados (contenido de proteína 4-6%) de lactosuero hasta la creación de biopelículas.

I.3.1 Productos de lactosuero concentrados y deshidratados

Los sueros en polvo se han producido durante muchos años, son el resultado de someter al lactosuero líquido a un proceso de secado o deshidratación (Fox et al., 2000 y NMX-F-721-COFOCALEC-2012), tienen varias aplicaciones en la industria alimentaria (ingredientes para panadería y productos cárnicos) éstas se extienden conforme se modifican sus procesos de fabricación (Fox et al., 2000).

- **Lactosuero en polvo no higroscópico**

La lactosa es difícil de cristalizar, y si no se cristaliza adecuadamente, el polvo de suero de leche es higroscópico, por lo que es inestable durante el almacenamiento. El lactosuero en polvo no higroscópico se produce por el concentrado al 50-60% de sólidos totales, sembrando el concentrado con cristales de lactosa para inducir la cristalización, y cuando la cristalización es completada, se seca el concentrado (Fox et al., 2000).

Para muchas aplicaciones en alimentos se desea usar lactosuero en polvo con mayor o menor contenido de algún componente, es así como surgen los lactosueros en polvo con modificación en su composición, por adición, disminución o eliminación de carbohidratos y minerales (Ver Tabla 4).

- **Lactosuero en polvo desmineralizado**

Una de las aplicaciones importantes para los sólidos del lactosuero es la elaboración de fórmula infantil. Sin embargo, la concentración de sales en la leche

bovina es de 3 a 4 veces mayor que en la leche humana y genera una carga renal elevada indeseable en el bebé. El problema se puede resolver reduciendo la concentración de iones en el lactosuero a través de electrodiálisis y/o intercambiadores de iones (Fox et al., 2000).

- **Lactosuero en polvo deslactosado**

Para producir un lactosuero en polvo con un contenido de proteína mayor al normal. Puede procesarse como se explica en el apartado siguiente 1.3.2 “*Concentrados, hidrolizados y aislados de proteína*”, pero otro método consiste en cristalizar alguna porción de lactosa. Después de concentrar el lactosuero, éste se siembra con lactosa para inducir la cristalización y finalmente por centrifugación los cristales de lactosa son removidos (Fox et al., 2000).

Tabla 4. Especificación fisicoquímica del lactosuero en polvo no higroscópico, lactosuero en polvo desmineralizado y lactosuero en polvo deslactosado.

Lactosuero en polvo	No higroscópico	Reducido en minerales	Reducido en lactosa
Parámetro			
pH	≥5.6	6.2-7.0	---
Proteínas (%)	11-14	11-15	18-24
Lactosa (%)	63-75	70-80	<58
Cenizas (%)	8.0-9.0	1.0-7.0	11.0-22.0
Grasa (%)	1.0-1.5	0.5-1.8	1.0-4.0
Humedad (%)	4.0 máximo	4.0 máximo	4.0 máximo

Datos tomados de la **NMX-F-721-COFOCALEC-2012**.

1.3.2 Concentrados, hidrolizados y aislados de proteína

Como se explicó en el punto 1.1 “*Lactosuero definición, clasificación y composición*” las proteínas no son el principal componente del lactosuero; pero sí son las más importantes desde el punto de vista económico, ya que éstas presentan un importante valor nutritivo, son una rica y balanceada fuente de aminoácidos esenciales (Lodoño et al., 2008 y Smithers, 2015), además son de alto valor biológico (VB), por su contenido en leucina, triptófano, lisina y aminoácidos azufrados, exceden en ~5% el valor biológico de la proteína de huevo, y a la proteína de carne y soya hasta en un 30% (Smithers, 2008) Tabla 5.

Tabla 5. Valor biológico de algunas fuentes comunes de proteína.

Proteína	VB^a
Huevo	100
<i>Proteínas del suero lácteo</i>	104
Leche	91
Carne	80
Caseína	77
Proteína de soya	74
Gluten de trigo	64

^aVB es una medida de la calidad de proteína, se basa en la proporción de proteína absorbida de los alimentos e incorporada a las proteínas del consumidor. El VB captura la facilidad con la que los aminoácidos de la proteína digerida se pueden utilizar para la síntesis de proteínas en las células del organismo. El punto de referencia es la proteína del huevo que se le asigna el 100. **Adaptada de Smithers, 2015**

Muchas de estas proteínas séricas, además de su valor nutritivo presentan propiedades funcionales y, en algunos casos, farmacéuticas deseables. Numerosos métodos como la separación por membrana, están disponibles para recuperar en conjunto las proteínas del lactosuero y, más recientemente para el aislamiento de proteínas en específico (Fox et al., 2000).

- **Concentrados (WPC)**

Los concentrados de proteína de lactosuero (34-80% de proteína) se obtienen vía ultrafiltración, a través de una membrana semipermeable, la cual, selectivamente permite el paso de materiales con bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de elevado peso molecular (proteínas). El retenido es concentrado por evaporación y liofilizado (Fox et al., 2000; Parra, 2009 y Jelen, 2011).

Se emplean como sustitutos de leche descremada, en la elaboración de derivados lácteos, panadería, carne, bebidas, salsas y fórmulas infantiles, además tienen aplicaciones como gelificantes, emulsificantes y agentes espumantes debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Parra, 2009).

- **Aislados (IPC)**

Los aislados de proteína de lactosuero son productos con un elevado contenido de proteína (superior al 90%). Son producidos vía cromatografía de intercambio

iónico. Alternativamente, el suero separado es ultrafiltrado hasta un 15% de materia seca, después es microfiltrado para eliminar la grasa. El permeado libre de grasa se concentra aún más por ultrafiltración y diafiltración (alrededor del 20% de materia seca) y por último se seca por pulverización (Fox et al., 2000).

Por su alta pureza son usados en suplementación nutricional, bebidas hidratantes y medicinales (Parra, 2009).

Dado que los costos de producción son altos, los aislados de proteína de lactosuero se producen a pequeña escala (Fox et al., 2000 y Jelen, 2011).

Tabla 6. Especificación fisicoquímica de los concentrados de proteína de lactosuero y aislados de proteína de lactosuero.

Parámetro	Concentrados de proteína de lactosuero	Aislados de proteína de lactosuero
pH	6.0-6.7	---
Proteínas (%)	34-80	90.0 mínimo
Humedad (%)	4.0 máximo	4.0 máximo

Datos tomados de la **NMX-F-721-COFOCALEC-2012**.

Para la producción de casi todos los productos de proteína de lactosuero, el paso final es el secado por pulverización, que debe ser controlado cuidadosamente para minimizar el daño por calor a las proteínas termosensibles. Tanto el secado por pulverización y, especialmente, la evaporación pueden causar daño por calor lo que resulta en la pérdida de solubilidad y otros defectos de funcionalidad (Jelen, 2011).

- **Hidrolizados**

Durante la hidrólisis de proteínas, éstas se descomponen en péptidos de diferentes tamaños y aminoácidos libres, como resultado de la ruptura de enlaces peptídicos. Las enzimas, ácidos o álcalis pueden llevar a cabo esta degradación. Sin embargo, la hidrólisis química no se recomienda ya que puede formar sustancias tóxicas como lisinoalanina (isopéptido con efectos nefrotóxicos). En tanto, la hidrólisis enzimática desarrollada bajo condiciones de pH (6-8) y la temperatura (40-60°C) puede conducir al desarrollo de los componentes

nutricionales biológicamente activos y promover las oportunidades que dan salud al consumir ingredientes lácteos (Sinha et al., 2007).

La hidrólisis sirve para minimizar el potencial de alergenicidad de algunos de los componentes del lactosuero, tales como la β -lactoglobulina (Jelen, 2011). Esto es benéfico para el desarrollo de fórmulas infantiles aptas para su consumo por bebés alérgicos a esta proteína (Sinha et al., 2007).

I.3.3 Fórmulas infantiles

Su elaboración está basada principalmente en leche de bovinos y sus derivados, para sustituir a la leche humana (Parra, 2009). En los años setentas aparecieron fórmulas infantiles basadas en lactosuero simulando la leche humana. Así fue el inicio de las fórmulas infantiles mezclando cantidades iguales de leche descremada, lactosuero desmineralizado otros componentes como vitaminas y nucleótidos. Estas fórmulas han sido desarrolladas para infantes cuyo objetivo es bajar de peso, equilibrar balances de aminoácidos para el correcto crecimiento y regular el metabolismo (Sinha et al 2007). Y alimentar a infantes intolerantes a la leche materna.

I.3.4 Generación de biomasa

El lactosuero puede ser usado como medio de cultivo para la producción de células microbianas (biomasa) como producto principal, las levaduras han sido los microorganismos más utilizados para la producción de proteína unicelular, desde 1940, particularmente *Kluyveromyces marxianus* y *Kluyveromyces lactis* (García et al., 1993; Parra, 2009; Valencia y Ramírez, 2009 y Monzón, 2010)

Los primeros estudios se efectuaron utilizando suero líquido, pero desde que los concentrados proteicos de suero han ganado enorme importancia económica, los procesos de obtención de biomasa se han centrado en el permeado (García et al., 1993).

I.3.5 Yogurt y queso a base de lactosuero

La producción y la incorporación de los concentrados de proteína de lactosuero líquidos (LWPCs) en queso fresco y yogurt se propone como una solución para la utilización inmediata de suero de leche producida por las plantas lecheras de

pequeña y mediana escala, evitando pasos de procesamiento caros (por ejemplo, evaporación y secado) para la recuperación de este subproducto. LWPCs pueden ser una buena alternativa a los productos en polvo convencionales utilizados en el queso fresco y en la fabricación de yogurt, su utilización reduce el consumo de leche y permite el aumento en el contenido de sólidos totales (Henriques et al., 2013).

I.3.6 Biopelículas y su aplicación en empaques

Varios estudios han sido publicados sobre el uso de proteína de lactosuero para su aplicación en el envasado los resultados son prometedores, en particular, por ser películas enteramente biodegradables y más aun después de un proceso de desnaturalización o en mezclas con otros biopolímeros (Parra, 2009 y Cinelli et al., 2014).

El aspecto interesante es la habilidad de las proteínas de lactosuero para crear películas insolubles en agua, funcionando así como barrera para la humedad, gases (O₂) y migración de solutos. Lo que alarga la vida de anaquel de los alimentos (Parra, 2009; Valencia y Ramírez, 2009 y Cinelli et al., 2014).

Además de ser películas transparentes, lo que les proporciona ciertas propiedades mecánicas, permiten transportar aditivos (colorantes y saborizantes) e ingredientes funcionales (antioxidantes y agentes antimicrobianos) (Parra, 2009; Valencia y Ramírez, 2009).

La industria del lactosuero se encuentra disfrutando de un gran éxito, pero los nuevos retos que se avecinan y las correspondientes oportunidades abundan. Estos retos inminentes serán abordados y las oportunidades capturadas a través de las opciones de ciencia y tecnología, asegurando así, que el sector siga teniendo un futuro brillante (Smithers, 2015).

A pesar de los grandes beneficios que ofrecen las actuales tecnologías de filtración, para las plantas productoras de queso, pequeñas y medianas, la mejor alternativa sigue siendo emplear el lactosuero líquido, ya que el gasto en equipos de tecnología de membrana sólo se logra justificar si el volumen a procesar es grande debido a la baja concentración de proteína presente en el lactosuero.

I.4 Bebidas, un sector potencial para el lactosuero

Desde principios de la década de los cincuentas hasta nuestros días implementar el uso de lactosuero como materia prima para la elaboración de bebidas es uno de los principales intereses para los desarrolladores de alimentos (Jeličić et al., 2008 y Baccouche et al., 2013).

El sector de las bebidas permite usar al lactosuero dulce o ácido en sus diversas presentaciones; en forma nativa (líquido), lactosuero nativo diluido con agua, lactosuero en polvo, lactosuero en polvo modificado, concentrados, aislados e hidrolizados de proteína de lactosuero (WPC/WPI) o fermentando el lactosuero (Miller, 2005 y Jeličić et al., 2008).

Las bebidas a base de lactosuero se pueden dividir en dos categorías; bebidas alcohólicas y bebidas no alcohólicas. En ésta última clase se ha prestado mayor atención al desarrollo de fermentadas con microorganismos probióticos y crear así bebidas funcionales con un elevado valor nutritivo y características sensoriales aceptables (Jeličić et al., 2008).

I.4.1 Bebidas alcohólicas de lactosuero

Se dividen en bebidas con bajo contenido de alcohol ($\leq 1.5\%$ v/v etanol) y por el otro lado están las bebidas con un mayor grado alcohólico; como la cerveza y el vino de lactosuero (Jeličić et al., 2008) que se describen más adelante.

Esto no quiere decir que sean las únicas bebidas alcohólicas a partir de lactosuero que se pueden encontrar. De acuerdo a lo reportado por Dragone et al, 2009; se establece que es posible obtener bebidas a base de lactosuero con mayor porcentaje de alcohol (35.45% v/v etanol) sin añadir algún sabor frutal y que éstas sigan presentando características sensoriales aceptables.

- **Bebidas con bajo contenido alcohólico**

La producción de este tipo de bebidas consiste en usar lactosuero desproteinizado, la concentración del mismo, posterior fermentación de la lactosa (usualmente por levaduras, *Kluyveromyces fragilis* y *Saccharomyces lactis*) o con la continua adición de sacarosa hasta alcanzar el contenido de alcohol deseado (0.5-1%), también se agregan esencias, edulcorantes y finalmente se embotellan.

De este modo, una cierta cantidad de lactosa se transforma en ácido acético, lo que brinda un sabor amargo y a la vez refrescante para el producto final, mientras que el resto de los carbohidratos se fermentan a alcohol (Jeličić et al., 2008).

- **Cerveza y vino de lactosuero**

La cerveza de lactosuero puede producirse con o sin la adición de malta; puede ser fortificada con minerales o contener almidón hidrolizado y vitaminas. Algunos problemas que pueden ocurrir son; posible presencia de grasa láctea, que puede causar la pérdida de la espuma, característica importante en la cerveza. Así como olores y sabores indeseables causados por la inhabilidad de la levaduras de cerveza para fermentar la lactosa (Jeličić et al., 2008).

El vino de lactosuero contiene una cantidad de alcohol relativamente baja (10-11%) usualmente se le añaden aromas frutales. La elaboración de este producto incluye la clarificación y desproteneización del lactosuero, para hidrolizar posteriormente la lactosa con β -galactosidasa, una vez efectuada esta etapa del proceso le siguen la decantación y refrigeración, adición de levaduras y fermentación, decantación, envejecimiento, filtrado y embotellado (Popović y Vujičić, 1997).

I.4.2 Bebidas no alcohólicas de lactosuero

En esta clase de bebidas se incluyen una diversidad de productos obtenidos al mezclar diversas presentaciones del lactosuero, con diferentes ingredientes y aditivos como; concentrados de frutas, cultivos de cereales y sus productos (principalmente salvado), los aislados de proteínas vegetales, ácidos grasos esenciales, vitaminas, CO₂, chocolate, cacao, vainilla y agentes aromatizantes (Jeličić et al., 2008).

Es importante resaltar que las bebidas fermentadas son hasta el momento, los productos con mayor desarrollo dentro de las bebidas de lactosuero no alcohólicas, ya que los consumidores las perciben como alimentos saludables (beneficios al organismo por la ingesta de prebióticos y probióticos) además de presentar menos problemas en su proceso de fabricación.

- **Bebidas carbonatadas**

El uso del lactosuero en la elaboración de bebidas comerciales inició en Suiza en 1952, con la introducción de Rivella Red, una bebida carbonatada, a base de lactosuero. Creada por el Dr. Robert Barth y diseñada originalmente para establecer un canal comercial a las grandes cantidades de este subproducto resultado de las operaciones lecheras rurales en ese país. Rivella fue comercializada como un refresco saludable, con sabor a “fruta agridulce” y un pH de 3.7; poco después de su lanzamiento, la bebida se convirtió en uno de los patrocinadores del equipo suizo nacional y olímpico de esquí. Aunque Rivella Red contenía 35% de suero de leche en volumen, al haber sido completamente desproteínizado no fue calificado como una bebida fuente de proteína, sino más bien como una fuente natural saludable de minerales como calcio y magnesio, así como de hidratos de carbono en forma de lactosa (Galaz, 2013).

En 1970, la compañía Coca-Cola seleccionó WPC como ingrediente para mejorar la calidad nutricional de sus bebidas, éstas pudieron ser fortificadas con un 1% de proteínas derivadas del lactosuero sin que se detectarían cambios en el sabor y apariencia (Parra, 2009).

Otros productos similares se han desarrollado en Suiza, estos son “Surelli” y “Fit”, modificando únicamente los extractos de fruta añadidos (Jeličić et al., 2008).

- **Bebidas deportivas**

Siempre se ha aconsejado a los atletas sobre qué comer, pero el campo académico que ahora se conoce como la nutrición deportiva se inició en los laboratorios de fisiología del ejercicio. En 1965, en la Universidad de la Florida un equipo de investigadores dirigidos por el Dr. Robert Cade, desarrolló la primera bebida¹ científicamente formulada y diseñada para reemplazar los líquidos y las sales perdidas por el sudor durante el ejercicio intenso (Driskell, 1999).

El éxito comercial de esta primera bebida llevó a un mayor desarrollo de los suplementos de nutrición deportiva y a la diversificación de funciones más allá de la reposición de líquidos, tales como resistencia, desarrollo de la fuerza y el crecimiento muscular (Galaz, 2013).

¹) Gatorade ®.

Debido al valioso contenido de minerales y proteína que posee el lactosuero, lo proyecta como materia prima alternativa para el desarrollo de bebidas hidratantes y de proteína.

- **Bebidas hidratantes**

Las bebidas hidratantes pueden ser isotónicas, hipotónicas o hipertónicas dependiendo de la concentración de solutos que estas presentan en comparación con la osmolaridad de la sangre (300mOsm/L) modificando así su velocidad de absorción en el organismo, de tal manera que su consumo se recomienda durante la realización de la actividad física y después de dicha actividad, para recuperar los electrolitos, carbohidratos y agua perdidos a través del sudor (Chóez, 2010).

Los productos desarrollados de manera independiente por Chóez, 2010 y Romero, 2010 tenían por objetivo el desarrollo de una bebida hidratante. En ambos estudios se logró usar el lactosuero como materia prima para la elaboración de bebidas hidratantes con gran aceptación sensorial.

Además, en el trabajo de Romero, 2010 se utiliza la miel del agave como edulcorante natural, esto complementa el desarrollo sustentable de este tipo de productos.

- **Bebidas con proteínas**

La proteína de suero, a pesar de ser más costosa que otras proteínas que pueden servir como suplemento, se convirtió en la proteína predilecta para los levantadores de pesas, gracias a las ventajas percibidas y el buen sabor. La percepción de la proteína de lactosuero como la mejor alternativa fue ayudada en parte por artículos y anuncios en revistas populares (Galaz, 2013). Existen algunos productos en el mercado² que utilizan proteína sérica.

- **Bebidas fermentadas**

Un sector exitoso es el de las bebidas fermentadas a base de lactosuero. La comercialización de estos productos generalmente se enfatiza en la salud y beneficios nutricionales. Levaduras y bacterias ácido lácticas coexisten en una asociación simbiótica y son responsables de la fermentación ácido láctica. Esta mezcla de microorganismos probióticos se liberan en el intestino humano (Parra, 2009). A continuación se hace mención del último proyecto, respecto a este tipo de bebidas, realizado en la Universidad Nacional Autónoma de México.

En el trabajo de Nava, 2012 se logró el desarrollo de una bebida simbiótica a partir de lactosuero, microorganismos probióticos y compuestos prebióticos del agave (inulina y fructooligosacáridos) con características sensoriales agradables; como perspectivas estableció el valerse de saborizantes para mejorar la aceptación del consumidor, comparar las bebidas simbióticas con bebidas comerciales y efectuar un análisis químico de las bebidas fermentadas verificando sus componentes para poder realizar un etiquetado nutrimental.

Resumiendo, a pesar de la gran diversidad de bebidas a base de lactosuero ya desarrolladas y que éstas son recomendables para una amplia gama de consumidores que va desde los niños hasta adultos mayores; la mayoría de ellas presentan problemas de aceptación sensorial (sabor y astringencia), falta de homogeneidad y sinéresis.

Es así como el verdadero reto radica en encontrar la formulación que brinde bebidas a base de lactosuero con las menores ineficiencias posibles (Jeličić et al., 2008).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

En la siguiente figura se encuentran ordenados etapas y procesos que integran el diagrama general de la investigación.

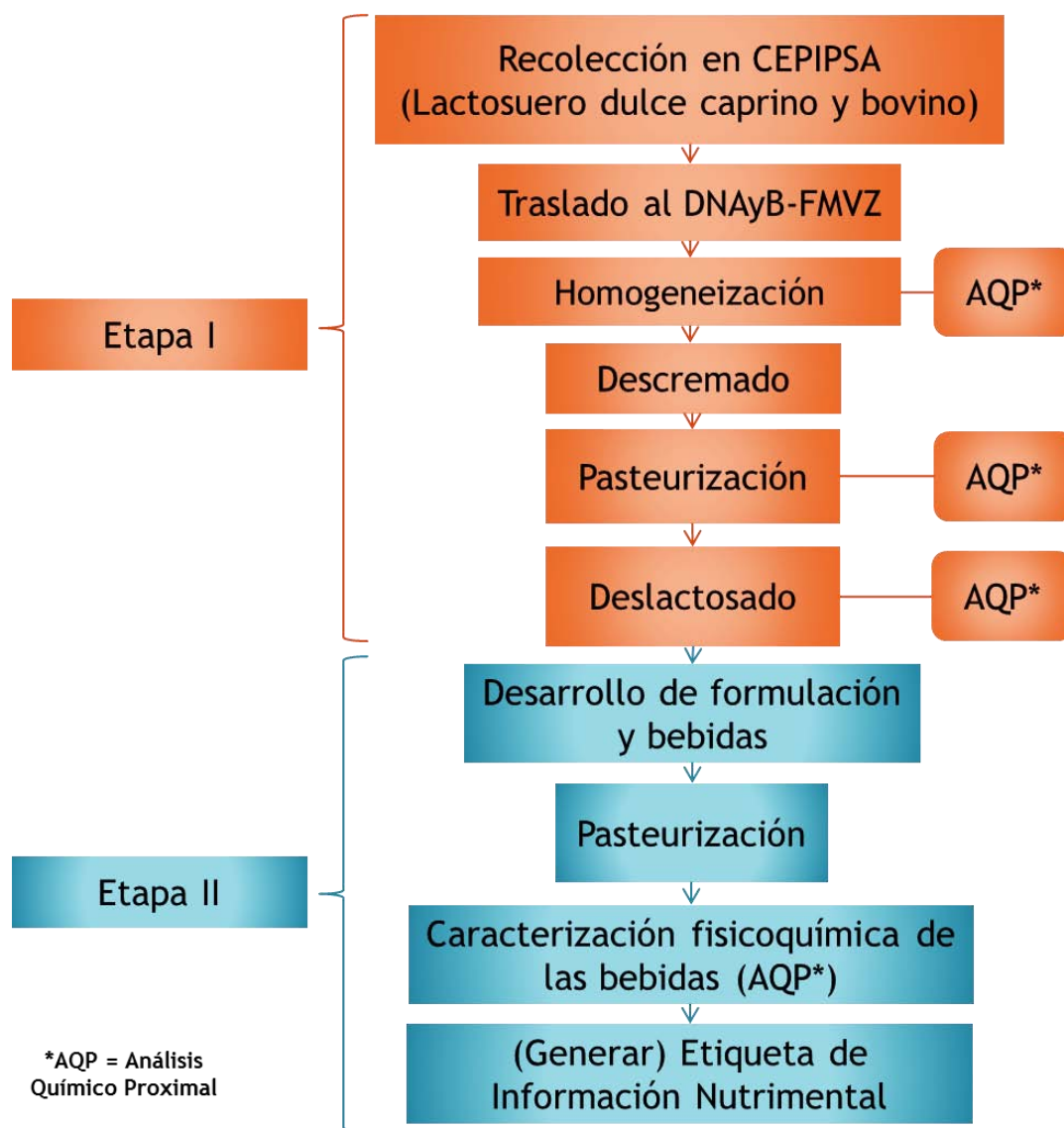


Figura 8. Diagrama general de la metodología.

Con la finalidad de alcanzar los objetivos planteados al inicio de este proyecto, el desarrollo experimental se dividió en dos etapas, la primera consistió en recolectar, caracterizar y procesar el lactosuero dulce, para obtener una materia prima inocua, libre de grasa y lactosa. Además, de conocer las propiedades fisicoquímicas del lactosuero original, lactosuero descremado/pasteurizado y lactosuero deslactosado.

En la segunda etapa se diseñó la formulación correspondiente a cada bebida, estableciendo proporciones e ingredientes finales. Se inició con la elaboración de las mismas. Posteriormente se pasteurizaron, envasaron, almacenaron y caracterizaron fisicoquímicamente. Con esta información se generaron las respectivas etiquetas de Información Nutricional, éstas se compararon con etiquetas de posibles productos competidores.

II.1 Primera Etapa: Recolección, acondicionamiento y deslactosado del lactosuero

Recolección y traslado

El lactosuero dulce, resultante en la elaboración de queso panela a partir de leche caprina y bovina, se recolectó en recipientes de Polietileno de Alta Densidad (HDPE), limpios con capacidad para 3.98 litros, dentro de las instalaciones del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en Av. Cruz Blanca No 486, San Miguel Topilejo, Delegación Tlalpan, México, D.F.

El suero fue transportado a una temperatura de 5°C; con ayuda de hieleras, hielo seco, al laboratorio de Toxicología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (DNAB) de la FMVZ de la UNAM. El tiempo de transporte no fue mayor a 40 minutos.

Acondicionamiento y primera pasteurización

En el laboratorio de Toxicología se realizó el acondicionamiento del lactosuero, iniciando por la homogeneización del mismo, en un recipiente metálico, con agitación manual constante, por 10 minutos, a temperatura ambiente. Aquí se tomaron muestras por triplicado para su posterior análisis.

El suero lácteo homogeneizado se descremó, usando el equipo Elecrem 125, se tomó esta decisión debido a que presentaba una cantidad de grasa que incrementaba el aporte energético, además de afectar negativamente a la vida útil

del producto, oxidación lipídica, e interferir con el correcto desarrollo de las bebidas y futuras determinaciones.

Al lactosuero descremado se le pasteurizó de manera convencional, 63°C/30 minutos. Nuevamente se seleccionaron tres muestras para someterlas a un análisis fisicoquímico.

Proceso de deslactosado

Finalmente el lactosuero pasteurizado y libre de grasa se sometió a un proceso de deslactosado. La enzima que se usó fue una lactasa en estado sólido³, con una actividad ≥ 9000 NLU/g. Las condiciones óptimas de la enzima son: Temperatura: 37 °C y su pH óptimo es: 6.3 - 6.7.

Para conocer la cantidad de enzima necesaria en el proceso de deslactosado se consideró lo siguiente.

- La actividad enzimática en 1 tableta de lactasa es de 9000 NLU/g, es decir, un gramo de enzima produce 9000 unidades neutras de lactasa y por cada NLU se forma 1 μmol de ONP (orto-nitrofenol)/min.
- Partiendo de la relación 1:1 entre la hidrólisis de lactosa y el ensayo enzimático realizado con orto-nitrofenil-D-galactopiranosido (ONPG), se tomó al producto de este ensayo, el orto-nitrofenol (ONP) como una base para conocer las unidades enzimáticas (UI).
- 9000 UNL/g equivalen a 9000 UI

Se sabe que por 1 UI se produce 1 μmol de sustrato/min y que el contenido teórico de lactosa en el lactosuero es 5%, por lo tanto:

$$\left(\frac{5 \text{ g lactosa}}{100 \text{ mL lactosuero}}\right) \left(\frac{1 \text{ mol lactosa}}{342 \text{ g lactosa}}\right) \left(\frac{1 \cdot 10^6 \mu\text{mol lactosa}}{1 \text{ mol lactosa}}\right) = \frac{14,620 \mu\text{mol lactosa}}{100 \text{ mL lactosuero}}$$

$$\left(\frac{14,620 \mu\text{mol lactosa}}{100 \text{ mL lactosuero}}\right) \left(\frac{1 \text{ tableta}}{9000 \mu\text{mol lactosa convertida por minuto}}\right)$$

$$= \frac{1.624 \text{ pastillas}}{100 \text{ mL lactosuero}}$$

Si cada tableta tiene una masa de 250mg es posible determinar lo siguiente:

³) Lactofin ®.

$$\left(\frac{1.624 \text{ tabletas}}{100 \text{ mL lactosuero}}\right) \left(\frac{250 \text{ mg}}{1 \text{ tableta}}\right) \left(\frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}}\right) = \frac{0.406 \text{ g de tableta de lactasa}}{100 \text{ mL de lactosuero}}$$

∴ se necesitan 0.406g de tabletas con Lactasa por cada 100 mL de lactosuero.

Se determinó que se necesitan 0.406g de tabletas de lactasa para deslactosar 100mL de lactosuero dulce, a 37° C, con un pH de lactosuero entre 6.3 y 6.7 por 30 minutos.

II.2 Análisis composicional (AOAC, 1990).

Las determinaciones correspondientes al análisis químico proximal se realizaron de acuerdo a las técnicas oficiales del AOAC.

- Acidez: AOAC Official Method 947.05, Acidity of Milk. Titrimetric Method.
- pH: Determinación de pH en alimentos, NMX-F-317-S-1978.
- Cenizas: AOAC Official Method 945.46 Ash of Milk. Gravimetric Method.
- Sólidos totales: AOAC Official Method 925.23, Solids (Total) in Milk.
- Sólidos solubles (°Brix): AOAC Official Method 932.12, Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products.
- Proteína: AOAC Official Method 920.105, Nitrogen (Total) in Milk Kjeldahl Method.
- Azúcares reductores directos: Método de ácido 3,5-dinitro salicílico (DNS), Nielsen (2003). Consultar **Anexo I**.
- Contenido de Sodio: AOAC Official Method 973.54, Sodium in water. Atomic Absorption; AOAC Official Method 984.27, Calcium, Cooper, Iron, Magnesium, Manganese, Phosphorus, Potassium, Sodium, and Zinc in Infant Formula. Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic Method.
- El contenido de grasa se realizó de acuerdo al Método de Gerber, especificado en la NOM-155-SCFI-2010, Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

II.3 Segunda Etapa: Formulación, desarrollo y caracterización de las bebidas

Elaboración de la pulpa

Inicialmente se planteó usar pulpa de fruta fabricada en el laboratorio, con ayuda del siguiente diagrama de elaboración se realizaron algunas pruebas.

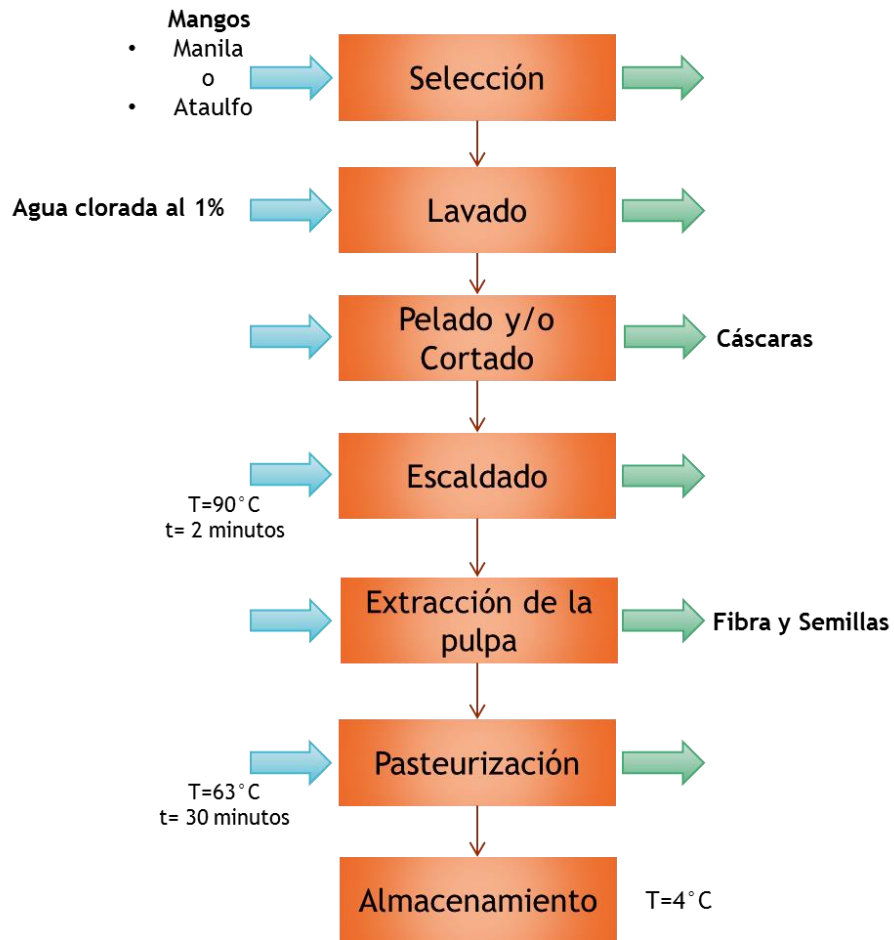


Figura 9. Diagrama de flujo para la elaboración de pulpa de mango Manila y/o Ataulfo.

La pulpa de mango se caracterizó para conocer sus componentes y poder determinar la influencia de éstos en el producto final.

Desarrollo de las primeras bebidas

Con las pulpas de mango Manila y Ataulfo, desarrolladas en el laboratorio, se dio inicio a la producción de las primeras bebidas siguiendo la formulación prueba (Tabla 15) y el siguiente diagrama de flujo.

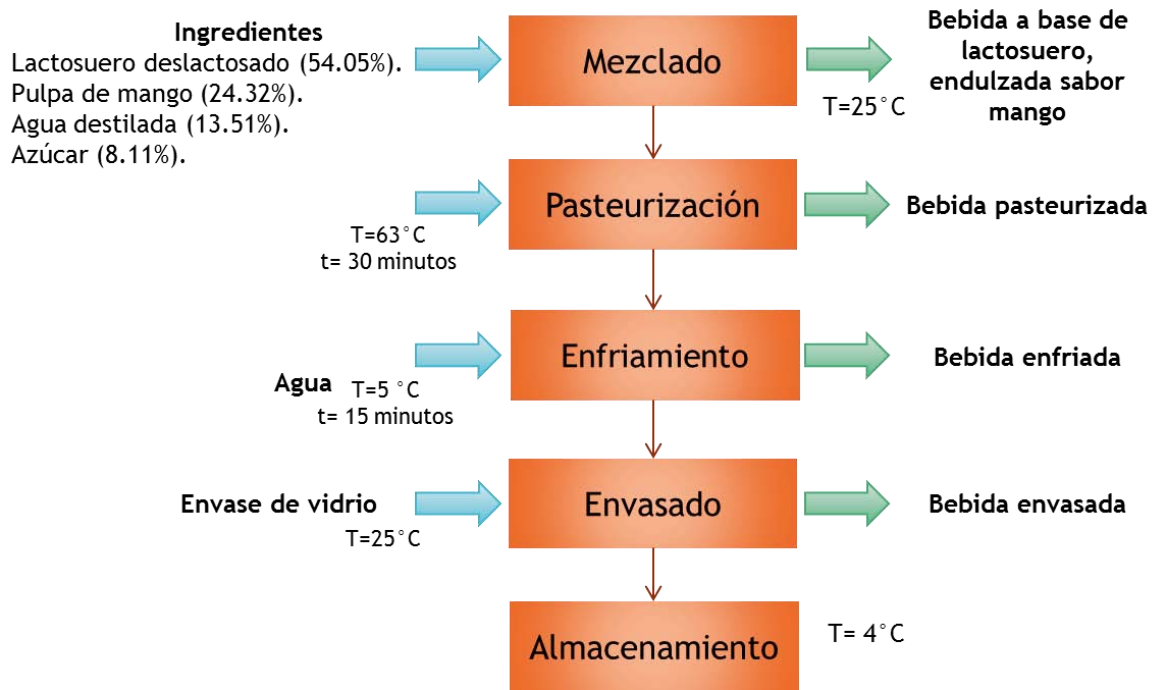


Figura 10. Diagrama de flujo para la elaboración de una bebida a base de lactosuero dulce, descremado y deslactosado adicionada con pulpa de mango.

Evaluación sensorial

Para definir el tipo de mango a usar (Manila o Ataulfo), se realizaron pruebas sensoriales afectivas, de preferencia y nivel de agrado, con una n de 50 personas, con edades de 18 a 60 años, que estudian o trabajan en la FMVZ de la UNAM. Donde se evaluaron las muestras de manera general.

La prueba de **Preferencia Pareada** (Meilgard, 1999) será la herramienta sensorial que, por ser de los protocolos más empleados durante el desarrollo de nuevos productos a nivel laboratorio y al no requerir de jueces entrenados (Rousseu, y O'Mahony, 2002), permita la evaluación de los prototipos. Consiste en una prueba afectiva en la que se presenta un set de dos muestras A y B, codificadas y ordenadas de manera aleatoria (Figura 11). La motivación de usar un método afectivo es determinar si hay una preferencia marcada hacia algún tipo de pulpa.



Figura 11. Modelo gráfico de un set para prueba de Preferencia pareada.

Las pruebas de **Nivel de agrado** permiten determinar qué tanto gusta una muestra y saber si existen diferencias significativas entre los productos por el agrado del consumidor, se usa una escala hedónica que puede ser gráfica, numérica, textual o una combinación de éstas. La escala más utilizada es la escala hedónica de 9 puntos (Drake, 2007). En esta prueba se les pide a los consumidores evaluar, de forma independiente, las muestras codificadas con números aleatorios y servidas en recipientes idénticos, señalando cuanto les agrada cada producto, marcando uno de los puntos en la escala, que va desde “1= Me gusta muchísimo” hasta “9=Me disgusta muchísimo”, pasando por el punto medio “5=Ni me gusta, ni me disgusta” (Figura 12).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Me disgusta muchísimo	Me disgusta mucho	Me disgusta medianamente	Me disgusta poco	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta poco	Me gusta medianamente	Me gusta mucho	Me gusta muchísimo

Figura 12. Escala hedónica de nueve puntos empleada en este estudio para la prueba de nivel de agrado.

La Figura 13 muestra el cuestionario que se aplicó, en él se incluyen los dos tipos de pruebas afectivas, descritas anteriormente. También se observa el nombre del estudio, número de cuestionario, datos del consumidor, fecha y las instrucciones correspondientes.



Bebida de mango a base de lactosuero

Nombre: _____ Género: F M Edad: _____
 Fecha: _____

Instrucciones:

Frente a usted tiene dos muestras, por favor pruébelas de izquierda a derecha.
 ¿Qué muestra prefiere? Márquela con una "X". Si no encuentra preferencia escoja una.

Muestra 198 Muestra 214

Ahora, por favor, indique ¿Qué tanto le agrada o desagrada cada una de las bebidas?
 Usando la escala siguiente.

Muestra 198

1 Me disgusta muchísimo	2 Me disgusta mucho	3 Me disgusta medianamente	4 Me disgusta poco	5 Ni me gusta ni me disgusta	6 Me gusta poco	7 Me gusta medianamente	8 Me gusta mucho	9 Me gusta muchísimo
-------------------------------	---------------------------	----------------------------------	--------------------------	------------------------------------	-----------------------	-------------------------------	------------------------	----------------------------

Muestra 214

1 Me disgusta muchísimo	2 Me disgusta mucho	3 Me disgusta medianamente	4 Me disgusta poco	5 Ni me gusta ni me disgusta	6 Me gusta poco	7 Me gusta medianamente	8 Me gusta mucho	9 Me gusta muchísimo
-------------------------------	---------------------------	----------------------------------	--------------------------	------------------------------------	-----------------------	-------------------------------	------------------------	----------------------------

¡Gracias!

Figura 13. Cuestionario de evaluación sensorial aplicado a 50 personas, para determinar preferencia y nivel de agrado de las bebidas en función al tipo mango.

Elaboración de las bebidas finales.

Los principales problemas que se presentaron al adquirir los frutos para fabricar más pulpa de mango y del resto de los sabores fueron:

- Conseguir fruta fuera de temporada
- La mala madurez de los frutos confería sabores desagradables a las pulpas.

Lo anterior impidió que se continuara trabajando con pulpas hechas en el laboratorio. Fue entonces cuando se decidió optar por pulpas estandarizadas⁴ que ofrecían la gama de sabores justa para esta investigación (durazno, fresa, guayaba, mango y manzana).

⁴) Frios ®. Fruta fresca, S.A. de C.V. Electrón 14, Parque Industrial Naucalpan, Naucalpan, Edo de México.

Antes de empezar con el desarrollo de los productos finales, utilizando las pulpas comerciales, se realizó una modificación necesaria a la “formulación prueba” en el porcentaje adicionado de azúcar y pulpa. Dando lugar a la “formulación final” (Tabla 18) y al siguiente flujograma de proceso.

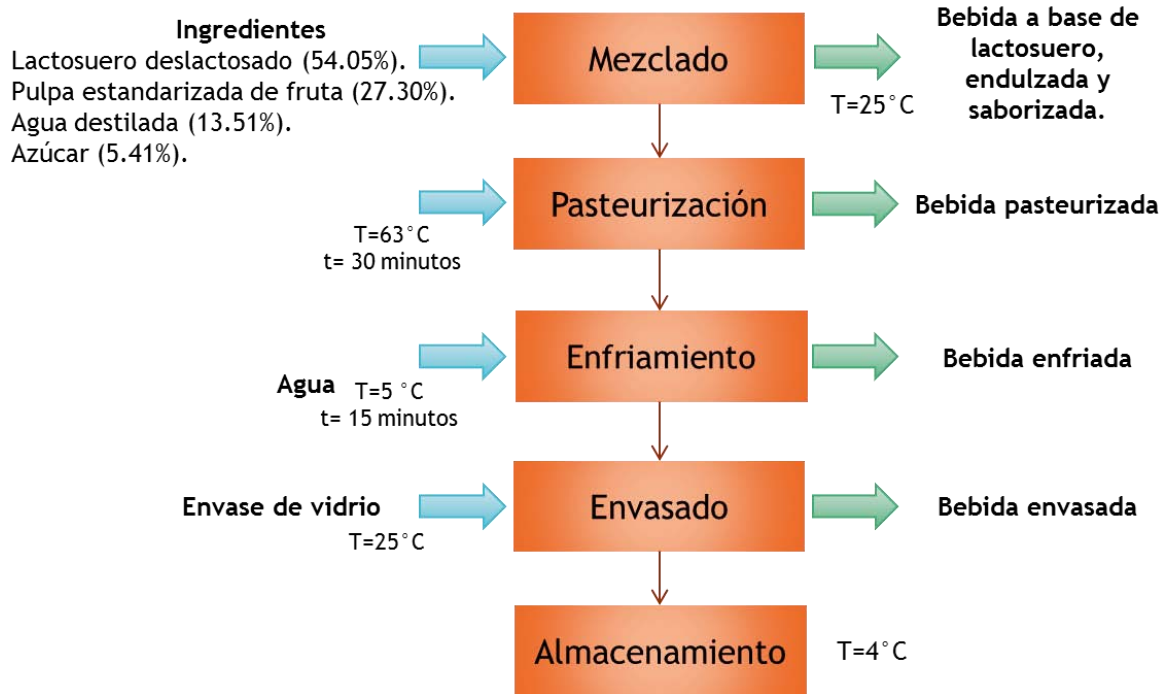


Figura 14. Diagrama de flujo para la elaboración de una bebida a base de lactosuero dulce, descremado y deslactosado adicionada con pulpa estandarizada de fruta.

Caracterización de las bebidas finales

Se realizó la caracterización fisicoquímica de las bebidas elaboradas de acuerdo a las metodologías citadas en el punto II.2. Adicionalmente se les determinó:

- Fibra dietética total: Official Method AOAC 985.29, Total Dietary Fiber in Foods. Enzymatic-Gravimetric Method.

Para lograr que el Etiquetado de Información Nutricional cumpla con lo establecido en la NOM-051-SSA-2010.

Por último, las etiquetas generadas se compararon con productos similares que actualmente se encuentran disponibles en el mercado⁵.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de las muestras se realizaron por triplicado.

III.1 Caracterización del lactosuero recolectado.

La recolección del suero se realizó en la quesería del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), donde se producen diferentes quesos y por tanto distintos lactosueros. La Tabla 7 muestra, la leche empleada para la fabricación del queso y el tipo de suero lácteo generado.

Tabla 7. Clasificación de los sueros producidos en el CEPIPSA.

Leche de origen	Queso	Clasificación del suero
Bovino	Panela	Dulce
	Oaxaca	Ácido
Caprino	Panela	Dulce
	Cabra	Ácido
Ovino	Manchego	Ácido

En este estudio únicamente se realizó la caracterización fisicoquímica del lactosuero dulce de origen bovino y caprino, por presentar características sensoriales deseables para la elaboración de las bebidas finales. Los resultados se compararon con valores de referencia establecidos en la NMX-F-721-COFOCALEC-2012 (Tabla 8).

Tabla 8. Características fisicoquímicas de los lactosueros recolectados en el CEPIPSA en comparación con valores de referencia.

Parámetro	Lactosuero Caprino	Lactosuero Bovino	Valor Referencia
pH	6.33±0.010	6.27±0.011	6.4-6.7
Acidez (%)	0.13±0.005	0.18±0.005	0.07-0.12
Proteína (%)	0.90±0.009	0.86±0.004	>0.72
Cenizas (%)	0.57±0.012	0.57±0.010	>0.53
Grasa (%)	0.93±0.058	0.83±0.058	<0.10
Humedad (%)	92.14±0.087	91.74±0.092	92-95**
Sólidos Totales (%)	6.72±0.032	7.27±0.051	5-8**

Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar. Valores de Referencia establecidos en la NMX-F-721-COFOCALEC-2012. **Se establecieron basándose en la bibliografía consultada.

Las variaciones en cada determinación se pueden atribuir diferencias en el proceso de elaboración del queso, alimentación de los animales, la raza y etapa de lactación.

A los dos lactosueros caracterizados se les observó un valor de pH por debajo a lo establecido en la norma. Sin embargo, datos reportados por Gómez, et al, (1999), Monsalve y González (2005), Teniza (2008) y Montero, et al, (2009) muestran los siguientes valores de pH: 5.6, 6.03, 6.34 y 6.36, para lactosueros dulces. Además Inda (2000) y Mena (2002) concuerdan en que un pH de 5.6-5.8 es el valor mínimo para considerar a un lactosuero del tipo dulce, esto hace aceptables los resultados que se obtuvieron.

El porcentaje de acidez titulable y el valor de pH están relacionados de manera inversa, a menor valor de pH mayor será el porcentaje de ácido láctico presente. Es el caso que se observa en esta caracterización, pH menor al de la norma; por tanto la acidez determinada rebasa los valores de referencia. Nuevamente esto no representa ningún problema ya que en las determinaciones reportadas por Monsalve y González (2005), Badui (2006) y Montero, et al., (2009) manejan porcentajes de acidez que van desde 0.12%, 0.15% hasta 2.14%, para sueros lácteos dulces, así el 0.13% (lactosuero caprino) y 0.18% (lactosuero bovino) se encuentran dentro de este intervalo.

Los porcentajes de proteína, en ambos sueros, cumplen ampliamente con la norma. Se presenta un mayor contenido de proteína en el lactosuero caprino (0.90%) en comparación al de origen bovino (0.86%); se espera que esto repercuta en el porcentaje de proteína que presenten las bebidas finales, habrá mayor aporte de proteína en las bebidas con lactosuero de cabra que en las elaboradas con suero lácteo de vaca.

Para el porcentaje de minerales (cenizas), los resultados muestran que los dos lactosueros están dentro de la normatividad vigente, además los valores de 0.56% y 0.5-0.7% registrados en Badui (2006) y Guerrero, et al. (2010) respectivamente, son cercanos al 0.57% de cenizas encontrado en esta caracterización. El

contenido de minerales varía principalmente por la adición o no de aditivos y sal durante la elaboración del queso.

Sorprende ver que el porcentaje de humedad y de sólidos totales (%ST) no estén establecidos en la NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Estos son parámetros muy importantes para determinar la calidad y rendimiento del lactosuero si se desea emplearlo como materia prima. El porcentaje de sólidos totales en el suero comprende la suma de lactosa, proteína, grasa y minerales. A mayor porcentaje de humedad, menor será el valor de sólidos totales y por ende menor el porcentaje de macro y micro nutrientes. Para el contenido de ST en la literatura se encuentran estos datos; 6.6% Fox, et al. (2000) y 6.5% Badui (2006). Además los valores encontrados para lactosuero caprino (6.72%) y bovino (7.27%) son parecidos a los reportados en trabajos previos; 5.5-7.5% Abaigar (2009), 5-7% Guerrero, et al. (2010) y 7.63% Paredes, et al. (2014). Debido a la estrecha relación entre los sólidos totales y el porcentaje de humedad, se observa que el suero de vaca caracterizado presenta menor humedad (91.74%) que el suero de cabra (92.14%).

El contenido de grasa presente en ambos lactosueros (0.93% y 0.83%), rebasa por mucho el valor de referencia; esto indica que la leche empleada para la fabricación del queso no fue normalizada u homogeneizada. Al no estandarizar el contenido de lípidos en la leche, ni reducir el tamaño ($<0.2\mu\text{m}$) de los glóbulos de grasa (Fennema, 2000 y Badui, 2006) se generó que un exceso de grasa quedara en el suero después del proceso de coagulación de caseínas.

El porcentaje de grasa en el lactosuero debe ser bajo ($<0.8\%$), de lo contrario causaría mal sabor y aroma durante el almacenamiento (Monsalve, et al., 2005). Fue por esto que se decidió someter al lactosuero original a un proceso de descremado previo a la elaboración de las bebidas, para disminuir el aporte energético proveniente de este nutriente y observar el cambio en el resto de los componentes.

III.2 Caracterización del lactosuero descremado y pasteurizado.

Se realizó la caracterización fisicoquímica de los lactosueros después del descremado y pasteurización. En la Tabla 9 y 10, se puede observar que el pH y porcentaje de acidez prácticamente permanecen constantes. No hay algún incremento significativo en la acidez que indique contaminación por presencia de microorganismos, esto permite suponer que se realizó un adecuado proceso de pasteurización.

Tabla 9. Características fisicoquímicas del lactosuero caprino antes y después de ser descremado y pasteurizado.

Parámetro	Lactosuero Original	Descremado/pasteurizado
pH	6.33±0.010	6.34±0.006
Acidez (%)	0.13±0.005	0.13±0.005
Proteína (%)	0.90±0.009	0.89±0.014
Cenizas (%)	0.57±0.012	0.58±0.010
Grasa (%)	0.93±0.058	γND
Carbohidratos reductores (%)	--NR	4.29±0.123
Sólidos solubles (°Bx)	--NR	6.1±0.12

γND: No detectado; --NR: No se realizó la determinación. Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

Tabla 10. Características fisicoquímicas del lactosuero bovino, antes y después de ser descremado y pasteurizado.

Parámetro	Lactosuero Original	Descremado/pasteurizado
pH	6.30±0.011	6.27±0.006
Acidez (%)	0.18±0.005	0.19±0.005
Proteína (%)	0.86±0.004	0.85±0.004
Cenizas (%)	0.57±0.010	0.57±0.010
Grasa (%)	0.83±0.058	γND
Carbohidratos reductores (%)	--NR	4.98±0.127
Sólidos solubles (°Bx)	--NR	6.7±0.18

γND: No detectado; --NR: No se realizó la determinación. Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

El porcentaje de proteína y cenizas presentan variaciones no mayores al 0.01%, lo que mantiene a estos valores dentro de las especificaciones de la NMX-F-721-COFOCALEC-2012.

Una vez descremado el lactosuero, se pudo determinar el porcentaje de carbohidratos reductores totales, mediante el método DNS que se basa en la oxidación de los azúcares reductores, brindando resultados colorimétricos que se miden a una longitud de onda de 540nm. Esta determinación permite determinar la eficiencia del proceso de deslactosado. El resultado 4.29% de carbohidratos reductores para el lactosuero de cabra y 4.98% para el lactosuero de vaca; se pueden considerar como el porcentaje equivalente a lactosa, ya que es el principal carbohidrato reductor en el suero lácteo (cerca del 70% de los sólidos totales).

El contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx) se determinó para su posterior comparación con los grados Brix del lactosuero deslactosado y ver cómo se afectaban estos sólidos solubles con el incremento de azúcares reductores.

III.3 Proceso de deslactosado y composición proximal del lactosuero.

Siguiendo las condiciones del proceso de deslactosado, descrito en la metodología, se decidió hacer una prueba con lactosuero dulce caprino para conocer la eficiencia del deslactosado. Durante los treinta minutos que duró el proceso se tomaron muestras de suero cada tres minutos para determinar la cantidad de azúcares reductores y dar un seguimiento a la actividad de la enzima. En la Tabla 11 y Figura 15, se puede ver que el deslactosado del lactosuero, fue eficiente ya que el porcentaje de azúcares reductores se incrementó al término del proceso, en un 98.44%, llegando a ser casi el doble de los azúcares reductores iniciales, debido a la hidrólisis de la lactosa.

Tabla 11. Porcentaje de azúcares reductores, registrado cada tres minutos, durante el proceso de deslactosado para lactosuero dulce de origen caprino.

Tiempo (minutos)	Azúcares reductores (%)
0	4.298
3	4.718
6	5.335
9	5.678
12	5.834
15	5.878
18	6.168
21	6.671
24	7.167
27	7.484
30	8.529

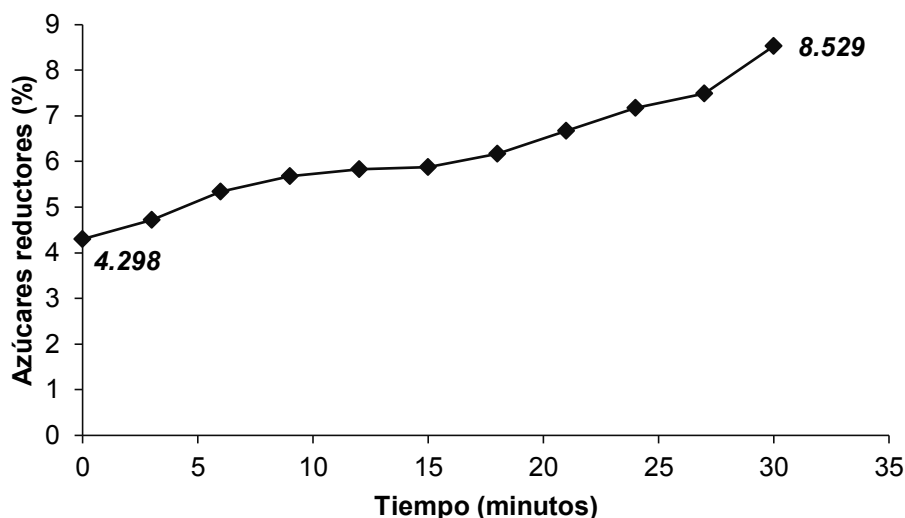


Figura 15. Actividad de la β -galactosidasa⁶ sobre la hidrólisis de la lactosa presente en el lactosuero dulce de origen caprino.

Para determinar el porcentaje de azúcares reductores se realizó una curva patrón de lactosa, ésta y un ejemplo de cálculo se localizan en la Figura 26 del **Anexo I**.

Caracterización fisicoquímica del lactosuero descremado, pasteurizado y deslactosado.

En las Tablas 12 y 13 se compara la composición del lactosuero dulce bovino y caprino deslactosado y el suero libre de grasa/pasteurizado. El análisis fisicoquímico del lactosuero después de ser deslactosado muestra un decremento del pH, por consiguiente un aumento en la acidez. También se observa que al

⁶) Lactofin ®.

hidrolizar la lactosa aumenta la cantidad de sólidos solubles y como se esperaba el porcentaje de carbohidratos reductores.

Para el suero caprino se logró hidrolizar el 98.83% de la lactosa inicial. Lamentablemente el proceso de deslactosado no fue tan eficiente para el lactosuero de origen bovino, donde solamente el 68.87% de la lactosa se logró transformar en galactosa y glucosa.

El ligero aumento de proteína se atribuye a la adición de enzima (β -galactosidasa), este incremento no implica que el suero se salga de norma, por el contrario es positivo para la calidad nutricional de la materia prima, el porcentaje de proteína final para el lactosuero caprino es de 0.091%, mayor al 0.087% del suero bovino.

Finalmente, el último análisis que se realizó al lactosuero deslactosado fue la determinación de sodio, los valores encontrados para el lactosuero de cabra y vaca son menores a los datos de Fox, et al. (2000), 0.53g/L de sodio para lactosueros dulces, el equivalente a 53mg/100mL. El contenido de sodio para el suero bovino (23.65mg/100mL) y caprino (20.68mg/100mL), resultado de esta determinación, apenas alcanza el 40% del valor de referencia. Esta variación se puede atribuir a la calidad nutricional de la leche con la que se elaboró el queso y los aditivos usados para la fabricación del mismo.

Tabla 12. Características fisicoquímicas del lactosuero caprino descremado/pasteurizado, antes y después de ser deslactosado.

Parámetro	Lactosuero Descremado/pasteurizado	Deslactosado
pH	6.34±0.006	5.83±0.017
Acidez (%)	0.13±0.005	0.16±0.005
Proteína (%)	0.89±0.014	0.91±0.001
Cenizas (%)	0.58±0.010	0.58±0.010
Grasa (%)	∓ND	∓ND
Carbohidratos reductores (%)	4.29±0.123	8.53±0.010
Sólidos solubles (°Bx)	6.1±0.12	10.3±0.12
Sodio (mg/100mL)	-.-NR	20.68±0.09

∓ND: No detectado; -.-NR: No se realizó la determinación. Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado \pm su desviación estándar.

Tabla 13. Características fisicoquímicas del lactosuero bovino descremado/pasteurizado, antes y después de ser deslactosado.

Parámetro	Lactosuero Descremado/pasteurizado	Deslactosado
pH	6.27±0.006	5.69±0.006
Acidez (%)	0.19±0.005	0.22±0.005
Proteína (%)	0.85±0.004	0.87±0.005
Cenizas (%)	0.57±0.010	0.57±0.010
Grasa (%)	∓ND	∓ND
Carbohidratos reductores (%)	4.98±0.127	8.41±0.012
Sólidos solubles (°Bx)	6.7±0.18	10.1±0.12
Sodio (mg/mL)	-:-NR	23.65±0.09

∓ND: No detectado; -:-NR: No se realizó la determinación. Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

III.4 Formulación y desarrollo de las primeras bebidas (Sabor mango).

Pulpas de mango manila y ataulfo elaboradas en el laboratorio.

Se elaboraron pulpas de mango Manila y Ataulfo de acuerdo al diagrama de la Figura 9, con el objetivo de seleccionar la variedad que enmascarara mejor el sabor salado del lactosuero y presentará mayor aceptabilidad por los consumidores.

Estas pulpas se sometieron a un análisis fisicoquímico, cuyos resultados se muestran a continuación.

Tabla 14. Características fisicoquímicas de las pulpas de mango fabricadas en el laboratorio.

Parámetro	Pulpa de: mango Ataulfo	mango Manila
pH	4.92±0.010	5.34±0.006
Acidez (%)	0.45±0.005	0.36±0.005
Proteína (%)	0.63±0.009	0.65±0.010
Cenizas (%)	0.26±0.010	0.24±0.010
Carbohidratos reductores (%)	16.09±0.04	16.26±0.05

Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

En la Tabla 14 se puede observar que las pulpas de mango, no presentan gran variación en las determinaciones fisicoquímicas, únicamente para el porcentaje de acidez y valores de pH. En el caso del mango Ataulfo su acidez, es mayor pudiendo afectar el sabor de la bebida otorgándole una nota ácida. Esto se sabrá después de analizar los resultados de la Evaluación Sensorial.

Formulación y caracterización de las primeras bebidas (Sabor mango).

Con el fin de enmascarar el sabor del lactosuero se consideraron dos factores:

- Factor A: Cantidad de pulpa de mango
- Factor B: Cantidad de lactosuero dulce

Donde la formulación con mejor aceptación para los dos mangos y lactosuero bovino fue la que se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 15. Formulación prueba para la elaboración de las bebidas a base de lactosuero dulce de bovino y caprino usando pulpa de mango (Manila o Ataulfo) para conferir sabor.

Componente	Cantidad	%
Lactosuero dulce bovino (mL)	200	54.05
Pulpa de fruta (g)	90	24.32
Agua (mL)	50	13.51
Azúcar (g)	30	8.11
	Total	100.00

Considerando que la proteína más termolábil del lactosuero es β -lactoglobulina y se desnaturaliza a temperaturas de 61-67°C, se tomó la decisión de pasteurizar la bebida a una temperatura de 63°C por 30 min; evitando así la desnaturalización de las proteínas séricas y los posibles cambios sensoriales, no deseados, en la pulpa de mango. Todo esto con el propósito de eliminar microorganismos patógenos, que pudieron contaminar la bebida durante su formulación.

Una vez pasteurizada la bebida, se procedió a envasar en recipientes de vidrio, llenando en caliente para provocar un tipo de sellado al vacío, para luego

sumergirlo en agua con hielo hasta alcanzar los 12°C. Por último el producto se almacenó en refrigeración a 4°C. A la bebida refrigerada se le realizó un análisis fisicoquímico, se obtuvieron los resultados siguientes:

Tabla 16. Características fisicoquímicas de las bebidas de lactosuero bovino con pulpa de mango Ataulfo y Manila.

Parámetro	Bebida de lactosuero bovino: Con pulpa de mango Ataulfo	Con pulpa de mango Manila
pH	3.52±0.10	4.69±0.11
Acidez (%)	0.49±0.10	0.33±0.08
Proteína (%)	0.62±0.03	0.62±0.03
Cenizas (%)	0.43±0.010	0.48±0.010
Grasa (%)	∓ND	∓ND
Carbohidratos reductores (%)	8.75±0.05	8.87±0.03
Sólidos totales (%)	12.03±1.05	12.14±1.21

∓ ND: No detectado. Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

En la Tabla 16, se observa diferencia en la acidez y en el pH, esto se debe a que la pulpa de mango Ataulfo presentó una mayor acidez, el resto de los componentes son muy parecidos. El incremento de sólidos totales, carbohidratos reductores y cenizas en las dos bebidas, se debe a la adición de la pulpa de mango y azúcar señalados en la Tabla 15.

La concentración de proteína en ambos productos, es aproximadamente la mitad de la presente en el suero bovino deslactosado, esto es un comportamiento esperado, debido a que en la formulación, sólo se ocupa el 54.05% de lactosuero y el resto es pulpa de mango, azúcar y agua (13.51%), diluyendo así el contenido de proteína original.

Evaluación sensorial de las primeras bebidas

Con el fin de conocer la aceptación de las bebidas por parte de los consumidores se realizó una evaluación sensorial, a través de pruebas afectivas. Los resultados se muestran a continuación.

Nivel de agrado

Conclusión del análisis estadístico: Hay evidencia suficiente para rechazar H_0 , las medias del nivel de agrado para las bebidas sí muestran diferencia significativa. Estadístico de prueba: t-student, con $\alpha=0.05$ (Software Fizz, by Biosystemes, 2013). Valor t calculado: -3.381, Valor crítico de t, para prueba de dos colas: $\pm 2.010 \therefore t\text{-calculado} < t\text{-crítico}$.

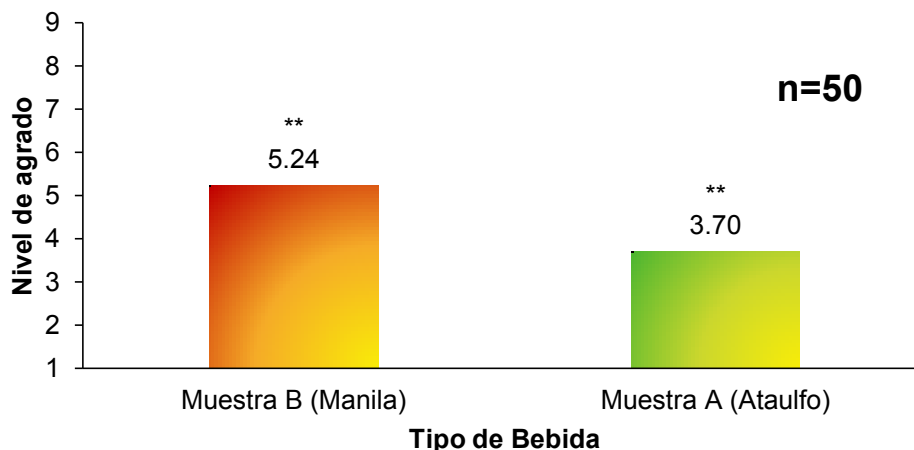


Figura 16. Nivel de agrado de la bebida en función del tipo de mango con el que se elaboró la pulpa adicionada.

El promedio de nivel de agrado para ambas bebidas no es bueno, en las dos es menor a 7 (Ver Figura 16), el equivalente a me gusta medianamente, en la escala hedónica empleada.

Se observó un claro desagrado hacia la bebida elaborada con pulpa de mango Ataulfo (3.70 = Me disgusta medianamente), por parte de las personas que realizaron la prueba.

La bebida con pulpa de mango Manila, mostró un promedio de 5.24 (Ni me gusta, ni me disgusta) como nivel de agrado, esto quiere decir que la bebida es un área de oportunidad, si se trabaja en pro de mejorar su formulación se pueden esperar mejores resultados en el futuro.

Los resultados por consumidor se encuentran en el **Anexo II**, Tabla 22.

Preferencia pareada

Conclusión del análisis estadístico: No hay suficiente evidencia para rechazar H_0 , es decir, las medias del porcentaje de preferencia para las bebidas no muestran diferencia significativa, $\alpha=0.05$ Consultar Figura 27 en el **Anexo II**.

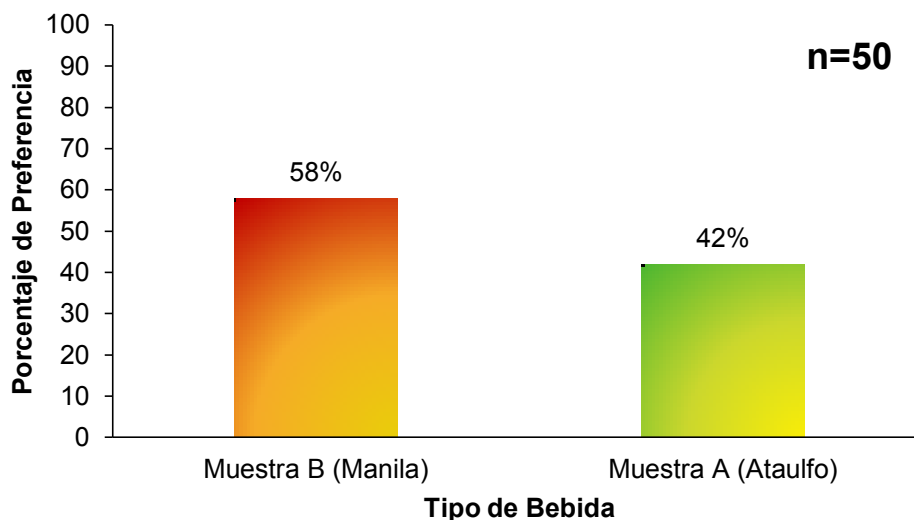


Figura 17. Porcentaje de aceptación de la bebida en función del tipo de mango con que se elaboró la pulpa adicionada.

A pesar de los porcentajes de preferencia que se observan en la Figura 17 no se puede afirmar una diferencia significativa entre las Muestras A y B. Los resultados por consumidor se encuentran en el **Anexo II**, Tabla 23.

Con base en los resultados de la evaluación sensorial, se decidió hacer la bebida con mango manila, ya que presentó un mejor nivel de agrado, por parte de los consumidores.

Desafortunadamente la temporada de mango manila en la ciudad de México es de marzo a junio, después de estos meses es difícil que se encuentre con las mismas características fisicoquímicas y sensoriales, se frustró así el poder continuar con la elaboración de pulpas naturales.

Se buscó un proveedor que tuviera pulpa de mango manila estandarizada, con características muy similares a las del mango natural, enmascarando el sabor del lactosuero y que además contara con el resto de los sabores (manzana, durazno,

guayaba y fresa) que se plantearon en el objetivo general. Se seleccionó una marca de pulpa comercial⁷ por cumplir con los requisitos anteriores; para el proyecto esta decisión favoreció la producción continua de las bebidas al no depender de las frutas de temporada durante el año.

III.5 Formulación y desarrollo de las bebidas finales.

A la pulpa comercial de mango Manila, se le realizó un análisis fisicoquímico, estos resultados se comparan con los valores de la pulpa de mango Manila natural en la siguiente tabla.

Tabla 17. Comparación entre la composición de la pulpa comercial y la pulpa de Mango Manila elaborada en el laboratorio.

Parámetro	Pulpa de:	mango Manila	mango marca comercial
pH		5.34±0.006	5.35±0.006
Acidez (%)		0.36±0.005	0.35±0.005
Proteína (%)		0.65±0.010	0.51±0.010
Cenizas (%)		0.24±0.010	0.27±0.010
Carbohidratos reductores (%)		16.26±0.05	19.30±0.05
Sólidos solubles (°Bx)		17.0±0.12	20.0±0.12

Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

Como se puede observar, los valores de pH, acidez y cenizas para la pulpa de mango de marca comercial y la natural son próximos entre sí.

Las determinaciones que presentan cambios son porcentaje de proteínas, carbohidratos reductores y sólidos solubles. Esto se debe principalmente a que en el momento de hacer la pulpa estandarizada se le agrega agua con azúcar. Lo que explicaría la disminución de proteínas al tener una menor concentración de mango en el envase y el aumento de los carbohidratos y sólidos solubles por la adición de sacarosa.

Formulación final.

En la Tabla 18 se presenta la formulación final para la elaboración de las bebidas con pulpas comerciales.

Debido a que las pulpas estandarizadas presentan mayor porcentaje de carbohidratos reductores que las pulpas naturales, se decidió disminuir 10g de azúcar y añadir 10 g más de pulpa, modificando la formulación prueba (Tabla 15), para tratar de disminuir el aporte calórico de los azúcares en bebidas finales.

Tabla 18. Formulación final para la elaboración de las bebidas a base de lactosuero dulce de bovino y caprino usando pulpa estandarizada de fruta para conferir sabor

Componente	Cantidad	%
Lactosuero dulce (mL)	200	54.05
Pulpa de fruta (g)	100	27.03
Agua (mL)	50	13.51
Azúcar (g)	20	5.41
	Total	100.00

Elaboración y Caracterización fisicoquímica de las bebidas finales.

Las Figuras 18 y 19 corresponden a las bebidas fabricadas con suero de origen caprino y bovino siguiendo el diagrama de elaboración de la Figura 14 y la formulación final (Tabla 18). Las imágenes se tomaron inmediatamente después de pasteurizar y envasar las bebidas.

En todas las bebidas se observó un aspecto homogéneo, no hubo separación de fases, hasta dos días después de almacenamiento.

El color que se aprecia en cada sabor fue impartido por la pulpa estandarizada con el colorante que utiliza la pulpa comercial; ya que durante el proceso de elaboración de las bebidas no se agregó algún aditivo.



Figura 18. Bebidas desarrolladas con Lactosuero Caprino.



Figura 19. Bebidas desarrolladas con Lactosuero Bovino.

En las Tablas 19 y 20 se muestran los resultados del análisis fisicoquímico que se realizó a las bebidas desarrolladas.

El pH para las bebidas de lactosuero caprino va de 4.32 a 4.77 con un mayor porcentaje de acidez para la bebida sabor manzana (0.54%) caso contrario para el sabor mango con el menor porcentaje de acidez (0.34%). Se observó lo mismo para las bebidas de lactosuero bovino, pero con los siguientes valores: manzana (pH=4.25, %Acidez=0.58), mango (pH=4.62, %Acidez=0.39). Esta diferencia de acidez y pH, en las bebidas de diferente suero lácteo se apega a que el lactosuero bovino deslactosado presentó un menor porcentaje de acidez y mayor pH que el lactosuero deslactosado caprino.

Tabla 19. Características fisicoquímicas de las bebidas a base de lactosuero dulce, descremado, pasteurizado y deslactosado de origen caprino.

Bebida sabor: Parámetro	MANGO	GUAYABA	DURAZNO	MANZANA	FRESA
pH	4.77 ± 0.021	4.69 ± 0.006	4.68 ± 0.010	4.32 ± 0.025	4.55 ± 0.010
Acidez (%)	0.34 ± 0.010	0.36 ± 0.000	0.37 ± 0.010	0.54 ± 0.010	0.41 ± 0.000
Proteína (%)	0.55 ± 0.005	0.49 ± 0.005	0.54 ± 0.009	0.24 ± 0.009	0.61 ± 0.009
Cenizas (%)	0.42 ± 0.017	0.40 ± 0.023	0.37 ± 0.023	0.37 ± 0.023	0.35 ± 0.017
Carbohidratos reductores (%)	6.33 ± 0.032	5.16 ± 0.010	5.62 ± 0.040	8.28 ± 0.050	7.19 ± 0.040
Fibra dietética (%)	0.39 ± 0.012	0.48 ± 0.028	0.51 ± 0.024	0.08 ± 0.004	0.26 ± 0.013
Sólidos solubles (°Bx)	22.0 ± 0.00	19.3 ± 0.58	19.1 ± 0.12	22.1 ± 0.12	17.0 ± 0.00
Sodio (mg/100mL)	10.12 ± 0.100	9.54 ± 0.100	10.33 ± 0.200	10.55 ± 0.100	11.42 ± 0.200

Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

Tabla 20. Características fisicoquímicas de las bebidas a base de lactosuero dulce, descremado, pasteurizado y deslactosado de origen bovino.

Bebida sabor:	MANGO	GUAYABA	DURAZNO	MANZANA	FRESA
Parámetro					
pH	4.62 ± 0.006	4.43 ± 0.006	4.42 ± 0.006	4.25 ± 0.006	4.39 ± 0.006
Acidez (%)	0.39 ± 0.005	0.47 ± 0.000	0.49 ± 0.000	0.58 ± 0.005	0.52 ± 0.005
Proteína (%)	0.50 ± 0.005	0.49 ± 0.005	0.48 ± 0.009	0.09 ± 0.005	0.58 ± 0.005
Cenizas (%)	0.42 ± 0.030	0.41 ± 0.010	0.35 ± 0.010	0.35 ± 0.030	0.32 ± 0.020
Carbohidratos reductores (%)	6.18 ± 0.040	4.01 ± 0.032	4.69 ± 0.036	7.62 ± 0.032	6.53 ± 0.032
Fibra dietética (%)	0.31 ± 0.005	0.41 ± 0.028	0.59 ± 0.012	0.05 ± 0.002	0.23 ± 0.006
Sodio (mg/100mL)	11.70 ± 0.100	11.31 ± 0.180	12.35 ± 0.180	11.77 ± 0.100	12.52 ± 0.060
Sólidos solubles (°Bx)	21.8 ± 0.00	19.3 ± 0.58	18.9 ± 0.58	21.7 ± 0.58	16.7 ± 0.12

Los valores corresponden al promedio de las determinaciones por triplicado ± su desviación estándar.

El porcentaje de carbohidratos y proteína nuevamente es mayor para las bebidas de lactosuero caprino en comparación con las de origen bovino (el sabor manzana presentó en ambos casos el menor porcentaje de proteína y mayor porcentaje de carbohidratos reductores). Por lo tanto, los sólidos solubles presentaron valores superiores en las bebidas a base de lactosuero caprino.

En el resto de los sabores el porcentaje de proteína va desde 0.49-0.61 para las bebidas de cabra y 0.48-0.59 para las bebidas de lactosuero de vaca.

Los porcentajes de minerales (cenizas) son prácticamente iguales en todas las bebidas; sin embargo, el contenido de sodio es mayor para las bebidas de lactosuero bovino, esto se debe a que el lactosuero deslactosado de origen bovino presentó, desde el inicio, valores más elevados de este mineral.

La fibra dietética total en todas las bebidas es menor al 1%, para casi todos los sabores es mayor en las bebidas de lactosuero caprino, con la excepción de la bebida sabor durazno, donde el 0.59% de fibra corresponde a la bebida a base de lactosuero bovino y el 0.51% pertenece a la bebida de lactosuero caprino.

Las diferencias observadas se deben, principalmente a que el suero de origen caprino siempre mostró valores más elevados en su composición comparado con el suero de origen bovino; además el lactosuero deslactosado representó el ingrediente principal en la formulación con más del 50%; repercutiendo directamente en la composición final de las bebidas.

Análisis estadístico

Se analizaron los porcentajes de proteína y carbohidratos reductores de las bebidas (software FIZZ by Biosystemes, 2013), donde la única variable fue el tipo de lactosuero, para determinar mediante una prueba de t-student (muestras independientes) si había o no diferencia significativa, con un $\alpha=0.05$.

El porcentaje de proteína para el sabor guayaba, fue la única comparación que no presentó diferencia significativa (Tabla 21).

Tabla 21. Análisis estadístico del porcentaje de proteína y carbohidratos reductores presente en las bebidas para saber si hay o no diferencia significativa.

	Bebidas lactosuero Caprino		Bebidas lactosuero Bovino			
	MANGO		MANGO		t crítico= ± 2.776	
Parámetro	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	t calculado	Decisión
Proteína	0.55	0.005	0.50	0.005	10.25	H1
Carbohidratos reductores	6.33	0.032	6.18	0.040	7.54	H1
	GUAYABA		GUAYABA			
Parámetro	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	t calculado	
Proteína	0.49	0.005	0.49	0.005	1.24	H0
Carbohidratos reductores	5.16	0.010	4.01	0.032	59.55	H1
	DURAZNO		DURAZNO			
Parámetro	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	t calculado	
Proteína	0.54	0.005	0.48	0.009	7.35	H1
Carbohidratos reductores	5.62	0.040	4.69	0.036	6.71	H1
	MANZANA		MANZANA			
Parámetro	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	t calculado	
Proteína	0.24	0.009	0.09	0.005	33.23	H1
Carbohidratos reductores	8.28	0.023	7.62	0.032	3.79	H1
	FRESA		FRESA			
Parámetro	Promedio	Desv. Estándar.	Promedio	Desv. Estándar	t calculado	
Proteína	0.61	0.009	0.58	0.005	3.13	H1
Carbohidratos reductores	7.19	0.009	6.53	0.032	24.56	H1

III.6 Etiquetas de información nutrimental

Con los resultados de la caracterización fisicoquímica a la que se sometieron los diferentes sabores de bebidas se generaron las etiquetas de información nutrimental que se presentan en la Figura 20 a la 23 de acuerdo a lo establecido en la NOM-051-SCFI-SSA1-2010; comparando las bebidas del mismo sabor a base diferente lactosuero (las etiquetas de las bebidas sabor mango se analizaron por separado).

Información Nutrimental	Información Nutrimental
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25	Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25
Cantidad por Porción Contenido energético 173.84 kcal (727.66 kJ)	Cantidad por Porción Contenido energético 170.80 kcal (714.93 kJ)
Proteínas 0.5 g	Proteínas 0.2 g
Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g	Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono) 42.98 g De los cuales Azúcares 16.56 g	Carbohidratos (hidratos de carbono) 42.52 g De los cuales Azúcares 15.24 g
Fibra dietética 0.16 g	Fibra dietética 0.10 g
Sodio 21.10 mg	Sodio 23.54 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010	NOM-051-SCFI-SSA1-2010

Figura 20. Etiquetas de información nutrimental de bebidas sabor manzana de lactosuero caprino (izquierda) y bovino (derecha).

Las bebidas sabor manzana, en comparación con el resto de los sabores, presentan el menor contenido de fibra dietética (0.10-0.16g) y proteína (0.2-0.5g); sin embargo, tienen la mayor cantidad de carbohidratos (42.52-42.98g) lo que ocasiona que formen parte del grupo de bebidas con el mayor aporte calórico.

En las etiquetas de las bebidas sabor guayaba y durazno se observan valores de contenido energético cercanos entre sí, esto se debe a que aportan aproximadamente la misma cantidad de proteína (1.0-1.1g) y carbohidratos (36.14-36.82g).

Información Nutricional	Información Nutricional
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25	Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25
Cantidad por Porción Contenido energético 151.20 kcal (632.89 kJ)	Cantidad por Porción Contenido energético 151.12 kcal (632.56 kJ)
Proteínas 1.0 g	Proteínas 1.0 g
Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g	Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono) 36.82 g De los cuales Azúcares 10.32 g	Carbohidratos (hidratos de carbono) 36.80 g De los cuales Azúcares 8.03 g
Fibra dietética 0.96 g	Fibra dietética 0.82 g
Sodio 19.08 mg	Sodio 22.62 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010	NOM-051-SCFI-SSA1-2010

Figura 21. Etiquetas de información nutrimental de bebidas sabor guayaba de lactosuero caprino (izquierda) y bovino (derecha).

Información Nutricional	Información Nutricional
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25	Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25
Cantidad por Porción Contenido energético 149.84 kcal (627.20 kJ)	Cantidad por Porción Contenido energético 148.40 kcal (621.17 kJ)
Proteínas 1.1 g	Proteínas 1.0 g
Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g	Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono) 36.38 g De los cuales Azúcares 11.24g	Carbohidratos (hidratos de carbono) 36.14 g De los cuales Azúcares 9.38 g
Fibra dietética 1.02 g	Fibra dietética 1.18 g
Sodio 20.66 mg	Sodio 24.70 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010	NOM-051-SCFI-SSA1-2010

Figura 22. Etiquetas de información nutrimental de bebidas sabor durazno de lactosuero caprino (izquierda) y bovino (derecha).

Información Nutricional	Información Nutricional
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25	Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25
Cantidad por Porción Contenido energético 133.20 kcal (557.55 kJ)	Cantidad por Porción Contenido energético 131.04 kcal (548.51 kJ)
Proteínas 1.2 g	Proteínas 1.2 g
Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g	Grasas (lípidos) 0 g De las cuales: Grasa saturada 0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono) 32.08 g De los cuales Azúcares 14.38 g	Carbohidratos (hidratos de carbono) 31.58 g De los cuales Azúcares 13.06 g
Fibra dietética 0.52 g	Fibra dietética 0.46 g
Sodio 22.84 mg	Sodio 25.04 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010	NOM-051-SCFI-SSA1-2010

Figura 23. Etiquetas de información nutricional de bebidas sabor fresa de lactosuero caprino (izquierda) y bovino (derecha).

Por último en las etiquetas de las bebidas sabor fresa se observa el menor aporte energético y el más bajo contenido de carbohidratos. Contrario a esto son las bebidas con la mayor cantidad de proteínas (1.2g) y sodio; comparadas con todas las bebidas y las bebidas a base del mismo tipo de lactosuero.

De manera general, en todos los sabores, al comparar la bebida a base de lactosuero caprino con la bebida de lactosuero bovino se observó una diferencia en la cantidad de energía, siendo la bebida a base de lactosuero caprino la que aportó un mayor contenido de nutrientes con excepción del sodio.

Comparación con etiqueta de bebida comercial

Las etiquetas de las bebidas sabor mango se compararon con la etiqueta de néctar comercial del mismo sabor; se observa que al usar lactosuero por cada 200mL de bebida se incrementa de 0 a 1 gramo el aporte de proteína, la cantidad de carbohidratos también aumenta 21.79g bebida comercial contra más de 40g para las bebidas a base de lactosuero.

Para una porción de 200mL, la fibra dietética (0.48g) es menor en el producto comercial que en las bebidas desarrolladas con lactosuero (0.62g-0.78g). Es el

mismo comportamiento para los miligramos de sodio (13.08mg vs 20.24mg o 23.40mg).

Información Nutricional		Información Nutricional	
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25		Tamaño por Porción: 413mL Porciones por envase: 1	
Cantidad por Porción Contenido energético 172.64 kcal (722.64 kJ)		Cantidad por Porción Contenido energético 180 kcal (765 kJ)	
Proteínas	1.1 g	Proteínas	0 g
Grasas (lípidos)	0 g	Grasas (lípidos)	0 g
De las cuales:		De las cuales:	
Grasa saturada	0 g	Grasa saturada	0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono)	42.06 g	Carbohidratos (hidratos de carbono)	45 g
De los cuales		De los cuales	
Azúcares	12.66 g	Azúcares	45 g
Fibra dietética	0.78 g	Fibra dietética	1 g
Sodio	20.24mg	Sodio	27 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010		NOM-051-SCFI-SSA1-2010	

Figura 24. Etiquetas de información nutrimental de bebida de lactosuero caprino sabor mango (izquierda) y bebida comercial sabor mango (derecha).

Información Nutricional		Información Nutricional	
Tamaño por Porción: 200mL Porciones por envase: 1.25		Tamaño por Porción: 413mL Porciones por envase: 1	
Cantidad por Porción Contenido energético 171.04 kcal (715.94 kJ)		Cantidad por Porción Contenido energético 180 kcal (765 kJ)	
Proteínas	1.0 g	Proteínas	0 g
Grasas (lípidos)	0 g	Grasas (lípidos)	0 g
De las cuales:		De las cuales:	
Grasa saturada	0 g	Grasa saturada	0 g
Carbohidratos (hidratos de carbono)	41.76 g	Carbohidratos (hidratos de carbono)	45 g
De los cuales		De los cuales	
Azúcares	12.36 g	Azúcares	45 g
Fibra dietética	0.62 g	Fibra dietética	1 g
Sodio	23.40 mg	Sodio	27 mg
NOM-051-SCFI-SSA1-2010		NOM-051-SCFI-SSA1-2010	

Figura 25. Etiquetas de información nutrimental de bebida de lactosuero bovino sabor mango (izquierda) y bebida comercial sabor mango (derecha).

CONCLUSIONES

- Se logró aprovechar el lactosuero dulce de origen bovino y caprino, ya que se desarrollaron diez bebidas de cinco sabores (mango, manzana, fresa, guayaba y durazno) usando como materia prima el lactosuero dulce, descremado, deslactosado y pulpa estandarizada de fruta.
- La composición fisicoquímica de ambos lactosueros (pH, porcentajes de acidez, cenizas, humedad y sólidos totales) fue similar entre sí y acorde a la bibliografía consultada. El porcentaje de grasa fue el único parámetro que presentó valores mayores a los de referencia.
- Con el proceso de descremado se retiró en la totalidad el porcentaje de grasa de los dos lactosueros sin que esto afectara significativamente al resto de los componentes.
- Se establecieron las condiciones para el proceso de deslactosado con una β -galactosidasa: pH=6.3, temperatura=37°C por treinta minutos. Por cada 100mL de lactosuero que se quería deslactosar se necesitaron 0.406g de enzima.
- El 98.83% de la lactosa presente en el suero caprino fue hidrolizada, mientras que en el suero bovino este valor fue del 68.87%. Por tanto las bebidas elaboradas a base de lactosuero deslactosado pueden ser de libre consumo entre la población en general (siendo o no intolerante a la lactosa).
- Se desarrolló la formulación base para todas las bebidas con los siguientes ingredientes y porcentajes: Lactosuero dulce descremado deslactosado (54.05%), pulpa estandarizada de fruta (27.03%), agua (13.51%) y azúcar estándar (5.41%).

- En la caracterización fisicoquímica, se observó que las bebidas desarrolladas a base de lactosuero caprino presentan un mayor porcentaje de proteína, carbohidratos reductores, sólidos solubles y por consiguiente aporte energético en comparación a las bebidas de lactosuero bovino.
- Las bebidas desarrolladas sabor mango presentaron mayor contenido de proteína (1-1.2g) que la bebida comercial seleccionada (0g). Una porción de 200mL, de la bebida desarrollada aporta 170kcal mientras que el producto comercial 87.17kcal.
- Las bebidas desarrolladas son una alternativa de uso para el lactosuero dulce de quesería en la alimentación humana por su valor nutricional.
- El proceso de elaboración de la bebida no presenta dificultades tecnológicas, requiere instalaciones de uso común y permite que los productores de queso reduzcan el impacto ambiental que ocasiona la mala disposición del suero.

PERSPECTIVAS

Se recomienda:

- *Llevar a cabo un análisis microbiológico de las bebidas a base de lactosuero para verificar su inocuidad y garantizar su consumo. A pesar de que todas las bebidas se sometieron a un proceso de pasteurización y se cuidaron las buenas prácticas de manufactura.*
- *Efectuar una investigación dirigida al uso de aditivos que alarguen la vida de anaquel de las bebidas a base de lactosuero, evitando la sinéresis que presentaron los productos aquí desarrollados, después de dos días de almacenamiento, con excepción de la bebida sabor guayaba.*
- *Utilizar edulcorantes no calóricos para ocultar el sabor salado de los lactosueros, porque como se observó en este trabajo al utilizar mayor cantidad de azúcar el aporte energético de las bebidas se incrementó al doble.*
- *Realizar un análisis sensorial con un mayor número consumidores ($n \geq 100$), delimitado por hábitos de consumo, edad y/o nivel socioeconómico, para tener un panorama más certero respecto a la aceptación de este tipo de bebidas en el mercado.*
- *Evaluar si se pueden desarrollar otro tipo de productos que contribuyan a la nutrición humana a partir del lactosuero.*

ANEXOS

I. DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Curva patrón.

Para la construcción de la curva patrón el carbohidrato reductor usado fue la lactosa, en concentraciones de 0 a 2 mg/mL. Con un mínimo de cinco puntos. Se tomó un mililitro de cada solución de lactosa a diferente concentración, un mililitro del reactivo DNS, se calentó la mezcla por 5 minutos en un baño de agua hirviendo, se enfrió para agregar diez mililitros de agua destilada. Finalmente se leyó la absorbancia del color producido a 540nm frente a un blanco de reactivos.

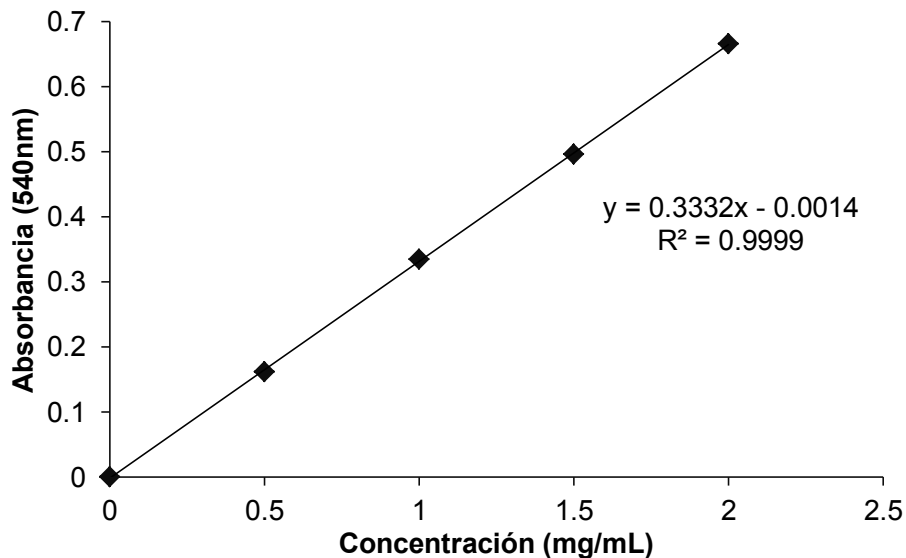


Figura 26. Curva patrón de lactosa, para la determinación de azúcares reductores por el método DNS.

Lectura de las muestras y cálculo del porcentaje de carbohidratos reductores.

El trabajo con las muestras es similar al que se llevó a cabo para la curva patrón con la excepción de que fue necesario realizar diluciones previas a la lectura. En este caso se preparó una dilución de la muestra (lactosuero: agua) 1:50. A un mililitro de dicha dilución se le sometió al tratamiento con reactivo DNS (1mL), calentamiento por 5 minutos con agua hirviendo, enfriamiento y aforo con agua

destilada (10mL). Para leer la absorbancia del color producido ($\lambda=540\text{nm}$) frente a un blanco de reactivos.

La concentración de azúcares reductores se obtuvo como se muestra en el siguiente ejemplo:

Absorbancia: 0.567 nm. Sustituyendo el valor de la absorbancia en la ecuación de la recta.

$$y=0.3332x - 0.0014$$

$$0.567=0.3332x - 0.0014$$

Posteriormente se despejo x para obtener la concentración de azúcares reductores (mg/mL):

$$x = \frac{0.567 + 0.0014}{0.3332} = 1.706 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ de azúcares reductores}$$

Para obtener el porcentaje de azúcares reductores se debe realizar la siguiente conversión:

$$\left(\frac{1.706 \text{ mg de azúcares reductores}}{1 \text{ mL solución}} \right) \left(\frac{50 \text{ mL solución}}{1 \text{ mL de muestra}} \right) \left(\frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) 100 =$$
$$= 8.529 \text{ \% de azúcares reductores.}$$

II. EVALUACIÓN SENSORIAL, PRUEBAS AFECTIVAS.

Nivel de agrado.

Tabla 22. Resultados de la prueba nivel de agrado para bebidas sabor mango Manila y Ataulfo, usando escala hedónica de nueve puntos.

¿Qué tanto le agrada o desagrada cada una de las bebidas?		
Consumidor	Muestra B (Manila)	Muestra A (Ataulfo)
1	5	3
2	7	1
3	8	2
4	5	7
5	4	6
6	4	1
7	1	5
8	8	2
9	2	3
10	7	5
11	3	4
12	7	3
13	8	1
14	4	5
15	7	5
16	5	6
17	6	3
18	5	5
19	7	4
20	4	4
21	5	5
22	5	6
23	7	5
24	3	3
25	2	1
26	6	5
27	2	3
28	2	4

Esta tabla continúa en la página siguiente

Continuación de la Tabla 22. Del consumidor 29 al 50.

¿Qué tanto le agrada o desagrada cada una de las bebidas?		
Consumidor	Muestra B (Manila)	Muestra A (Ataulfo)
29	7	5
30	5	1
31	8	5
32	7	4
33	5	6
34	7	4
35	5	6
36	7	1
37	8	2
38	4	5
39	3	5
40	5	1
41	7	1
42	2	6
43	4	5
44	8	1
45	7	3
46	7	1
47	6	3
48	7	1
49	2	7
50	2	5
Promedio	5.24	3.70
Desv Est	2.056	1.865

Preferencia Pareada.

No. of trials (n)	Probability levels						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7	7		
8	7	7	8	8	8	8	
9	8	8	8	8	9	9	
10	9	9	9	9	10	10	10
11	9	9	10	10	10	11	11
12	10	10	10	10	11	11	12
13	10	11	11	11	12	12	13
14	11	11	11	12	12	13	13
15	12	12	12	12	13	13	14
16	12	12	13	13	14	14	15
17	13	13	13	14	14	15	16
18	13	14	14	14	15	15	16
19	14	14	15	15	15	16	17
20	15	15	15	16	16	17	18
21	15	15	16	16	17	17	18
22	16	16	16	17	17	18	19
23	16	17	17	17	18	19	20
24	17	17	18	18	19	19	20
25	18	18	18	19	19	20	21
26	18	18	19	19	20	20	22
27	19	19	19	20	20	21	22
28	19	20	20	20	21	22	23
29	20	20	21	21	22	22	24
30	20	21	21	22	22	23	24
31	21	21	22	22	23	24	25
32	22	22	22	23	24	24	26
33	22	23	23	23	24	25	26
34	23	23	23	24	25	25	27
35	23	24	24	25	25	26	27
36	24	24	25	25	26	27	28
37	24	25	25	26	26	27	29
38	25	25	26	26	27	28	29
39	26	26	26	27	28	28	30
40	26	27	27	27	28	29	30
41	27	27	27	28	29	30	31
42	27	28	28	29	29	30	32
43	28	28	29	29	30	31	32
44	28	29	29	30	31	31	33
45	29	29	30	30	31	32	34
46	30	30	30	31	32	33	34
47	30	30	31	31	32	33	35
48	31	31	31	32	33	34	36
49	31	32	32	33	34	34	36
50	32	32	33	33	34	35	37
60	37	38	38	39	40	41	43
70	43	43	44	45	46	47	49
80	48	49	49	50	51	52	55
90	54	54	55	56	57	58	61
100	59	60	60	61	63	64	66

^a Values (X) not appearing in table may be derived from:
 $X = (z \sqrt{n} + n + 1)/2$. See text.

Figura 27 Número mínimo de juicios correctos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad, para pruebas de preferencia pareada y duo-trio. (una-cola, $p=1/2$)^a

Tomado de Roessler, et al. (1978).

Tabla 23 Resultados de la prueba preferencia pareada para bebidas sabor mango Manila y Ataulfo.

Consumidor	¿Qué muestra prefiere?	
	Muestra B (Manila)	Muestra A (Ataulfo)
1	1	0
2	1	0
3	1	0
4	0	1
5	0	1
6	1	0
7	0	1
8	1	0
9	0	1
10	1	0
11	0	1
12	0	1
13	1	0
14	0	1
15	1	0
16	0	1
17	1	0
18	0	1
19	1	0
20	1	0
21	0	1
22	0	1
23	1	0
24	1	0
25	1	0
26	1	0
27	0	1
28	0	1
29	1	0
30	1	0
31	1	0
32	1	0
33	0	1
34	1	0
35	0	1
36	1	0
37	1	0
38	0	1

Esta tabla continúa en la página siguiente

Continuación de la Tabla 23. Del consumidor 29 al 50.

Consumidor	¿Qué muestra prefiere?	
	Muestra B (Manila)	Muestra A (Ataulfo)
29	1	0
30	1	0
31	1	0
32	1	0
33	0	1
34	1	0
35	0	1
36	1	0
37	1	0
38	0	1
39	0	1
40	1	0
41	1	0
42	0	1
43	0	1
44	1	0
45	1	0
46	1	0
47	1	0
48	1	0
49	0	1
50	0	1
Total	29	21
Porcentaje	58	42

BIBLIOGRAFÍA

1. Abaigar, A. (2009). El lactosuero en la alimentación del ganado porcino. *Documento del Instituto Técnico y de Gestión (ITG) Ganadero*. ISSN-948-5656. 13-17.
2. AOAC, (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, 15th edition. USA: AOAC Inc.
3. Baccouche, A., Ennouri, M., Felfoul, I., y Attia, H. (2013). A physical stability study of whey-based prickly pear beverages. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 234-244.
4. Badui, S. (2006) *Química de los alimentos*. Cuarta edición. México: Pearson Educación.
5. Bolaños, D. (2011). Evaluación comparativa del tratamiento del agua residual del Taller de lácteos de la FES-Cuautitlán con quitosan y un agente químico. Tesis profesional en Ingeniería de Alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Estado de México, México.
6. Burrington, K. (2012). Sensory properties of whey ingredients. *Dairy Research Institute, Technical Report*, 1-8.
7. Callejas, J., Prieto, F., Reyes, V., Marmolejo, M. y Bustos, E. (2012). Depuración por electrocoagulación en un lactosuero: Cinética del proceso. *Tecnología Química*, 32(2), 202-213.
8. Callejas, J., Prieto, F., Reyes, V., Marmolejo, M. y Méndez M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Universitaria Dirección de apoyo a la investigación y al posgrado. Universidad de Guanajuato*, 22(1), 11-18.
9. Cárdenas, V. y De la Mora, I. (2011). Desarrollo de una bebida funcional sabor chocolate para el aprovechamiento de lactosuero de quesería adicionado con Omega 3. Tesis profesional en Ingeniería de Alimentos.

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México, México.

10. Carvalho, F., Prazeres, A., y Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the Total Environment*, 445-446, 385-396.
11. Chóez, J. (2010). Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas. Tesis profesional en Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.
12. Cinelli, P., Schmid, M., Bugnicourt, E., Wildner, J., Bazzichi, A., Anguillesi, I., y Lazzeri, A. (2014). Whey protein layer applied on biodegradable packaging film to improve barrier properties while maintaining biodegradability. *Polymer Degradation and Stability*, 108, 151-157.
13. Cuartas, B., Alcaina, M., Soriano, E., Bes, A. (2006). Comparison of two nanofiltration membranes NF200 and Ds-5 DL to demineralize whey. *Desalination*, 199(1-3), 43-45.
14. Davila, G., Alatríste, F., León, A., y Razo, E. (2009). Continuous biohydrogen production using cheese whey: improving the hydrogen production rate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(10), 4296-4304.
15. De la O., J. (2012). Utilización de las proteínas del lactosuero, para la elaboración de queso panela. Tesis profesional en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México, México.
16. Dragone, G., Mussatto, S., Oliveira, J., y Teixeira J. (2009). Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chemistry*, 112, 929-935.
17. Drake, M.A. (2007). Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 4925-4937.

18. Driskell J, Wolinsky I. (1999). *Macroelements, water, and electrolytes in sports nutrition*. Estados Unidos de América: CRC Press.
19. Edwards, P., Creamer, L., y Jameson, G. (2009) Chapter 6- Structure and stability of whey proteins. En Thompson, A., Boland, M., y Singh H. (Editores). *Milk Proteins: from Expression to Food*. Estados Unidos de América: Academic Press, 163-204.
20. Fennema, O. (2000). *Química de los alimentos*. España: Acriba.
21. Fox, P., Guinne, T., y McSweeney, P. (2000). *Fundamental of Cheese Science*. United States of America: Aspen Publishers Inc.
22. Fox, P. (2011). Lactose and oligosaccharides-Lactose: Chemistry, Properties. En Fuquay, W (Editor) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second edition). Irlanda: Academic Press, 137-181.
23. Galaz, G. (2013). Chapter 20-An Overview on the History of sports nutrition beverages. *En Nutrition and Enhanced Sport Performance: Muscle Building, Endurance, and Strength*. Canadá: Academic Press, 205-210.
24. García, M., López-Munguía, A., y Quintero R. (1993). *Biología Alimentaria*. México: Limusa.
25. Gómez, R., González, G., Mejía, A. y Ramírez, A. (1999). Proceso biotecnológico para la obtención de una bebida refrescante y nutritiva. *Interciencia*, 24(2), 205-210.
26. Guerrero, W., Gómez, C., Castro, R., González, C., y Santos, E. (2010). *Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el Valle de Tulancingo*. LA321-LA328. Universidad de Guanajuato. División de Ciencias de la Vida-Campus Irapuato-Salamanca. México.
27. Henriques, M., Gomes, D., Pereira, C., y Gil, M. (2013) Effect of liquid whey protein concentrate on functional and sensory properties of set yogurts and fresh cheese. *Food Bioprocess Technology*, 6, 952-963.

28. Inda, A. (2000). *Optimización de rendimiento y aseguramiento de inocuidad en la Industria de Quesería: Una guía para la pequeña y mediana empresa*. México: Organización de los Estados Americanos (OEA).
29. Jelen, P. (2009). Chapter 10-Whey-based functional beverages. En Paquin, P. (Editor). *Functional and specialty beverage technology*. Estados Unidos de América: CRC-Press, 259-286.
30. Jelen, P. (2011). Chapter 10-Whey-processing-utilization and products. En Fuquay, W (Editor) *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second edition). Irlanda: Academic Press, 731-737.
31. Jeličić, I., Božanić, R., y Tratnik, L. (2008). Whey-based beverages-a new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 58(3), 257-274.
32. Lodoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A. y Parra J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inocula con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 440-4421.
33. Meilgard, M. (1999). *Sensory evaluation techniques*. 3rd Edition. Estados Unidos de América: CRC Press.
34. Mena, P. (2002). *Formulación y elaboración de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso fresco y sabores de frutas*. Tesis profesional en Ingeniería Agronómica. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Honduras.
35. Miller, G. (2005). Healthy growth ahead for wellness drinks. *Food Technology*, 59(10), 21-22, 25-26.
36. Miranda, O., Ponce, I., Fonseca, P., Cutiño, M., Díaz, R., y Cedeño, C. (2009). Características fisicoquímicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el colombiano de quesos de Bayamo. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 19(1), 21-25.

37. Monsalve, J. y González, D. (2005). Elaboración de un queso tipo Ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 15(6), 543-550.
38. Montero, M., Juárez, F. y García, H. (2009). Suero de leche fermentado con lactobacilos para la alimentación de becerros en el trópico. *Agrociencia*, 43(6), 585-593.
39. Monzón, N. (2010). Uso del residuo de industrias lácteas (Suero lácteo de vaca) para la propagación de microorganismos probióticos. Tesis profesional en Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Depto. De Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Coahuila, México.
40. Nava, S. (2012). Elaboración de una bebida simbiótica a partir de un sustrato lácteo. Tesis profesional en Química de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.
41. Nielsen, S. (2003). Food analysis laboratory manual. United States of America: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
42. Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de abril de 2010
43. 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 13 de marzo de 2012.
44. Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978, Determinación de pH en alimentos, declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 23 de mayo de 1978.

45. Norma Mexicana NMX-F721-COFOCALEC-2012, Sistema-Producto Leche-Alimentos-Lácteos-Suero de leche (líquido o en polvo)-Especificaciones y métodos de prueba, declaratoria de vigencia en el Diario Oficial de la Federación el 20 de marzo de 2014.
46. Novillo, A., Peralta, D., Dima, G., Besasso, H., y Soifer, L. (2010). Frecuencia de sobrecrecimiento bacteriano en pacientes con intolerancia clínica a la lactosa. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 40, 221-224.
47. O'Mahony, M. y Rousseau B., (2002). Discrimination testing: a few ideas, old and new. *Food Quality and Preference*, 14, 157-164.
48. Panesar, P., Kennedy J., Gandhi, D., y Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105, 1-14.
49. Paredes, P., Chavéz, A., Rodríguez, J., Aguilar, N., Rentería, A., y Rodríguez, G. (2014). Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua. *Investigación y Ciencia*, 22(62), 11-16.
50. Parra, R. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agricultura Medellín*, 62(1), 4967-4982.
51. Plessas, S., Bosnea, L., Psarianos, C., Koutinas, A., Marchant, R., y Banat, I. (2008). Short communication: lactic acid production by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Lactobacillus helveticus*. *Bioresource Technology*, 99(13), 5951-5955.
52. Popović, I., y Vujičić, I. (1997). Technology whey. *Faculty of Agriculture, Novi Sad, University of Novi Sad*.
53. Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(4), 397-403.
54. Prazeres, A., Carvalho, F., y Rivas, J. (2012). Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48-68.

55. Prazeres, A., Carvalho, F., Rivas, J., Patanita, M., y Dôres, J. (2014) Reuse of pretreated cheese whey wastewater for industrial tomato production (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Agricultural Water Management*, 140, 87-95.
56. Prieto, F., Callejas, J., Reyes, V., y Marmolejo, Y. (2012). Electrocoagulación: Una alternativa para depuración de lactosuero residual. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, 5(3), 51-77.
57. Reyes, P. (2005). Alternativa para el aprovechamiento del lactosuero de quesería. Tesis Monográfica profesional en Química de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México.
58. Rivella AG (2012), Rivella–Comapany-International-AG. Disponible en: <http://www.rivella.com/ch/en/unternehmen/rivella-international/> La fuente fue consultada por última vez: 12 de diciembre de 2014.
59. Roessler, E., Pangborn, R. Slidel, J., y Stone H. (1978). Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests. *Journal of Food Science*, 43(3), 940-943.
60. Romero, A. (2010). Utilización del agave como edulcorante natural en la elaboración de una bebida hidratante a partir del suero. Tesis profesional en Ingeniería en Industrias Pecuarias. Facultad de Ciencias Pecuarias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
61. Sinha, R., Radha, C., Prakash, J., y Kaul, P. (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, 101, 1484-1491.
62. Smithers, G. (2015). Whey-ing up the options – Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, doi: 10.1016/j.idairyj.2015.01.011.
63. Smighers, G. (2008). Whey and whey proteins – From “gutter-to-gold”. *International Dairy Journal*, 18, 695-704.

64. Souza, R., Bergamasco, r., Costa, S., Feng, X., Faria, S., y Gimenes, M. (2010). Recovery and purification of lactose from whey. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 49 (11), 1137-1143.
65. Tango, M., y Ghaly, A. (1999). Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch conditions. *Biomass Bioenergy*, 16(1), 61-78.
66. Teniza, O. (2008). *Estudio del suero de queso de leche de vaca y propuesta para el reúso del mismo*. Tesis Maestría en Tecnología Avanzada. Centro de Investigaciones en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional. México.
67. Tovar, X., Arana, A., Téllez, A., Abreu., A., y Muro, C. (2012). Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentrations: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4), 369-337.
68. Valencia, E. y Ramírez, M. (2009). La industria de la leche y la contaminación del Agua. *Elementos*, 73, 27-31.
69. Ye, A., Zheng, T., Ye, J., y Singh, H. (2012). Potential role of the binding of whey proteins to human buccal cells on the perception of astringency in whey protein beverages. *Physiology & Behavior*, 106(5), 645-650.
70. Yorgun, M., Balcioglu, I., Saygin, O. (2008). Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination*. 229(1-3), 204-216.