



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Comparación del contenido de calcio y fósforo total y
ligado a proteína en leche de diferentes especies y en
bebidas de cereales, legumbres y oleaginosas”**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A

María Fernanda Avalos Galván



CIUDAD UNIVERSITARIA

Cd. de México, 2018



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: Profesora: María Elena Cañizo Suárez
VOCAL: Profesora: Bertha Julieta Sandoval Guillén
SECRETARIO: Profesor: Juan Carlos Ramírez Orejel
1er. SUPLENTE: Profesora: Verónica García Saturnino
2° SUPLENTE: Profesora: Adriana Vega Pérez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Laboratorio de Toxicología,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Con dirección en Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P.
04510.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Juan Carlos Ramírez Orejel

SUSTENTANTE:

María Fernanda Avalos Galván

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS PARTIUCULARES	4
HIPÓTESIS.....	4
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	5
1.1 Bebidas vegetales.....	5
1.1.1 Panorama general de las bebidas vegetales	5
1.1.2 Consumo de bebidas vegetales.....	6
1.2 Definición de las bebidas vegetales	10
1.3 Estructura de las bebidas vegetales	11
1.4 Visión general del proceso de obtención de bebidas vegetales	11
1.5 Clasificación de las bebidas vegetales.....	13
1.5.1 Bebida vegetal de soya.....	14
1.5.2 Bebida vegetal de almendras.....	15
1.5.3 Bebida vegetal de coco.....	16
1.5.4 Bebida vegetal de arroz.....	17
1.5.5 Bebida vegetal de nuez	18
1.5.6. Bebida vegetal de alpiste	19
1.6 Propiedades nutricionales y fortificación de las bebidas vegetales	19
1.7 Aceptación del consumidor de las bebidas vegetales	20
1.8 Normatividad internacional sobre los sustitutos de leche	21
1.9 Producción mundial de la leche	22

1.9.1. Producción de leche en México	23
1.10 Generalidades de la leche	25
1.10.1 Definición de la leche.....	25
1.10.2 Propiedades físicas y químicas de la leche.....	25
1.10.3 Estructura fisicoquímica de la leche.....	26
1.10.4 Composición química.....	26
CAPITULO 2. METODOLOGÍA.....	40
2.1 Metodología	40
2.2 Recolección de las muestras	40
2.3 Determinación de humedad	41
2.4 Determinación de sólidos totales	41
2.5 Determinación de proteína cruda	41
2.6 Digestión en húmedo y seco	41
2.7 Cuantificación de calcio	41
2.8 Cuantificación de fósforo.....	41
2.9 Precipitación de proteínas.....	41
CAPITULO 3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	42
3.1 Cuantificación de proteína total.....	42
3.2 Contenido de humedad y sólidos totales.....	44
3.3 Cuantificación de cenizas	44
3.4 Comparación de métodos de digestión: húmedo y seco	46
3.4.1 Comparación de calcio total en bebidas vegetales y en leches, por dos métodos de digestión húmedo y seco.....	46
3.4.2 Comparación de fósforo total en bebidas vegetales y en leches, por los dos métodos de digestión húmedo y seco	47

3.5 Cuantificación de calcio y fósforo total por la vía húmeda en bebidas vegetales	50
3.5.1. Cuantificación de calcio total por la vía húmeda en bebidas vegetales	50
3.5.2 Cuantificación de fósforo total por la vía húmeda en bebidas vegetales	51
3.6 Cuantificación de calcio y fósforo total por la vía húmeda en leches de diferentes especies como vaca, cabra y borrega	52
3.6.1 Cuantificación de calcio total por la vía húmeda en leches	52
3.6.2 Cuantificación de fósforo tota por la vía húmeda en leches	53
3.7 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca con TCA al 10%	56
3.7.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando TCA al 10%.....	56
3.7.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína (mg P/100 mL) en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca usando TCA al 10%.....	57
3.7.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando TCA al 10%.....	59
3.8 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca aplicando fuerza mecánica	61
3.8.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando fuerza mecánica.....	61
3.8.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg P/100 mL) usando fuerza mecánica	62

3.8.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando fuerza mecánica.....	63
3.9 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca con citrato de sodio al 10%.....	65
3.9.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando citrato de sodio al 10%.....	65
3.9.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg P/100 mL) usando citrato de sodio al 10%.....	67
3.9.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando citrato de sodio.....	69
3.10 Precipitación de proteínas en leche de vaca, cabra y borrega con quimosina	70
3.10.1 Concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg Ca/100 mL) usando quimosina	70
3.10.2 Concentración de fósforo soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg P/100 mL) usando quimosina	72
3.10.3 Cuantificación de proteína soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (g proteína/100 mL) usando quimosina	74
3.11 Relación de Ca/P en las bebidas vegetales y en las leches de vaca, cabra y borrega	75
CONCLUSIONES	77
ANEXOS.....	79
2.6 Digestión en húmedo y seco	81
2.7 Cuantificación de calcio	82

2.8 Cuantificación de fósforo.....	83
2.9 Precipitación de proteínas.....	84
BIBLIOGRAFÍA	85

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Consumo de leche contra consumo de bebidas no lácteas 2014-2015 .	7
Figura 1.2 Descenso en el consumo de leche vaca contra el consumo de leches vegetales	8
Figura 1.3 Proceso general de fabricación de los sustitutos de la leche	12
Figura 1.4 Producción mundial de leche por especies 2013	22
Figura 1.5 Principales productores de leche en el mundo 2016	23
Figura 1.6 Producción mensual de leche bovino	23
Figura 1.7 Principales estados productores de leche bovino	24
Figura 1.8 Principales países importadores de leche	24
Figura 1.9 Modificación de la micela nativa (a) al agregarle ácido (c)	34
Figura 1.10 Esquema de la precipitación de proteínas al adicionar una sal	34
Figura 1.11 Modificación de la micela nativa (a) al adicionarle quimosina (b)	35
Figura 1.12 Modificación de la micela de caseína por diferentes métodos de coagulación.....	36
Figura 2.1 Metodología	40
Figura 3.1 Contenido de calcio total por dos métodos de digestión húmedo y seco en bebidas vegetales y leches (mg Ca/100 mL).....	46
Figura 3.2 Contenido de fósforo total por dos métodos de digestión húmedo y seco en bebidas vegetales y leches de origen animal (mg P/100 mL).....	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1 Composición química de la bebida vegetal de soya por cada 100 mL	14
Cuadro 1.2 Composición química de la bebida vegetal de almendras por cada 100 mL.....	15
Cuadro 1.3 Composición química de la bebida vegetal de coco por cada 100 mL	16
Cuadro 1.4 Composición química de la bebida vegetal de arroz por cada 100 mL	17
Cuadro 1.5 Composición química de la bebida vegetal de nuez por cada 100 mL	18
Cuadro 1.6 Composición química de la vegetal de alpiste por cada 100 mL.....	19
Cuadro 1.7 Composición de la leche de vaca por cada 100 mL.....	27
Cuadro 1.8 Composición de la leche de cabra por cada 100 mL	27
Cuadro 1.9 Composición de la leche de borrega por cada 100 mL	28
Cuadro 1.10 Distribución de los diferentes iones en la leche	32
Cuadro 3.1 Contenido de proteína total en leches de origen animal y bebidas vegetales (g proteína/100 mL)	42
Cuadro 3.2 Contenido de humedad (g agua/100 mL) y sólidos totales (g sólidos/100 mL) en bebidas vegetales y leches de origen animal	44
Cuadro 3.3 Contenido de cenizas en bebidas vegetales y en leches (g de cenizas/100 mL).....	45
Cuadro 3.4 Contenido de calcio total en bebidas vegetales (mg Ca/100 mL).....	50
Cuadro 3.5 Contenido de fósforo total en bebidas vegetales (mg P/100 mL).....	51
Cuadro 3.6 Cuadro Contenido de calcio total en leches (mg Ca/100 mL)	52
Cuadro 3.7 Contenido de fósforo total en leches (mg P/100 mL)	53
Cuadro 3.8 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)	56
Cuadro 3.9 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL).....	57
Cuadro 3.10 Cuadro Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)	60

Cuadro 3.11 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)	61
Cuadro 3.12 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)	62
Cuadro 3.13 Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)	64
Cuadro 3.14 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)	66
Cuadro 3.15 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)	67
Cuadro 3.16 Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)	69
Cuadro 3.17 Concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg Ca/100 mL)	71
Cuadro 3.18 Contenido de fósforo soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg P/100 mL)	72
Cuadro 3.19 Contenido de proteína soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (g proteína/100 mL)	74
Cuadro 3.20 Proporción de Ca/P en leche de vaca, cabra, borrega y en bebidas vegetales	75

RESUMEN

De acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010 se denomina leche a la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluida del calostro. En general la leche tiene una composición promedio de 87.3% de agua, 3.25% de proteína, 3.9% de lípidos, 4.6% de lactosa y 0.75% de minerales. La precipitación de las proteínas puede realizarse empleando diferentes estímulos externos, ya sean de naturaleza física, química o biológica, provocando de esta manera una fase soluble e insoluble en la que se distribuyen los minerales. Existen alternativas para sustituir la leche de vaca por las comúnmente denominadas “leches vegetales”, que por norma a las “leches vegetales” no se les puede nombrar leches, por lo tanto en el presente trabajo a las “leches vegetales” se les van a llamar bebidas vegetales (B.V). En el presente trabajo se realizaron dos métodos de digestión húmedo y seco para comparar y cuantificar el calcio y fósforo total, en las B.V de soya, arroz, coco, nuez, alpiste y almendras y en leche de vaca, cabra y borrega; para observar la posible relación que existe en estos minerales entre las leches y las B.V., donde se obtuvo mayor concentración de calcio y fósforo total en las leches en comparación con las B.V. por la vía húmeda con respecto a la digestión seca. Posteriormente se hizo la precipitación de las proteínas con 4 métodos distintos: con pH (TCA¹), fuerza mecánica (centrifugación), fuerza iónica (citrato de sodio) y actividad enzimática (quimosina), utilizando en la leche de vaca los 4 métodos de precipitación, en las B.V. se usó pH, fuerza mecánica e iónica y en las leches de cabra y borrega el método enzimático, se cuantificó el calcio y fósforo soluble e insoluble, y se hizo una comparación para poder establecer una posible relación entre el contenido de sus minerales y la procedencia de la leche de diferentes especies y las B.V.. Asimismo se evaluó el contenido de proteína total, soluble e insoluble en todas las muestras y se hizo la comparación de éstos contenidos entre las muestras. Concluyendo que el contenido de calcio y fósforo en las bebidas vegetales no está ligado a sus proteínas como en las leches de diferentes especies.

¹ TCA.- Ácido Tricloroacético

² B.V. - Bebidas vegetales

INTRODUCCION

Debido a su alto valor nutritivo, y a que sus componentes se encuentran en la forma y proporciones adecuadas, la leche representa el alimento más balanceado y apropiado **(Badui, 2012)**. La fracción salina de la leche se encuentra entre 800-900 miligramos/100 mL de leche y se compone de cationes como el Ca, Mg, Na y K y aniones como fosfato inorgánico, citrato y cloruro. Estos iones están más o menos asociados entre sí o con proteínas. Dependiendo del tipo del ion se pueden encontrar en la fase acuosa o parcialmente asociados con moléculas de caseínas **(Gaucheron, 2011)**.

En la fase acuosa continua se encuentran disueltas, conjuntamente con la lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de Ca, K, Mg, Na y trazas de Fe. En la fase coloidal están en suspensión las micelas de caseínas insolubles que contienen Ca y P unidos a su estructura y sales compuestas de fosfato de Ca coloidal, citratos y Mg, que contribuyen a estabilizar las micelas **(Closa, 2003)**.

Hoy en día se pueden encontrar varios inconvenientes al consumo de la leche a pesar de seguir siendo una de la más consumidas, la intolerancia a la lactosa, la tendencia vegana o vegetariana y el consumo de alimentos libres de aditivos son factores que han producido una transformación en el mercado la cual marca la importancia de ofrecer al público sucedáneos origen vegetal que aporte los beneficios de la leche. Es por ello que éstas elaboradas a base de ingredientes vegetales y agua, son buenas opciones según el autor, ya que no contienen lactosa ni colesterol y son bajas en grasa **(Hernandez, 2016)**.

Aunque los sustitutos lácteos a base de vegetales se han consumido durante siglos como una parte tradicional de varias culturas, se está desarrollando un nuevo interés y el mercado de tales productos se está expandiendo rápidamente. El mercado de estos sustitutos lácteos a base de vegetales es impulsado por muchos intereses e influenciado por diferentes opiniones. Actualmente la mayoría de los consumidores no están eligiendo estos sustitutos de lácteos por necesidad si no por preferencia **(Jeske, 2017)**.

Las necesidades diarias de calcio pueden satisfacerse mediante alimentos ricos en este nutrimento, alimentos y bebidas enriquecidos en calcio o suplementos. La leche y los derivados lácteos se consideran la mejor fuente dietética por el contenido y la biodisponibilidad del calcio que contienen, los componentes que favorecen la solubilidad del calcio son los fosfopéptidos procedentes de las caseínas; ya que el calcio ya sea orgánico o mineral que está unido a la caseína se libera rápidamente durante la digestión y de esta manera su biodisponibilidad es elevada **(Farré, 2015)**. Además del calcio, la leche también se reconoce como una fuente importante de fósforo que está presente en forma orgánica e inorgánica **(Pereira, 2013)**.

Por otro lado **Valencia 2011**, menciona que las proteínas lácteas mejoran enormemente la biodisponibilidad del calcio. Sin embargo en los alimentos de origen vegetal como en las almendra y avellanas, algunas verduras como col, espinacas entre otras y leguminosas como las alubias; tienen contenidos de calcio del mismo orden, pero la cantidad de calcio estimada absorbible es en general inferior a la obtenida que en la leche **(Farré, 2015)**.

Esta baja biodisponibilidad del calcio en los alimentos vegetales se debe a diferentes componentes como los fitatos presentes en cereales, frijoles y semillas comestibles; los oxalatos presentes en hojas verdes de los vegetales; ácidos grasos de cadena larga, fluoruros, fosfatos y ciertas fibras pueden reducir la biodisponibilidad del calcio por la formación de complejos de calcio insolubles **(Valencia, 2011)**.

El bajo contenido de calcio en las bebidas de soya y la presencia de ácido fítico (componente intrínseco de las leguminosas), obliga a enriquecerlas con calcio **(Farré, 2015)** y se ha encontrado que el fosfato tricálcico adicionado a éstas muestra una absorción de 25% menor que en la leche de vaca **(Valencia, 2011)**.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el contenido de calcio y fósforo total, soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y oveja así como en las bebidas vegetales a base de cereales (arroz y alpiste), legumbre (soya) y oleaginosas (almendra, coco y nuez) para observar si estos minerales en las bebidas vegetales se encuentran ligados a sus proteínas y en la misma concentración que en la leche de vaca, cabra y oveja.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el contenido de proteína total, soluble y coloidal en leches de diferentes especies y en bebidas vegetales para comparar entre éstas.
- Seleccionar el método de digestión más adecuado entre el húmedo y el seco para comparar la concentración de calcio y fósforo total y determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre estos dos métodos.
- Cuantificar el calcio y fósforo total, soluble y coloidal por espectroscopia de absorción atómica y espectrofotometría de uv-vis respectivamente en leches y en bebidas vegetales para poder establecer una posible relación entre el contenido de estos minerales y su procedencia.
- Comparar diferentes métodos de precipitación de proteínas como físico (centrifugación), químicos (ácido tricloroacético y citrato de sodio) y enzimático (quimosina) en las proteínas de las leches y en las proteínas de la bebidas vegetales para poder establecer que método es el más eficiente para lograr la precipitación.
- Comparar el contenido de calcio y fósforo total, soluble y coloidal en las leches con respecto a las bebidas vegetales para observar si en las bebidas vegetales se tiene la misma relación de calcio y fósforo con respecto a las leches de diferentes especies.

HIPÓTESIS

Si se evalúa el contenido de calcio y fósforo total, soluble y coloidal en las leches de diferentes especies, así como en bebidas vegetales entonces se podrá establecer una posible correlación entre el contenido de estos minerales y su procedencia.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Bebidas vegetales

1.1.1 Panorama general de las bebidas vegetales

Las bebidas vegetales se han consumido en las primeras civilizaciones de todo el mundo. La mayoría de ellas están disponibles en el mercado local o se preparan tradicionalmente en el hogar en una escala muy pequeña para proveer a la familia o para la comunidad local. La primera bebida vegetal que se comercializó fue la bebida de soya que fue producida en Asia en 1940 y se extendió al mundo occidental rápidamente (**Jeske, 2017**).

El mercado de los alimentos refleja cada vez más la demanda de los consumidores de productos alimenticios saludables. Un claro ejemplo de esta tendencia se puede observar en las llamadas bebidas vegetales, que están hechas principalmente de semillas y cereales, y tienen una larga historia tanto en las culturas orientales como occidentales. Las ventas europeas de la bebida de soya y de otras bebidas no lácteas aumentan más de un 20% anual y en España el mercado de las bebidas no lácteas creció aún más. Del mismo modo las ventas de las bebidas de arroz, almendras y otras alcanzaron 1.300 millones en 2011. La bebida vegetal más conocida y más popular es la de soya, aunque la demanda de arroz, almendras, avena y bebida de coco están en aumento (**Bernat, 2014**).

Existe una amplia gama de formulaciones como: aromatizadas, endulzadas, no endulzadas, bajas en grasas y enriquecidas. Excluyendo a Asia, las alternativas de las leches no lácteas todavía representan un mercado relativamente pequeño. El desarrollo y el aumento de la demanda de estos productos tendrían una ventaja adicional, que podría ser de interés económico de muchos países; la materia prima de la que provienen generalmente no requiere condiciones específicas de suelo o clima para adaptarse aunque, por supuesto, la productividad podría cambiar (**Bernat, 2014**).

En el mundo actual, las bebidas vegetales ya no se consideran como aquellas que solo llegan a quitar la sed, más bien los consumidores buscan funcionalidad

específica en estas bebidas, que forman parte de su estilo de vida. Se prevé que el mercado de las alternativas de bebidas vegetales crecerá un 15% entre el 2013-2018 y se espera que alcance un valor de 14.000 millones de dólares **(Sethi, 2016)**.

En los últimos informes de Mintel² 2014 se comentó que la demanda de estos productos llamados bebidas vegetales, se ha incrementado su consumo y se triplicó en muy poco tiempo de 36 millones de litros en 2011 a 92 millones de litros en 2013. La tasa anual de estos productos no lácteos es de 15.5% que en términos de valor económico se espera que alcance en 2020 20 mil millones de dólares **(Naziri, 2017)**.

Un número creciente de consumidores han optado por sustitutos de la leche a base de vegetales por razones médicas o como opción de su estilo de vida. Las razones médicas incluyen la intolerancia a la lactosa, como prevalencia mundial del 75%, y la alergia a leche de vaca. Además en donde los países la leche de los mamíferos es escasa y costosa, los sustitos a base de vegetales sirven como una opción más accesible **(Makinen, 2016)**.

En 2015, más de 130 variantes de bebidas vegetales diferentes estaban disponibles en el mercado europeo con un valor de 1.500 millones de dólares en Estados Unidos, sin embargo la atención todavía es poca para estos productos y no han recibido la atención científica que merecen en las últimas décadas. Sin duda el mercado de estas bebidas vegetales está creciendo rápidamente y se está volviendo cada vez más popular en todo el mundo. A pesar de que la soya sigue siendo la principal, otros vegetales están en tendencia y la variedad está creciendo **(Jeske, 2017)**.

1.1.2 Consumo de bebidas vegetales

En los últimos cinco años el consumo de leche cayó 14.5%, en tanto la demanda de las fórmulas no lácteas de arroz, coco, almendras y soya creció 22.5% en el mismo periodo, de acuerdo a datos de la agencia de investigación de mercados Euro Monitor. En 2010 las fórmulas elaboradas a base de soya, arroz y almendras le han arrebatado parte del mercado a la leche de vaca, la cual en los últimos 5 años se

² Mintel.- Estudios de mercado

ha visto reducir su consumo de 4 mil 456 millones de litros a 3 mil 810 millones. En tanto, el consumo de sustitutos de leche pasó de 101 millones a 123 millones de litros anuales. Fernando Álvarez Kuri, vicepresidente de la agencia de mercados MillwardBrown, consideró que el hecho de que las bebidas vegetales concentren varios beneficios en un sólo producto también explica su auge, al mismo tiempo que los hábitos del consumidor de leches se han ido modificando.

Los especialistas argumentan que la popularización de dietas vegetarianas y la búsqueda de alimentos nutritivos por parte del consumidor, dispuesto a pagar precios superiores que los de la leche, están detrás de los crecimientos sostenidos de los sustitutos de leche. El valor de mercado de las bebidas alternativas en México continuará expandiéndose debido a la prevalencia de consumidores intolerantes a la lactosa, a pesar de que suelen costar hasta 70% más que la leche fresca y cada año la leche pierde mercado frente a fórmulas alternativas hechas a base de almendra, soya, arroz o coco (Villamil, 2016).

A continuación en la Figura 1.1 se muestra el consumo de leche contra el consumo de bebidas no lácteas en México.

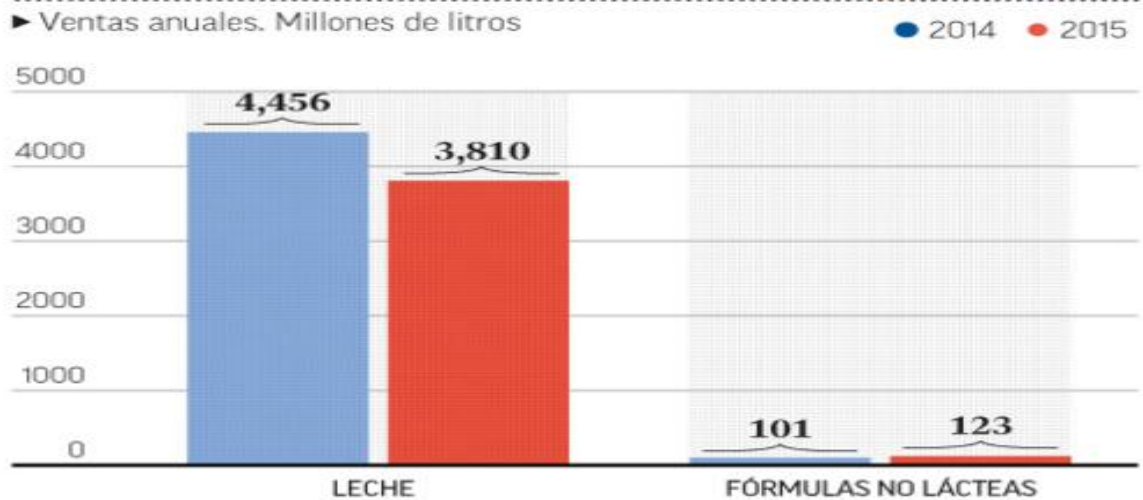


Figura 1.1 Consumo de leche contra consumo de bebidas no lácteas 2014-2015 (Villamil, 2016)

De acuerdo con otra fuente, en México la alergia es la que restringe en algunas personas el consumo de leche, así como la intolerancia a la lactosa, o bien porque algunos prefieren productos que no sean de origen animal o simplemente porque no las consideran saludables por lo tanto las bebidas vegetales como las elaboradas a base de soya, almendras, coco, arroz y avellana han aumentado su participación en el mercado. Al respecto, los especialistas e industriales lácteos señalan que no se puede calificar a estos productos como sustitutos de leche, porque la leche solamente se obtiene de la glándula mamaria de un mamífero (Valverde, 2016).

Las bebidas vegetales parecen estar ganándole cuota al mercado de la leche y los pronósticos de futuro apuestan por una disminución gradual del consumo de leche en favor de las alternativas vegetales. Así lo asegura la consultora Canadean en su **latest long-term forecast to 2021**, que prevé un descenso del consumo de la leche para el oeste de Europa de un 0,2% y un aumento del 2,2% en el consumo de las bebidas vegetales. Tendencia, que como vemos en la Figura 1.2, se acentúa aún más en el caso de América del Norte (Martinez, 2016).

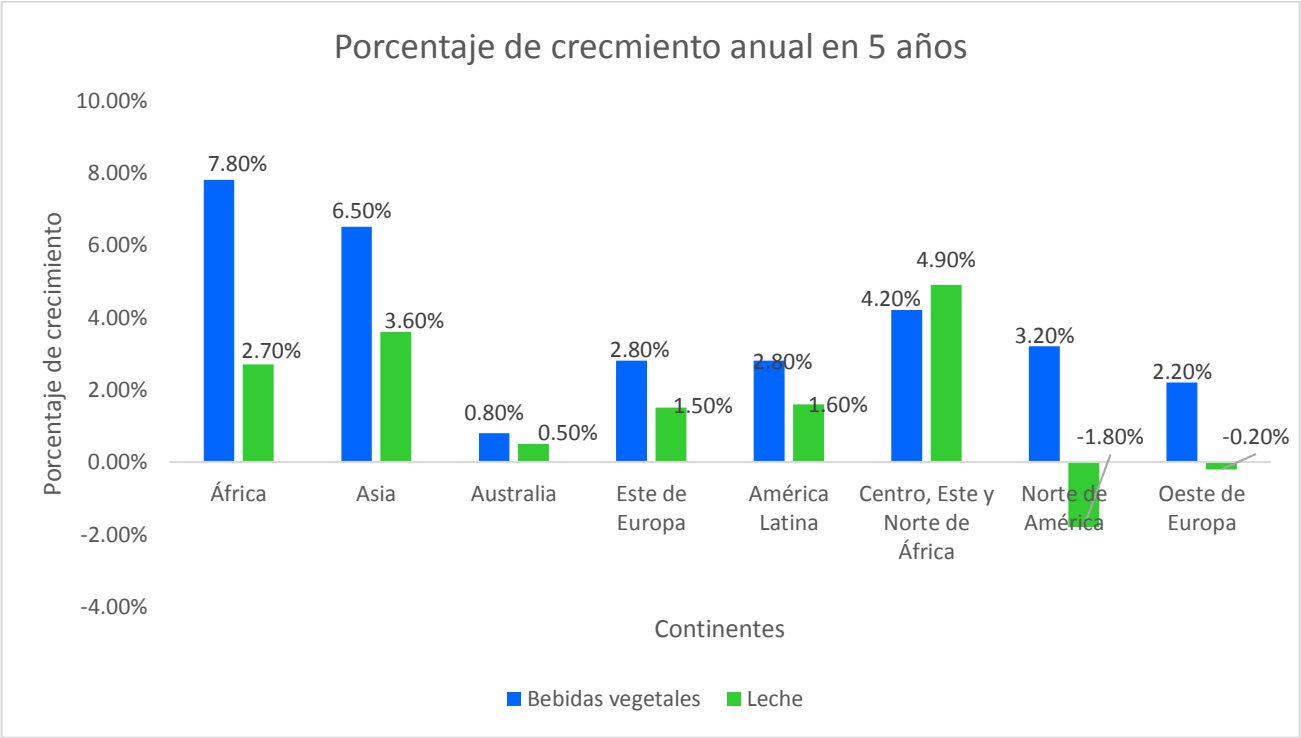


Figura 1.2 Descenso en el consumo de leche vaca contra el consumo de leches vegetales (Modificado de Martínez, 2016)

De igual manera en España, según los datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente en el TAM³ de octubre 2015, se observó el aumento del consumo de bebidas vegetales que denota un crecimiento del 15,8% relativo al volumen de ventas, superando los 20 millones de litros. En cuanto a su valor, este aumento se cuantifica en más de 30 millones de euros, lo que supone un 19,5%. Todo ello sitúa a España como el segundo mercado Europeo para este tipo de bebidas. Por el contrario, el consumo de leche en España en los últimos 15 años ha pasado de 100 litros per cápita en 2010 a 72,2 litros en 2015 **(Martinez, 2016)**.

Si tenemos en cuenta los datos de Alimarket⁴, las bebidas vegetales ya superan en valor a las leches sin lactosa, tras crecer un 17,8% en 2015. En definitiva, hay coincidencia en los diferentes informes en que las bebidas vegetales están marcando una importante tendencia de consumo que seguirá creciendo en los próximos años **(Martinez, 2016)**.

En otro artículo de Mintel 2014 ha revelado que las ventas de la leche disminuyeron un 7% en 2015 (17.8 mil millones) y se proyecta caer un 11% en 2020, en cambio para los sustitutos de la leche obtuvieron una ganancia del 9% en 2015, hay una popularidad continua entre estos productos de bebidas no lácteas, según la investigación de Mintel revela que casi la mitad (49%) de los estadounidenses consumen estos productos; también informa que 7 de cada 10 (69%) de los consumidores están de acuerdo que la leche no láctea es saludable para los niños en comparación con el 62% que está de acuerdo en que la leche láctea es saludable para los niños. Entre los consumidores de leche no láctea, casi la mitad (46%) la beben una vez al día. De acuerdo con el informe Dairy Management Inc. de Enero de 2016 las bebidas no lácteas siguen mostrando una creciente tendencia de ventas en 2015. Si esta tendencia continúa, es importante comprender como estas bebidas se comparan con la leche de vaca, no solo en el contenido del producto, sino también en la biodisponibilidad de los nutrientes **(Singhal, 2017)**.

³ TAM (Total Addressable Market).- Una estrategia para calcular el tamaño del mercado

⁴ Alimarkete.- Empresa líder en generación de contenidos de información económico-sectorial en España

1.2 Definición de las bebidas vegetales

Las alternativas a la leche a base de vegetales, son fluidos que resultan de la reducción del tamaño del material vegetal (cereales, pseudo-cereales, legumbres, oleaginosas), extraído en agua, seguido de una homogenización de tales solutos, dando como resultado una distribución del tamaño de la partícula en el intervalo de 5-20 μm que imita a la leche de vaca en aspecto y consistencia **(Sethi, 2016)**. Otra definición de las bebidas vegetales, es que son el jugo blanco obtenido de algunas plantas, frutos o semillas **(Trejo, 2015)**. Estas bebidas vegetales se hacen parecerse visualmente a la leche de vaca y a menudo incluyen la palabra “leche” en el nombre de la bebida **(Singhal, 2017)**.

Estas bebidas vegetales pueden sustituir a la leche de vaca y sus ventajas son que no contienen lactosa, colesterol y proteína animal. Además son muy digestivas, ayudan a las personas con estreñimiento, colon irritable entre otras cosas. Sus usos son los mismos que la leche de vaca, se pueden tomar solas o endulzadas, con café, cereales u otros **(Gaspoz, 2014)**.

Por su composición, muchas de estas bebidas presentan características particulares (sin gluten, sin lactosa, sin colesterol, baja en grasas saturadas) que las hacen adecuadas para ciertos sectores de la población. Entre los principales consumidores se encuentran los vegetarianos, personas con celiaquía, con intolerancia a la lactosa, alergia a las proteínas lácteas, personas que consumen alimentos orgánicos entre otros **(Dyner, 2015)**.

Hay una amplia variedad de bebidas tradicionales a base de vegetales en todo el mundo por ejemplo la bebida de horchata y bebida de chufa en España, la bebida de sykhye hecha de arroz cocido, extracto de malta y azúcar en Corea del Sur, boza una bebida fermentada de trigo, centeno, mijo y maíz que se consume en Bulgaria, Albania, Turquía y Rumania; una bebida de sorgo de malta de mijo fermentada procedente de Uganda y la bebida de soya tradicional procedente de China **(Makinen, 2016)**.

1.3 Estructura de las bebidas vegetales

Técnicamente, las bebidas vegetales son una especie de emulsión diluida de las fracciones: amilácea, proteica y lipídica de la materia prima de partida, con una distribución homogénea de los sólidos solubles en suspensión. Poseen una apariencia similar a la leche de vaca y cuyo uso es semejante **(Trejo, 2015)**.

El aspecto del producto es blanquecino debido a la solubilización del almidón, en el caso de los cereales, o la formación de una emulsión de lípidos en agua como cuando se utilizan materias primas de alto contenido graso (soya o semillas) **(Dyner, 2015)**. También a los sustitutos de la leche se les considera como suspensiones coloidales o emulsiones que comprenden material vegetal disuelto y desintegrado. Estas se preparan tradicionalmente mediante el molido de la materia prima para eliminar partículas gruesas **(Makinen, 2016)**.

1.4 Visión general del proceso de obtención de bebidas vegetales

Los sustitutos de la leche se pueden producir extrayendo el material soluble mediante la molienda del material vegetal con agua o moliendo en húmedo los granos o legumbres en una suspensión. Alternativamente puede reconstituirse usando aislados o concentrado de proteína y otros ingredientes como por ejemplo aceites, azúcares, sales y estabilizantes. Después sigue la etapa de extracción que tiene un efecto sobre la composición del producto; para incrementar el rendimiento se aumenta el pH con NaHCO_3 o con NaOH , temperaturas elevadas o el uso de enzimas. El pH alcalino aumenta la extracción de la proteína, pero es necesario neutralizar posteriormente; una mayor temperatura de extracción aumenta la extractibilidad de los lípidos pero disminuye la solubilidad de las proteínas debido a su desnaturalización afectando el rendimiento. La hidrólisis parcial de proteínas y polisacáridos utilizando enzimas es otra forma que aumenta el rendimiento de la extracción. Después de la etapa de extracción, las partículas gruesas se eliminan de la suspensión por filtración, decantación o centrifugación. Una vez terminada la etapa de filtración, se les pueden añadir otros ingredientes a la base del producto; estos incluyen vitaminas y minerales utilizados para la fortificación, así como edulcorantes, aromas, sal, aceites y estabilizadores. La estabilidad de la suspensión

es un problema en los sustitutos de la leche a base de vegetales, los hidrocoloides se usan a menudo para aumentar la viscosidad de la fase continua, y también se ha demostrado que los emulsionantes son benéficos para este tipo de bebidas. Algunas fuentes de minerales utilizados son el citrato de amonio férrico y el pirofosfato férrico como fuentes de hierro y el fosfato tricálcico y el carbonato de calcio como fuente como calcio. Los sustitutos de la leche contienen partículas insolubles tales como proteínas, almidón, fibras y otros materiales celulares. Estas partículas que son más densas que el agua, pueden sedimentar, haciendo al producto inestable por lo tanto la homogenización mejora la estabilidad al interrumpir los agregados y las gotitas de lípidos y así disminuir la distribución del tamaño de la partícula. Por último los sustitutos de la leche se pasteurizan o se tratan con UHT para extender la vida útil (**Makinen, 2016**).

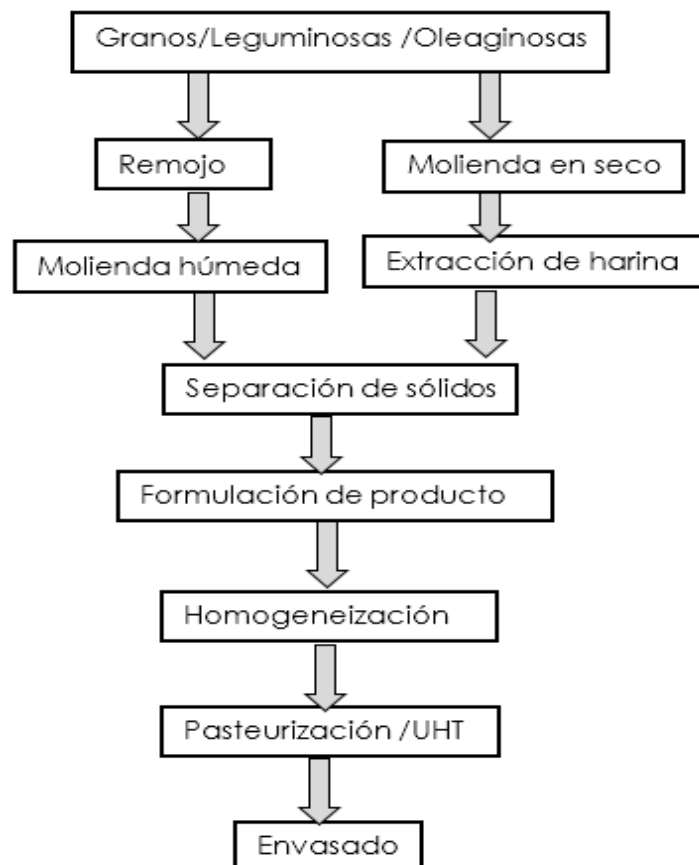


Figura 1. 3 Proceso general de fabricación de los sustitutos de la leche (Modificado de Makinen, 2016)

1.5 Clasificación de las bebidas vegetales

Aunque todavía no existe una definición y clasificación de las alternativas vegetales en la literatura, se intenta hacer una clasificación general de las alternativas vegetales en 5 categorías (**Sethi, 2016**) :

- ☉ A base de cereales: leche de avena, leche de arroz, leche de maíz, leche de espelta
- ☉ A base de legumbres: leche de soya, leche de cacahuate, leche de altramuza, leche de caupí
- ☉ A base de nueces: leche de almendras, leche de coco, leche de avellanas, leche de pistacho, leche de nueces
- ☉ A base de semillas: leche de sésamo, leche de lino, leche de cáñamo, leche de girasol
- ☉ A base de pseudocereales: leche de quinoa, leche de amaranto

Según la literatura existe otra clasificación de estas bebidas vegetales en dos grandes grupos las nueces y los cereales. A parte de nueces y cereales, se han utilizado otras materias primas tales como tubérculos por ejemplo bebida de chufa y vegetales como bebida de cáñamo o de girasol, sin embargo estos productos sólo son bien aceptados en países específicos. Algunas de las características de esta clasificación de las bebidas se muestran a continuación (**Bernat, 2014**):

“Bebidas de cereales”: Se caracterizan porque los cereales son una buena fuente de energía diaria, vitaminas, varios minerales, fibra dietética y fitoquímicos. El uso del grano entero, es altamente recomendable cuando se producen.

“Bebidas de nueces”: Debido a su composición, los frutos secos y productos a base de nuez han traído recientemente la atención de los especialistas de la alimentación. Se caracterizan por ser ricas en ácidos grasos polinsaturados, proteínas vegetales, fibra dietética, fitoesteroles, polifenoles, vitaminas y minerales.

1.5.1 Bebida vegetal de soya

La bebida vegetal de soya se ha convertido en un sustituto de la leche de vaca con importantes propiedades. Se ha planteado la hipótesis de que la bebida de soya, basada en su composición nutritiva, es comparable a los productos lácteos. Las alternativas a los productos lácteos, especialmente a base de soya, se han vuelto frecuentes y se consumen ampliamente como una bebida alternativa entre aquellos que evitan el uso de productos lácteos. La bebida vegetal de soya generalmente se fortifica con calcio y vitamina D (**Matthews, 2011**). El extracto hidrosoluble de soya es un producto obtenido por la extracción de la parte acuosa de los sólidos solubles de los granos, el cual consiste en una suspensión de proteínas y carbohidratos (**Valles, 2012**).

La bebida vegetal de soya se caracteriza porque es rica en proteínas de alta calidad y no contiene colesterol ni lactosa, por lo tanto la pueden consumir personas deficientes de lactasa. Por otro lado, muchas personas pueden encontrar el sabor de la bebida de soya indeseable, debido a la presencia de oligosacáridos no digeribles como la estaquiosa y la rafinosa y el sabor crudo del frijol; y esto ha limitado el amplio consumo de la leche (**Icier, 2015**).

En la Cuadro 1.1 se muestra la composición química de la bebida vegetal de soya.

Cuadro 1.1 Composición química de la bebida vegetal de soya por cada 100 mL (Valles,

Componente	Bebida vegetal de Soya (g)
Agua	91.53
Sólidos totales	8.47
Carbohidratos	3.80
Lípidos	1.40
Proteínas	3.00
Cenizas	0.27

1.5.2 Bebida vegetal de almendras

La bebida vegetal de almendras está presente en el mercado europeo como alternativa a la leche de los animales, siendo particularmente útil para las personas con intolerancia a la lactosa o alergia a la leche animal por ejemplo alergia a la proteína de vaca **(Briviba, 2016)**. A pesar de que bebida de almendras probablemente suena como un producto relativamente nuevo, a las personas les atrae su alto contenido de proteínas. Por sus propiedades nutrimentales, ha servido de sustituto a la leche, ya que por naturaleza no contiene lactosa ni colesterol **(Trejo, 2015)**.

La bebida vegetal de almendras es la que tiene más participación en el consumo de las bebidas de nueces totales. En comparación con otras bebidas vegetales, la bebida de almendras es naturalmente una buena fuente de vitaminas, especialmente de la vitamina E que no puede ser sintetizada por el cuerpo, también es una fuente de otros nutrientes como calcio, magnesio, selenio, potasio, zinc, fósforo y cobre **(Sethi, 2016)**. La bebida de almendras consiste en un extracto de almendras molidas junto con agua **(Miñana, 2015)**.

En el Cuadro 1.2 se muestra la composición química de la bebida vegetal de almendras.

Cuadro 1.2 Composición química de la bebida vegetal de almendras por cada 100 mL (Dyner, 2015)

Componente	Bebida vegetal de Almendras (g)
Agua	94.34
Sólidos totales	5.66
Carbohidratos	0.72
Lípidos	2.31
Proteínas	2.30
Cenizas	0.33

1.5.3 Bebida vegetal de coco

La bebida vegetal de coco juega un papel importante en la cocina del sudeste Asiático. No sólo se consume como bebida, si no que se utiliza como ingrediente en el número uno de recetas dulces. La bebida de coco se caracteriza porque tiene un alto contenido de lípidos, es rica en vitaminas y minerales como hierro, calcio, potasio, magnesio y zinc, también contiene una cantidad significativa de vitamina C y E (Sethi, 2016).

El CODEX 240 define a la bebida vegetal de coco como la emulsión diluida del endospermo de coco desmenuzado en agua, con una distribución de sólidos en suspensión (CODEX 240, 2003). La bebida vegetal de coco recién extraída es una emulsión estable, que requiere energía extra para desestabilizar esta emulsión. Es naturalmente estabilizado por proteínas de coco tales como globulinas y albúminas, así como fosfolípidos. Algunas de las proteínas presentes en la fase acuosa de la bebida de coco interactúan con glóbulos de grasa y actúan como emulsionantes al rodear su superficie (Raghavendra, 2010). La bebida vegetal de coco es un producto perecedero debido a su alto contenido aceite, humedad y ácidos orgánicos, su deterioro ocurre dentro de dos horas después de su extracción (Trejo, 2015).

En el Cuadro 1.3 se muestra la composición química de la bebida vegetal de coco.

Cuadro 1.3 Composición química de la bebida vegetal de coco por cada 100 mL (Hernández, 2016)

Componente	Bebida vegetal de Coco (g)
Agua	67.61
Sólidos totales	32.39
Carbohidratos	5.54
Lípidos	23.84
Proteínas	2.29
Cenizas	0.72

1.5.4 Bebida vegetal de arroz

La bebida vegetal de arroz se ha empleado como sucedáneo de la leche. Su uso es semejante, como acompañar a los cereales y preparar productos en los que prevén como ingrediente la leche. Se puede preparar con harina de arroz hinchado o harina elaborada en húmedo, opcionalmente se puede añadir azúcar y/o algunas sustancias como aromatizantes o saborizantes. El contenido total y valor biológico de las proteínas de arroz es claramente inferior al de las proteínas lácteas. Por lo tanto, si se pretende que sea un alimento completo es necesario suplementarlo, con los aminoácidos esenciales en los que es deficiente. Tradicionalmente, en el mercado se puede encontrar bebida de arroz natural, en polvo o no aromatizada (Trejo, 2015). Se considera una bebida realmente energética por su alto contenido en hidratos de carbono (Gaspoz, 2014).

En el Cuadro 1.4 se muestra la composición química de la bebida vegetal de arroz.

Cuadro 1.4 Composición química de la bebida vegetal de arroz por cada 100 ml (Trejo, 2015)

Componente	Bebida vegetal de Arroz (g)
Agua	89.28
Sólidos totales	10.72
Carbohidratos	9.17
Lípidos	0.97
Proteínas	0.28
Cenizas	0.30

1.5.5 Bebida vegetal de nuez

Se conoce como una bebida funcional a partir del fruto seco, rica en componentes bioactivos. Se utiliza como sucedáneo de la leche de vaca, se puede consumir sola o con frutas/cereales (Trejo, 2015).

Las nueces son alimentos dulces ricos en almidón y lípidos, cuya composición depende principalmente de su origen geográfico. Las bebidas de nueces fueron tradicionalmente en países mediterráneos, pero hoy en día su consumo se ha expandido en casi todo el mundo. Por las reacciones físico-químicas que se producen durante el almacenamiento como por ejemplo la actividad enzimática, la autoxidación de lípidos y las inestabilidades coloidales son algunos parámetros de calidad que intervienen en su pérdida de calidad. La bebida vegetal de nuez es una dispersión compleja que se obtienen del extracto acuoso de las nueces (Codina-Torella, 2017). En México esta bebida es relativamente desconocida, prácticamente el consumo de la nuez es en época invernal de manera directa, en confitería o en pan (Trejo, 2015).

En el Cuadro 1.5 se muestra la composición de la bebida vegetal de nuez.

Cuadro 1.5 Composición química de la bebida vegetal de nuez por cada 100 mL (Codina-Torella, 2017)

Componente	Bebida vegetal de Nuez (g)
Agua	84.83
Sólidos totales	15.17
Carbohidratos	12.00
Lípidos	2.00
Proteínas	0.97
Cenizas	0.20

1.5.6. Bebida vegetal de alpiste

La materia prima son las semillas de alpiste especiales para el consumo humano, estas se mezclan con agua, pues de la trituration de las mismas es donde se obtiene el líquido que se conoce como “leche de alpiste”. Es considerada como una bebida de origen vegetal similar a la de soya. Tiene un alto contenido en proteínas de gran valor orgánico, una gran cantidad de antioxidantes, se caracteriza porque es rica en lipasa y se considera que un buen diurético (**Medrano, 2013**).

En el Cuadro 1.6 se muestra la composición química de la bebida vegetal de alpiste.

Cuadro 1.6 Composición química de la vegetal de alpiste por cada 100 mL (Medrano, 2013)

Componente	Bebida vegetal de Alpiste (g)
Agua	90.48
Sólidos totales	9.52
Carbohidratos	7.00
Lípidos	1.00
Proteínas	1.17
Cenizas	0.35

1.6 Propiedades nutricionales y fortificación de las bebidas vegetales

Los sustitutos de leche son a menudo percibidos como saludables, posiblemente debido a las percepciones negativas sobre las propiedades nutricionales de la leche. En realidad, las propiedades nutricionales varían mucho, dependen fuertemente de la materia prima, procesamiento, fortificación y la presencia de otros ingredientes como edulcorantes y aceites. Si estos productos son presentados como sustitutos de la leche de vaca, el contenido y la calidad de las proteínas, así como la fortificación, deben ser considerados por los fabricantes. Se debe prestar atención a las posibles formas de mejorar las propiedades nutricionales mediante las condiciones de procesamiento, por ejemplo: el uso de enzimas y la selección de

materias primas en función de su calidad proteínica. También se debe hacer un enfoque en el paso de la extracción para que sea más eficiente la proteína del material y por lo tanto la formulación de los productos tenga valores de proteínas más altos. **(Makinen, 2016).**

Muchos fabricantes agregan la palabra “leche” al nombre de su producto, sugiriendo una bebida saludable, pero estas bebidas difieren en la leche de vaca en el contenido nutricional; la sustitución inadecuada con estas bebidas aumenta el riesgo de deficiencia nutricional. Una preocupación de las bebidas vegetales es la biodisponibilidad de los nutrientes fortificados, el estado físico de la sustancia en la bebida fortificada y su interacción con la matriz alimenticia son determinantes para la capacidad de absorción, sin embargo no hay información sobre la biodisponibilidad de nutrientes fortificados en las bebidas no lácteas **(Singhal, 2017).**

Por lo tanto con el fin de utilizar las bebidas vegetales como sustitutos de la leche de vaca la fortificación de proteínas, vitaminas y minerales esenciales debe realizarse. Las bebidas a base de cereales que contengan menos proteínas que la leche de vaca, están obligadas por ley a tener un consejo en la etiqueta de que el producto no es adecuado como un reemplazo completo de leche para niños menores de 5 años **(Sethi, 2016).**

La Unión Europea autoriza una amplia lista de compuestos de calcio para el enriquecimiento de los alimentos como son: el carbonato, cloruro, citrato, malato, gluconato, glicerofosfato, lactato, hidróxido, óxido acetato, L-ascorbato, bisglicinato, sales de ácido cítrico, piruvato, sales de ácido ortofosfórico, succinato, L-lisinato, malato, L-pidolato, L-treonato, sulfato. Dada la variabilidad de la biodisponibilidad del calcio que proporcionan, es conveniente su evaluación como paso previo a su uso en el enriquecimiento de los alimentos o como suplemento **(Farré, 2015).**

1.7 Aceptación del consumidor de las bebidas vegetales

Aunque la demanda de los sustitutos de leche está aumentando, la falta de voluntad del consumidor para probar alimentos desconocidos que se perciben poco atractivos puede ser un factor limitante. Por ejemplo muchas bebidas vegetales de

soya pueden tener una calidad sensorial mejorada, ya que estos productos tienden a poseer sabores desagradables de “beany” ya que depende de las condiciones del procesamiento y almacenamiento. Otro problema de estos sustitutos es una sensación arenosa en la boca que algunos tienen debido a las partículas insolubles grandes **(Makinen, 2016)**.

Los consumidores esperan que los productos vegetales, se asemejen a los productos de la leche. Se ha comparado que simplemente la similitud visual de un sustituto vegetal y etiquetado como tal, está aumentando la voluntad de compra, pero si las propiedades sensoriales no coinciden con las expectativas, entonces el consumidor podría estar decepcionado y por lo tanto no le va a gustar el producto. Tratando con estos problemas, la publicidad de tales alternativas de alimentos vegetales es un punto clave **(Jeske, 2017)** .

Según **Jeske, 2017** en una encuesta se preguntó a las personas sobre su intención futura sobre consumir más seguido los sustitutos de leche y el 86% declararon que si los comprarían más seguido si mejorarían el sabor de estas bebidas y el 73% las consumirían más si los productos tuvieran beneficios probados para la salud.

1.8 Normatividad internacional sobre los sustitutos de leche

Los nombres de los productos como leche y queso son términos lácteos tradicionales y los consumidores se refieren a estos productos esencialmente derivados de productos lácteos. Sin embargo los sustitutos lácteos a base de plantas, están etiquetados con los mismos descriptores para lograr las expectativas. La Comisión Europea regula claramente el término leche que se utiliza exclusivamente para la secreción mamaria normal obtenida a partir de una o más ordeñas sin adición o extracción, la Comisión Europea permite excepciones para la las bebidas vegetales de coco y almendras, por lo tanto la leche de coco y la de almendras son los únicos sustitutos lácteos a base de vegetales que pueden ser etiquetados como “leche” en la Unión Europea. En ningún otro país se aplica este reglamento **(Jeske, 2017)**.

1.9 Producción mundial de la leche

En el 2013 las principales especies productoras de leche a nivel mundial fueron la leche de vaca con un 85% de la producción, seguida de la leche de búfala con 11%, cabra 2%, oveja 1% y camella 0.4% (FAO, 2015), como se observa en la Figura 1.4.



Figura 1.4 Producción mundial de leche por especies 2013 (FAO, 2015)

Según la **FAO**, en el 2013 los principales países productores de leche fueron la India (18%), Estados Unidos de América (12%), Brasil y China (5%), Alemania y Rusia (4%), Francia y Nueva Zelanda (3%), Pakistán y Turquía (2%).

Sin embargo para el año 2016 el mayor productor de leche fue la Unión Europea con 149 mil toneladas de leche y México ocupó la posición 7 en la producción de leche (**SIAP, 2016**), como puede apreciarse en la Figura 1.5.

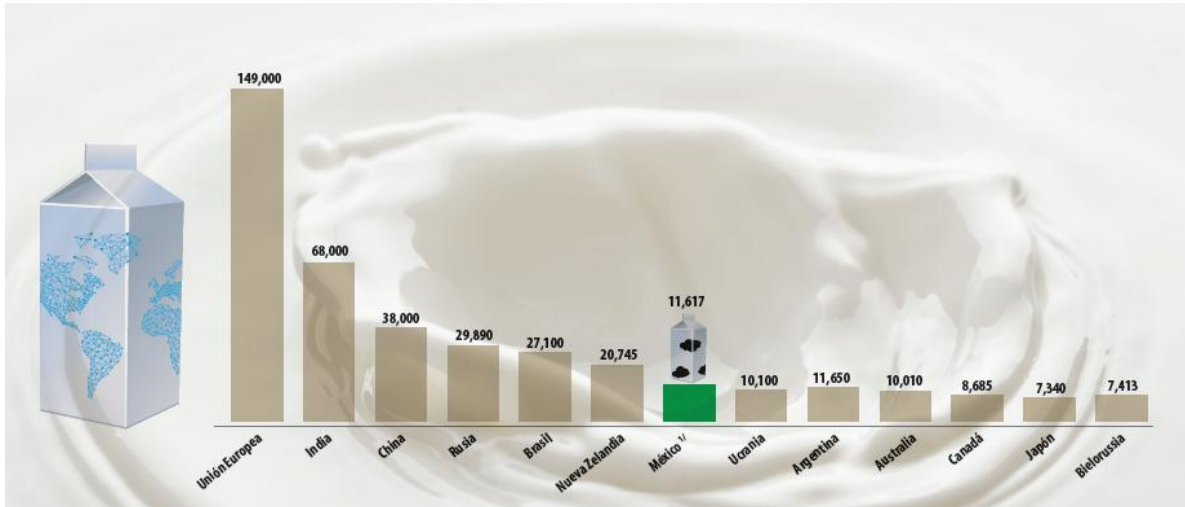


Figura 1.5 Principales productores de leche en el mundo 2016 (SIAP, 2016)

E/Cifras estimadas.

1/ El dato corresponde a la estimación nacional.

Fuente: SIAP con datos del USDA (United States Department of Agriculture)/WASDE (World Agricultural Supply and Demand Estimates)

1.9.1. Producción de leche en México

Datos recientes sobre el avance mensual del volumen obtenido durante el mes de diciembre de 2017 fue de 991, 199 miles de litros equivalentes a 1,020,439 toneladas de leche. Está cantidad es mayor 0.37% que la del mismo mes del año pasado (diciembre, 2016) y 0.99% que la del mes anterior (noviembre, 2017) (LACTODATA, 2017), lo cual se puede ver en la Figura 1.6.

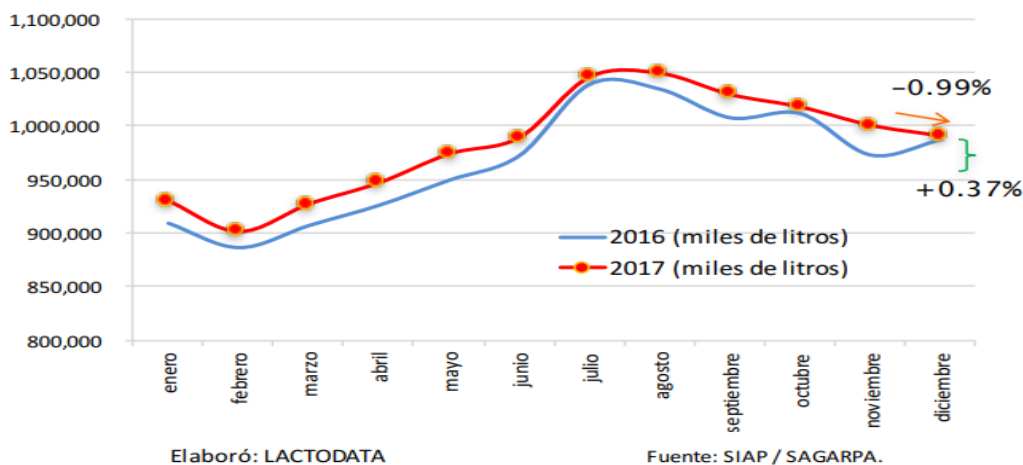
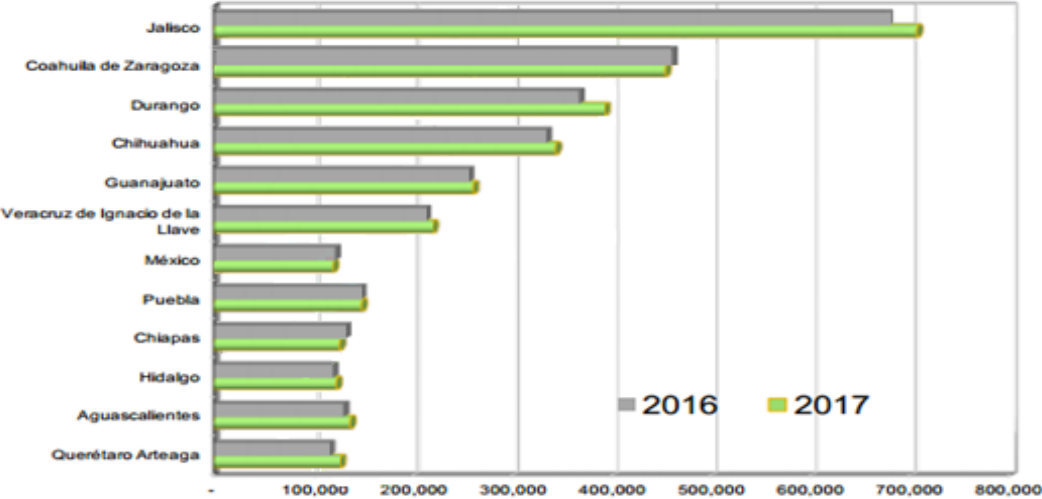


Figura 1.6 Producción mensual de leche bovino (LACTODATA, 2017)

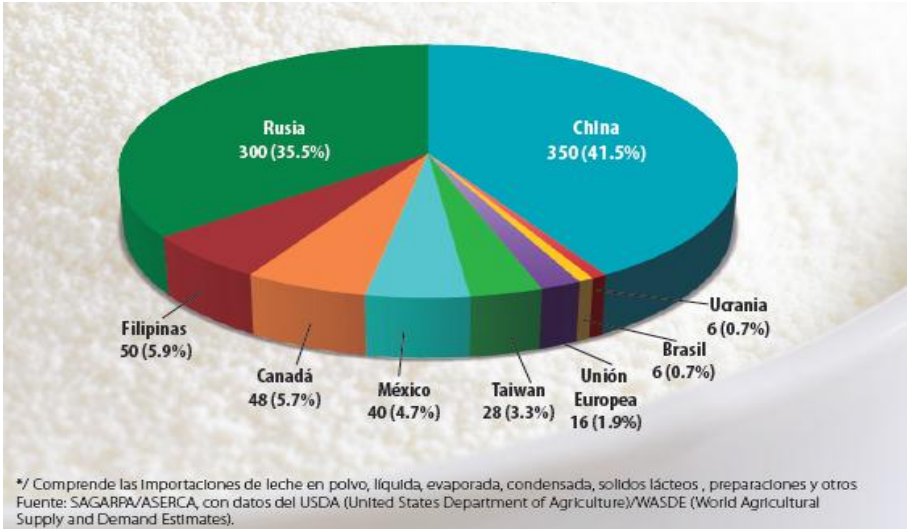
La participación de las principales entidades federativas en la producción de leche bovino, en 2016 y 2017, se muestra en la Figura 1.7, siendo Jalisco el principal estado productor de leche (**LACTODATA, 2017**).



Fuente: SIAP/SAGARPA

Figura 1.7 Principales estados productores de leche bovino (LACTODATA, 2017)

México posee el quinto lugar en compra de leche (leche en polvo, líquida, evaporada, condensada, sólidos lácteos, preparaciones y otros) con el 4.7% de las importaciones globales (**SIAP, 2016**).



*/ Comprende las importaciones de leche en polvo, líquida, evaporada, condensada, sólidos lácteos, preparaciones y otros
Fuente: SAGARPA/ASERCA, con datos del USDA (United States Department of Agriculture)/WASDE (World Agricultural Supply and Demand Estimates).

Figura 1.8 Principales países importadores de leche (SIAP, 2016)

1.10 Generalidades de la leche

1.10.1 Definición de la leche

La leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o elaboración ulterior (**CODEX 206, 1999**). Otra definición de la leche está dada por la NOM-243-SSA1-2010, que menciona que la leche es la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluida del calostro (**NOM-243-SSA1-2010, 2010**).

La denominación de leche, sin indicación de la especie animal de que procede, se reserva a la leche de vaca. Toda leche que proceda de una hembra lechera, que no sea la vaca debe designarse por la denominación “leche” seguida de la especie animal de la que procede: “leche de cabra”, “leche de oveja” etc (**Agudelo, 2005**).

La leche es un alimento considerado muy completo, cualidad que se debe a la gran variedad de nutrientes que la componen y por el excelente equilibrio que existe entre ellos, lo que determina que los mismos sean de una muy buena biodisponibilidad para el organismo humano y de esta manera a la leche se le considera un alimento de alta calidad nutricional (**FEPAL, 2011**).

1.10.2 Propiedades físicas y químicas de la leche

El color blanco de la leche se debe, sobre todo, a una completa dispersión del espectro visible provocada por los glóbulos de grasa, pero también por las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal. Mientras más pequeñas son estas partículas mayor es el área de dispersión de la luz y, en consecuencia, el producto se ve más blanco. La acidez titulable normal se debe a la presencia de los grupos ionizables de las proteínas, como los carboxilos de los ácidos aspártico y glutámico. El pH es de 6.5 a 6.7 y cualquier cambio a este valor indica una alteración al producto (**Badui, 2012**).

Los principales componente sápidos de la leche son la lactosa y las sales disueltas que imparten un sabor dulce y salado respectivamente. En la leche normal predomina el sabor dulce, mientras que el salado es el más potente cuando la

relación Cl/lactosa es elevada, como ocurre en la leche mastítica. También los glóbulos de grasa contienen componentes del flavor **(Walstra, 2001)**.

1.10.3 Estructura fisicoquímica de la leche

La leche es un sistema biológico muy complejo en el que se presentan tres estados físicos de dispersión de sus múltiples constituyentes: a) la lactosa, así como las sales minerales, los cationes, los aniones y las vitaminas hidrosolubles, existen como una verdadera solución; b) las proteínas como las caseínas y las proteína del suero, forman dispersiones coloidales, y c) las sustancias liposolubles se encuentran como emulsión. Todos estos estados físicos de dispersión están en equilibrio debido a mecanismos particulares de estabilidad **(Badui, 2012)**.

1.10.4 Composición química

La leche es un fluido biológicamente complejo que contiene grasa, proteínas, minerales, vitaminas, enzimas, azúcar y agua. La leche de todos los mamíferos contiene todos estos componentes, pero su contenido varía ampliamente entre los rumiantes y la leche de los no rumiantes. La composición de la leche difiere a factores genéticos, fisiológicos, nutricionales, frecuencia de ordeño y condiciones ambientales **(Claeys, 2016)**.

Todos estos factores no solo varían la composición de la leche de vaca, también varían su composición en la leche de cabra y en la leche de oveja. Los componentes que forman las leches establecen un sistema fisicoquímico estable de compuestos, debido a que todos se encuentran en equilibrio y establecen diversos estados de dispersión **(Badui, 2012)**. En la siguiente Cuadro 1.7 se muestra la composición de la leche de vaca.

Cuadro 1.7 Composición de la leche de vaca por cada 100 mL (Agudelo, 2005)

Componente	Leche de vaca (g)
Agua	88
Sólidos totales	12.00
Lactosa	4.70
Lípidos	3.40
Proteínas	3.20
Minerales	0.72

A nivel mundial la leche de cabra es consumida principalmente como un producto fluido sin que medie una transformación de la misma en otros derivados lácteos, razón por la cual sus características son muy importantes a nivel nutricional. Se ha estimado que existen más personas en el mundo que consumen leche de cabra. La leche de cabra, es al igual que la leche de otros mamíferos, una matriz de características fisicoquímicas muy diversas (**Chacón, 2005**). La composición de la leche de cabra se muestra en la Cuadro 1.8.

Cuadro 1.8 Composición de la leche de cabra por cada 100 mL (Quintana, 2011)

Componente	Leche de cabra (g)
Agua	84.79
Sólidos totales	15.21
Lactosa	5.12
Lípidos	6.63
Proteínas	4.60
Minerales	0.89

En cuanto a la leche de oveja, se ha considerado siempre como una leche de características específicas, existiendo amplia variación entre razas. Generalmente

la leche de oveja se consume en forma de productos derivados **(Suárez, 2000)**. La composición de la de la leche de oveja se muestra en el Cuadro 1.9.

Cuadro 1.9 Composición de la leche de borrega por cada 100 mL (Ochoa, 2009)

Componente	Leche de borrega (g)
Agua	83.11
Sólidos totales	16.89
Lactosa	4.54
Lípidos	5.78
Proteínas	5.26
Minerales	0.92

1.10.4.1 Agua

El agua es la fase dispersante en la cual los glóbulos grasos y demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. Las sustancias proteicas se encuentran formando un coloide, mientras que la lactosa y las sales se hallan en forma de solución verdadera **(Agudelo, 2005)**.

1.10.4.2 Carbohidratos

La lactosa es el carbohidrato mayoritario de la leche. Este azúcar se encuentra en la leche de casi todos los mamíferos y es característico en este alimento **(Walstra, 2001)**. La concentración de la lactosa es similar en la leche de caballo, la leche de burra y en la leche humana, pero es inferior en la leche de los bovinos o de otros rumiantes **(Claeys, 2016)**.

1.10.4.3 Lípidos

Aproximadamente el 98% de la grasa de la leche es mezcla de triglicéridos. Además en la grasa se hallan otros lípidos disueltos, algunos de ellos en cantidades traza. La mayor parte de los lípidos polares se encuentran en la membrana del glóbulo graso. Prácticamente toda la materia grasa de la leche se encuentra en forma de glóbulos grasos **(Walstra, 2001)**.

1.10.4.4 Proteínas

La leche es un buen alimento debido a la alta calidad de sus proteínas y se han dividido en dos grandes grupos, de acuerdo con su estado de dispersión: las caseínas que representan el 80% del total, y las proteínas del suero o seroproteínas, con el 20% restante **(Badui, 2012)**. Las caseínas se organizan en unidades macromoleculares llamadas micelas, las principales caseínas son la α_1 -caseína, α_2 -caseína, β -caseína y κ -caseína, en cuanto a las proteínas del suero están formadas por la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas y albúmina sérica **(Claeys, 2016)**.

La formación de las micelas de caseína depende de los fenómenos de interacción que se establecen entre ellas en presencia del ion calcio. La agrupación de los residuos polares y de los hidrofóbicos en regiones separadas de la secuencia primaria sugiere la formación de distintos dominios de naturaleza polar e hidrofóbica que genera una estructura anfipática. Se considera que la micela de caseína es una partícula esférica y liófila constituida por un centro interno e hidrofóbico de proteínas (núcleo) rodeadas por una cobertura anfifílica (corteza) **(Ferrandini, 2006)**.

Cuando la caseína se encuentra en una disolución, se forman agregados pequeños esféricos. En estas submicelas, las moléculas se mantienen unidas mediante enlaces hidrofóbicos y puentes salinos. Cada submicela contiene diferentes moléculas de caseína, pero no todas las submicelas contienen la misma composición **(Walstra, 2001)**.

1.10.4.5 Vitaminas

La leche contiene vitaminas como la A, D, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, carotenos, nicotinamida, biotina, ácido fólico, y su concentración está sujeto a varias oscilaciones **(Agudelo, 2005)**.

1.10.4.6 Enzimas

Las enzimas contenidas en la leche se aprovechan para efectos de inspección y control, ya que muchas de ellas influyen en la calidad de la leche y en el origen de distintas alteraciones. Las enzimas de la leche carecen de valor desde el punto de vista alimenticio **(Agudelo, 2005)**.

1.10.4. 7 Minerales

La leche contiene varias sales de las que destacan los citratos, cloruros, bicarbonatos y fosfatos de calcio, magnesio, sodio y potasio, los cuales se encuentran en solución o formando parte del sistema coloidal de las caseínas. Aproximadamente el 50% del fósforo total está esterificado a las fosfoserinas de las caseínas, y la mayoría de los elementos químicos están presentes en forma iónica en el suero, aunque parte del calcio se asocia con las proteínas. A pesar de que el alto contenido de calcio de la leche es superior a la concentración de saturación de una solución acuosa, está estabilizado, dado que 70% se encuentra en forma coloidal, unido a las caseínas mediante el fosfato correspondiente y el resto se localiza solubilizado en el suero **(Badui, 2012)**.

Las sustancias salinas se determinan generalmente a partir de las cenizas. Aunque estos datos obtenidos no son muy precisos porque durante la incineración se producen pérdidas y cambios de estados de muchos elementos minerales. Algunos compuestos como los cloruros alcalinos, son parcialmente volátiles. Tampoco están incluidos en las cenizas los citratos ni los carbonatos. El azufre y fósforo orgánico se transforman en sulfatos y fosfatos **(Amiot, 2000)**.

Casi todas las sales se encuentran en el suero y en las micelas de caseínas y una cantidad muy pequeña está unida a los glóbulos grasos. La leche contiene fósforo bajo muchas formas distintas, todo él se presenta como ortofosfato, pero parte está unido a los componentes orgánicos, bien esterificado a los radicales de serina y treonina de las caseínas o bien a diversas moléculas más pequeñas, como las hexosas, el glicerol y a los fosfolípidos **(Walstra, 2001)**.

En cuanto al calcio se encuentra en la leche en equilibrio entre la fase acuosa y micelar. En la fase acuosa el calcio se encuentra como iones de Ca^{2+} en forma libre o asociados en forma de complejos principalmente con fosfato inorgánico y citrato y en menor cantidad con cloro. En la fase micelar el calcio se encuentra en forma de fosfato de calcio coloidal ligado a las micelas de caseínas **(Koutina, 2015)**.

1.10.4.7.1 Sales solubles en la fase acuosa

En la fase acuosa, los iones están libres o asociados en forma de sales. Las interacciones entre cationes y aniones en la fase acuosa dependen de los valores de las diferentes constantes de asociación y de las solubilidades de las sales. Normalmente el calcio se encuentra en forma iónica y asociado con citrato trivalente y menor grado con fosfato inorgánico y cloro. La solubilidad de la sal de fosfato cálcico es muy baja, y por consiguiente su concentración en la fracción acuosa es muy pequeña. El Na y el K están presentes principalmente como iones libres y una pequeña parte de ellos está asociada con citrato, fósforo inorgánico y cloruro para formar sales **(Gaucheron, 2011)**. El 30 al 35 % del calcio presente en la leche bovina está como calcio soluble. A partir de esta fracción aproximadamente el 70% está acomplejado con fosfato, citrato o proteínas del suero, mientras que el 30% está como catión libre **(Giraudó, 2014)**.

1.10.4.7.2 Fosfato de calcio micelar

En la fase micelar, la organización de los iones es compleja, heterogénea y no está bien definida. El fosfato de calcio micelar (MCP) se puede describir como una mezcla de caseinato de calcio que contiene fosfato orgánico presente en los residuos de fosfoserilo de caseína y complejo de fosfato de calcio inorgánico **(Gaucheron, 2011)**.

Además del fosfato cálcico coloidal también tiene Mg, citrato, Na y K así como probablemente pequeñas cantidades de otros iones. El fosfato cálcico coloidal es amorfo, puede variar en su composición y presentar propiedades de intercambio de iones. Una parte de estos iones se consideran contraiones porque la caseína está cargada negativamente y por lo tanto está asociada con contraiones positivos; entre ellos se encuentran el K, Na y el Mg y parte del Ca de las micelas. El resto, que es principalmente calcio y fosfato junto con una pequeña cantidad de Mg y citrato están en un estado diferente. La leche se halla sobresaturada con respecto al fosfato cálcico y en consecuencia una parte del mismo no está disuelto **(Walstra, 2001)**.

El 60-65% del calcio presente en la leche forma un coloide con los fosfatos o citratos, asociados todos ellos a la micela de caseína. Los fosfatos de calcio forman

entonces un cluster junto con la micela. Por lo tanto el fosfato de calcio micelar representa calcio unido a los fosfatos y a los residuos de fosfoseril que contiene las moléculas de caseínas **(Giraudó, 2014)**.

El fosfato de calcio coloidal es un componente esencial que actúa como un factor integrante en las micelas de caseínas ya que su eliminación desintegra a la micela y genera las submicelas **(Aoki, 2006)**. A continuación en el Cuadro 1.10 se muestra la distribución de los diferentes iones y sales en la leche.

Cuadro 1.10 Distribución de los diferentes iones en la leche (Modificado Guacheron, 2011)

Iones	Localización	Formas de asociación
Ca	Fase acuosa	Libre, Asociado con citrato inorgánico, fosfato, cloro y α -lactoalbúmina
	Fase micelar	Asociado con residuos de fosfoseril, fosfato inorgánico
Mg	Fase acuosa	Libre, asociado con citrato inorgánico, fosfato y cloro
	Fase micelar	Asociado con residuos de fosfoseril y fosfato inorgánico
Na	Fase acuosa	Libre, asociado con aniones
K	Fase acuosa	Libre, asociado con aniones
	Fase acuosa	Esterificado con pequeñas moléculas (nucleótidos, azúcar)
P _o	Fase micelar	Esterificado con caseína (fosfoseril)
	Fase acuosa	Libre como $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , asociado con calcio ($CaHPO_4$)
P _i	Fase micelar	Asociado con calcio y magnesio
	Fase acuosa	Libre, asociado con calcio, magnesio, sodio, potasio
Citrato	Fase micelar	Asociado con calcio
Cloro	Fase acuosa	Libre, asociado con calcio, magnesio, sodio, potasio

*Po y Pi corresponden a orgánico e inorgánico fosfatos, respectivamente

1.11 Precipitación de proteínas

En la precipitación se concentra el soluto de una solución convirtiéndolo en sólido mediante la acción del agente precipitante. La precipitación de proteínas y la subsecuente recuperación del precipitado, son de las operaciones más importantes para la recuperación y purificación de proteínas. Las principales proteínas lácteas que son afectadas, dada su complejidad, son las caseínas. En general, los agentes de naturaleza química y enzimática ocasionan la coagulación y precipitación de las proteínas, permaneciendo las suero-proteínas en solución acuosa. Por el contrario los agentes de naturaleza física, ocasionan la formación de agregados un decremento en el tamaño de la micela (**Zimmermman, 2010**)

☛ **Método físico**

Centrifugación La centrifugación se da por la separación de sustancias de diferente densidad mediante un movimiento giratorio. Cuando se utiliza la centrifugación la diferencia entre la densidad de los sólidos y el suero se incrementa por la acción de las fuerzas centrífugas que se generan por las altas velocidades de rotación de los equipos que se emplean y está basada en la teoría de sedimentación (**Tejada, 2011**).

☛ **Métodos químicos**

Acidificación La reducción del pH de la leche provoca cambios en las características fisicoquímicas en las micelas de caseínas debido a una desestabilización en el complejo de las caseínas. Cuando el pH de la leche disminuye hasta 4.6 (punto isoeléctrico), se induce la coagulación de las caseínas.

En la Figura 1.9 se muestra como se modifica la micela de caseína al adicionarle ácido.

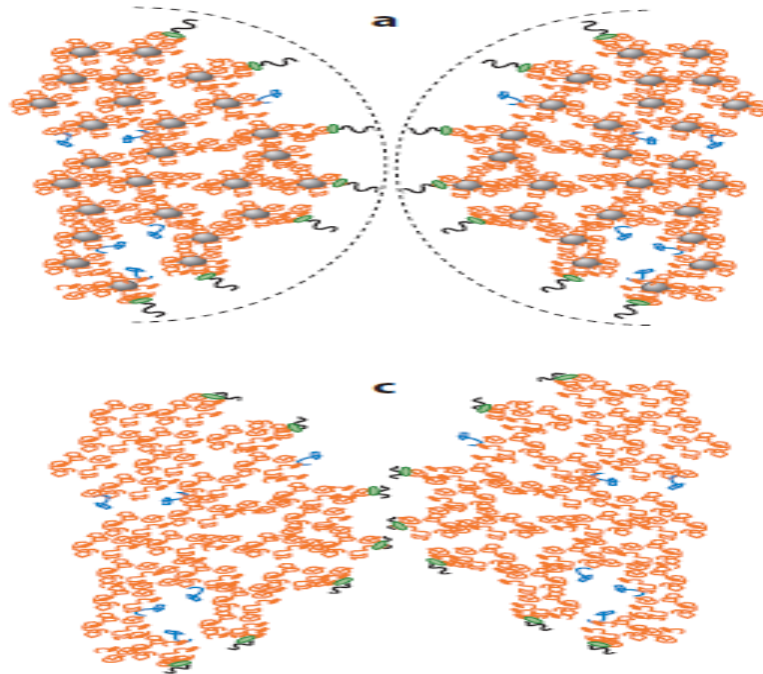


Figura 1.9 Modificación de la micela nativa (a) al agregarle ácido (c) (Dalgleih, 2012)

Adición de sales Las sales tienen una influencia muy marcada en la solubilidad de las proteínas. Las sales modifican la estructura del agua e influyen en la conformación de las proteínas mediante interacciones electrostáticas.

En la siguiente Figura 1.10 se muestra un esquema cuando se agrega sal a las proteínas.

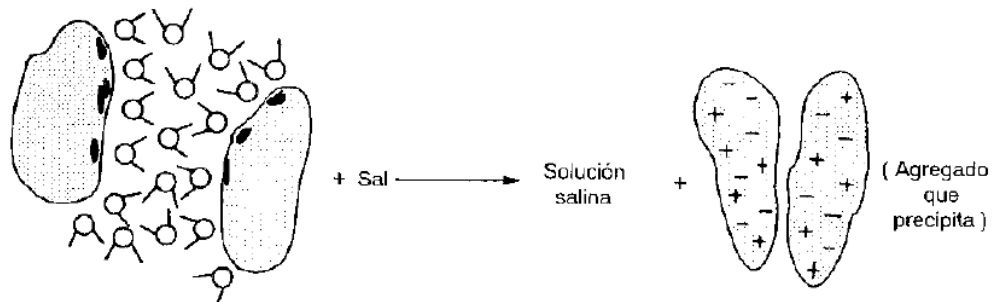


Figura 1.10 Esquema de la precipitación de proteínas al adicionar una sal (Tejada, 2011)

• Método enzimático

Renina o quimosina El uso de esta enzima para coagular la caseína es un proceso tradicional para elaborar quesos. Ocurre en dos fases; la primera las micelas de caseínas se ven modificadas por una pequeña proteólisis de la κ -caseína. La segunda etapa ocurre cuando el 60-85% de la κ -caseína total ya ha sido hidrolizado, a consecuencia de esto las micelas desestabilizadas se aglomeran (**Zimmerman, 2010**).

En la siguiente Figura 1.11 se muestra como la micela de caseína se modifica cuando se agrega quimosina.

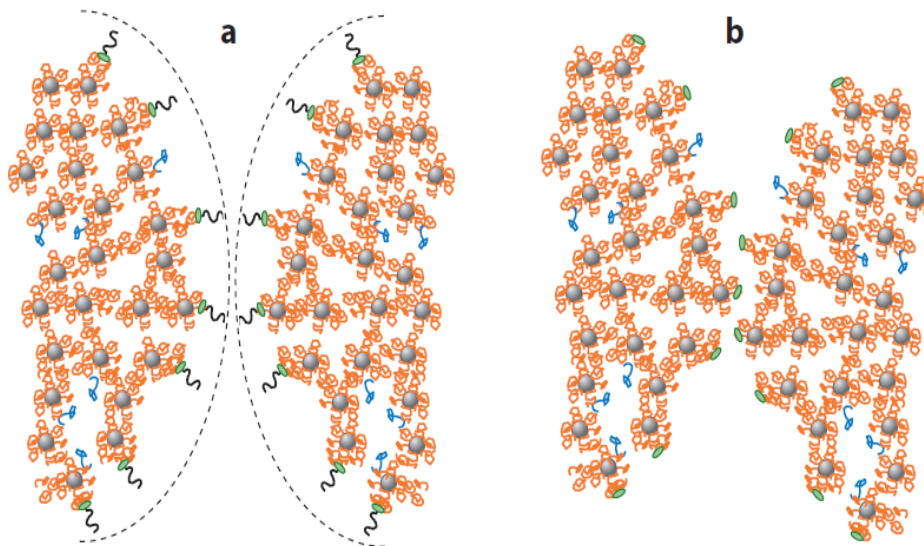


Figura 1.11 Modificación de la micela nativa (a) al adicionarle quimosina (b) (Dalglish, 2012)

En la Figura 1.12 se muestra las modificaciones en las micelas de caseínas en función de los diferentes métodos de coagulación (**Gaucheron, 2011**)

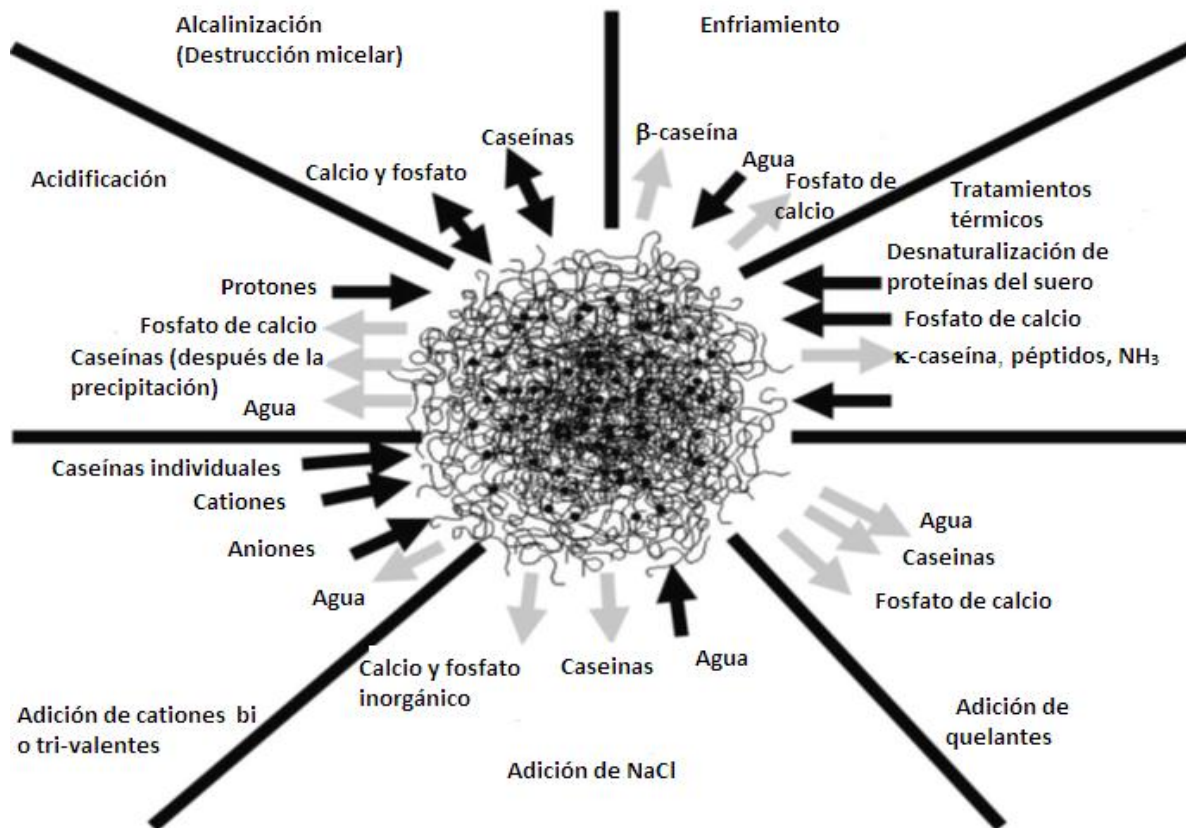


Figura 1.12 *Modificación de la micela de caseína por diferentes métodos de coagulación (Modificado de Guachernon 2011)*

Acidificación.- Durante la acidificación el fosfato de calcio micelar está disuelto y las caseínas son liberadas dentro de la fase acuosa. Hasta un pH de 5.2, el calcio y fosfato inorgánico son transferidos a la fase acuosa. Cuando se tiene pH exactamente de 5.2 una parte del calcio se encuentra aún asociado a las moléculas de caseínas. Es necesario que el pH disminuya hasta 3.5 para observar la total solubilización de calcio micelar. A este pH tan ácido el calcio existe principalmente como Ca^{2+} en la fase acuosa.

La diferencia de pH requiere obtener la total solubilización del fosfato inorgánico (5.2) y calcio (3.5) y de esta manera se fortalece la hipótesis de que el calcio está asociado a las micelas de caseínas junto con el fosfato inorgánico y los residuos de

fosfoserina de las moléculas de caseínas. En la acidificación los aniones asociados a los protones como los cloruros, nitratos o sulfatos; permanecen en la fase acuosa.

Estos cambios en el equilibrio de los minerales son irreversibles y el fosfato de calcio micelar original y las micelas de caseínas no pueden ser reconstruidos después con la neutralización en la leche acidificada.

Alcalinización.- En la alcalinización hay un incremento en la viscosidad de la leche y disminución en el color blanco cuando se encuentra entre un pH de 8-10. Cuando el pH entonces se incrementa, genera modificaciones en el estado de ionización del fosfato inorgánico que se encuentra presente en la fase acuosa y también hay cambios en los grupos aminos de las proteínas. El HPO^{-2}_4 es transformado a PO^{-3}_4 el cual tiene una alta afinidad por el calcio.

Por consiguiente el calcio interacciona exclusivamente con los residuos de fosfoserilo de las micelas de caseínas y son desplazadas hacia PO^{-3}_4 y se forma la sal de fosfato de calcio que se va a encontrar en la fase acuosa y de esta manera satura el calcio y fosfato inorgánico que se localiza en esta fase provocando la precipitación de la sal.

Tratamientos térmicos.- Durante el calentamiento de la leche, ocurren una serie de reacciones bioquímicas como la desnaturalización de las proteínas del suero, reacciones de Maillard, proteólisis, destrucción de algunas vitaminas y alteraciones en el equilibrio de los minerales como el fosfato inorgánico en la fase acuosa que se incrementa. Por consiguiente parte del H_2PO^{-4} es transformado HPO^{-2}_4 el cual tiene una alta afinidad hacia el calcio y reaccionan para formar la sal de fosfato de calcio.

Por la tanto en la fase acuosa comienza a súper saturarse con esta sal que se formó y las concentraciones de calcio y fosfato inorgánico se reducen en esta fase. Por otra parte, las moléculas de caseínas pueden desfosforilarse y surgen cambios en la estructura en el fosfato de calcio micelar, está fase recién formada no es claramente aun identificada, pero está relacionada con la formación fosfato cristalino-cálcico o hidroxapatita.

Enfriamiento.- Inversamente a los tratamientos térmicos, la disociación del fosfato inorgánico presente en la fase acuosa disminuye cuando la leche se enfría y parte del HPO_4^{-2} es transformado en $H_2PO_4^{-}$. En este caso la solubilidad del fosfato de calcio incrementa y las concentraciones del calcio y fosfato inorgánico aumentan en la fase acuosa, indicando que parte del fosfato de calcio micelar es transferido a esta fase. Por otra parte la β -caseína es solubilizada y las micelas de caseínas llegan a estar más hidratadas. Estos cambios son reversibles.

Adición de quelantes.- Se sabe que la adición de quelantes de calcio como citrato, EDTA, oxalato o resinas de intercambio catiónico induce una disminución de ligereza, un aumento en la viscosidad y mejora la estabilidad al calor. Todos estos cambios fisicoquímicos provocan pérdidas en la estructura de la micela. Estos diferentes tipos de quelantes tienen una alta afinidad por el calcio en la fase acuosa. Como consecuencia llega a ser menos saturada en fosfato de calcio y el equilibrio de los minerales es desplazado de la fase micelar a la fase acuosa con incrementos en el calcio y fosfato inorgánico que se encuentran en la fase acuosa. En efecto estos cambios ocasionan la destrucción de las micelas de caseínas.

Adición de NaCl.- Altera el equilibrio de los minerales y las interacciones de los iones de las proteínas, y como consecuencia la leche se hace más viscosa. Al mismo tiempo las micelas de caseínas se vuelven más hidratadas surgiendo algunos cambios en las interacciones entre las proteínas y el agua, baja el pH e incrementa las concentraciones de calcio en la fase acuosa y también se observa la solubilización del fosfato inorgánico y la β -caseína después de la adición del NaCl.

Adición de Calcio.- Sí las sales de calcio que son añadidas tienen poca solubilidad como el fosfato de calcio el equilibrio de los minerales y las micelas de caseínas se ven modificadas. Pero si las sales de calcio son solubles como el cloruro de calcio o el lactato de calcio las características fisicoquímicas de las micelas tienen cambios fuertes.

Por lo tanto, se sugiere que una parte del calcio añadido reaccione con el fosfato inorgánico que se encuentra en la fase acuosa y da como resultado la formación del fosfato de calcio con la liberación de protones y el pH disminuye; dado que en la fase acuosa se encuentra saturada por esta sal recién formada el fosfato de calcio se desplaza hacia las micelas de caseínas.

CAPITULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Metodología

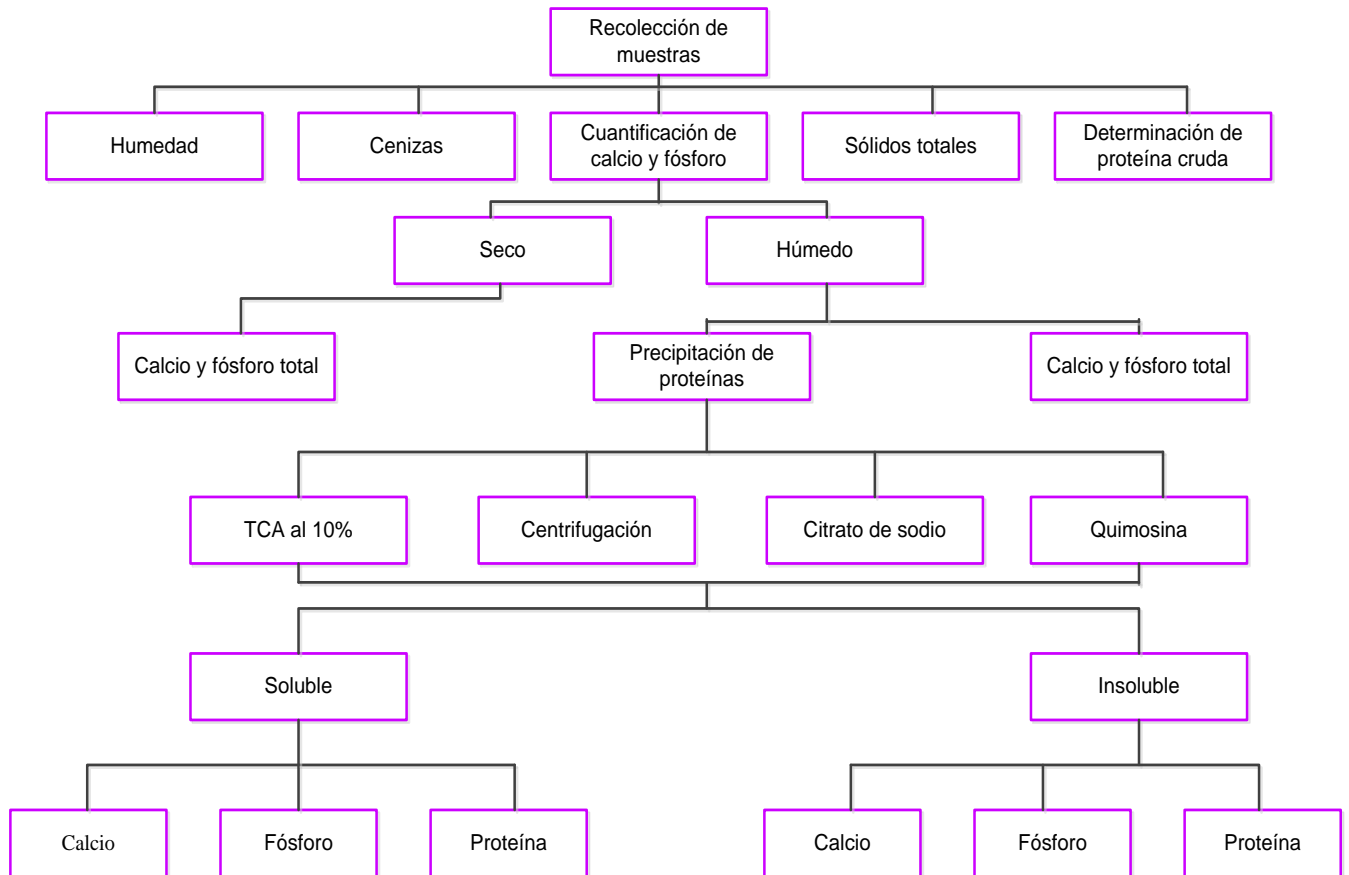


Figura 2.1 Metodología

2.2 Recolección de las muestras

Para la recolección de las muestras se usó de referencia el AOAC 925.20 (1990)

Las leches de diferentes especies como vaca, cabra y borrega, se obtuvieron del rancho Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal CEIPSA, Topilejo Tlalpan, Ciudad de México. Para las bebidas vegetales (almendras, soya, coco, arroz, nuez y alpiste) se compraron en una tienda de autoservicio.

2.3 Determinación de humedad

Para determinar la humedad en las bebidas vegetales y en las leches de diferentes especies se usó de referencia la NOM-116-SSA1-1994.

2.4 Determinación de sólidos totales

Para obtener el contenido de sólidos totales en las bebidas vegetales y en las leches de origen animal se utilizó de referencia Trejo, 2015.

2.5 Determinación de proteína cruda

Para cuantificar el contenido de proteína total, soluble y coloidal en las bebidas vegetales y en las leches se utilizó de referencia el AOAC 920.15 (1990).

2.6 Digestión en húmedo y seco

Para realizar la digestión húmeda y seca tanto en las bebidas vegetales como en las leches de origen animal se usaron de referencia el AOAC 999.10 (1990) y AOAC 999.11 (1990) respectivamente.

2.7 Cuantificación de calcio

Para cuantificar el contenido de calcio total, soluble y coloidal en las bebidas vegetales y en leches de origen animal se usó de referencia el AOAC 985.35 (1990).

2.8 Cuantificación de fósforo

Para cuantificar el contenido de fósforo total, soluble y coloidal tanto en las bebidas vegetales como en las leches de origen animal se utilizó de referencia el AOAC 965.17 (1990).

2.9 Precipitación de proteínas

Para realizar la precipitación de las proteínas y obtener una fase soluble y coloidal en las bebidas vegetales y en leches de origen animal se usó de referencia Zimmermman, 2010

CAPITULO 3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

3.1 Cuantificación de proteína total

Se realizó la cuantificación de proteína total en las bebidas vegetales y en las leches. Los resultados se muestran en el Cuadro 3.1.

Cuadro 3.1 Contenido de proteína total en leches y bebidas vegetales (g proteína/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca	Cabra	Borrega
Proteína total	0.4 ^d	2.3 ^f	0.2 ^b	0.4 ^c	0.1 ^a	1.0 ^e	3.6 ^g	3.9 ^h	5.0 ⁱ
Reportado en la literatura	0.5	2.8	0.2-0.7	0.4-0.7	0.12-0.8	1.17	3.0-3.9	3.0-5.2	4.5-7.0
Reportado en etiqueta	0.4	2.9	-	0.4	0.4	2	-	-	-

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05).

Reportado en la literatura: Miñana, 2015 (Almendras); Albarracin, 2012 (Soya); Bernat, 2014 (Coco, Nuez, Arroz); Medrano, 2013 (Alpiste); Claeys, 2016 (Vaca, Cabra, Borrega). Factor de nitrógeno 6.38 para las leches de diferentes especies y para las bebidas vegetales 6.25.

En el Cuadro 3.1 se observa que si hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de proteína total de todas las bebidas vegetales y las leches, se puede observar que la cantidad de proteína total fue menor en la bebida vegetal de arroz, seguida de coco, nuez, almendras, alpiste y finalmente soya. Para las leches la de borrega es la que tiene mayor contenido de proteína total que la de vaca y cabra.

De acuerdo con la información nutrimental reportada en la etiqueta de las bebidas vegetales de almendras y nuez como se muestra en el Cuadro 3.1, experimentalmente se obtuvieron valores iguales a lo reportado; sin embargo para las bebidas vegetales de soya, coco, arroz y alpiste experimentalmente no se obtuvieron los datos como se reportan en su etiqueta.

Por otro lado en el Cuadro 3.1 se muestra el contenido de proteína total reportado en la literatura, en cuanto a las bebidas vegetales de almendras y soya la literatura

(Miñana, 2015) (Albarracin, 2012) reporta un contenido de 0.5 y 2.8 g proteína/100 mL respectivamente, experimentalmente no se obtuvieron estos valores de acuerdo a lo reportado, esta diferencia puede ser posible, como lo menciona **Hernández, 2016** que la composición de las bebidas vegetales depende de varios factores como la variedad de la legumbre, oleaginosa, cereal o fruto, localización geográfica, madurez, método de extracción y la cantidad de agua incorporada durante el proceso de extracción.

Para las bebidas vegetales de coco, nuez, arroz y alpiste comparando con lo que menciona la literatura **(Bernat, 2014) (Medrano, 2013)**, los valores experimentalmente que se obtuvieron están dentro del intervalo reportado como se puede observar en el Cuadro 3.1. Al comparar las bebidas vegetales es evidente que sólo la leche de soya tiene un valor más cercano de proteína de 2.3% con respecto a la leche de vaca con un contenido de proteína 3.6%, ya que todas las demás bebidas vegetales tienen contenidos de proteínas muy bajos.

En lo referente a las leches, experimentalmente se obtuvieron valores dentro de los intervalos reportados de acuerdo a la literatura **(Claeys, 2016)**.

Se muestra también en el Cuadro 3.1 que las leches de vaca, cabra y oveja tienen un mayor contenido de proteína total que las bebidas vegetales. Se sabe que las proteínas vegetales generalmente son de menor calidad nutricional en comparación con las proteínas animales debido a los aminoácidos limitantes (lisina en los cereales y metionina en las legumbres) **(Makinen, 2016)**. Según **Valles, 2012** la calidad de una proteína está definida por la cantidad y proporción de aminoácidos para satisfacer las necesidades nutricionales.

Hernandez, 2016 menciona que la proteína de soya contiene casi todos los aminoácidos esenciales, pero se puede complementar al combinarse con cereales generando una proteína completa. Esto se puede ver en el Cuadro 3.1, que la bebida vegetal de soya efectivamente es la bebida que tiene mayor contenido de proteína comparada con las otras bebidas vegetales. Por lo tanto, con el fin de

utilizar las bebidas vegetales como sustitutos de la leche de vaca, la fortificación de proteína es esencial en su elaboración (**Sethi, 2016**).

3.2 Contenido de humedad y sólidos totales

Se realizó la determinación de humedad y sólidos totales en las bebidas vegetales y en las leches, los resultados se muestran a continuación en el Cuadro 3.2.

Cuadro 3.2 Contenido de humedad (g agua/100 mL) y sólidos totales (g sólidos/100 mL) en bebidas vegetales y leches

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca	Cabra	Borrega
Humedad	95.10	92.07	94.66	97.64	90.12	91.26	85.20	84.26	79.75
Sólidos totales	4.00	7.00	4.00	1.60	9.30	7.60	13.60	15.00	19.30

Los valores corresponden al promedio con un CV <5%.

En el Cuadro 3.2 se muestra el contenido de humedad de todas las muestras y se observa que en todas las bebidas vegetales tienen una humedad arriba del 90% lo que indica que tienen un bajo porcentaje en sus sólidos totales, en cambio para las leches, su porcentaje de humedad es menor al 90% y su contenido de sólidos es mayor.

Sanz, 2003 menciona que la leche de borrega se caracteriza porque tiene un alto contenido de sólidos, lo que le confiere frente a la leche de vaca y cabra una mejor calidad en cuanto a la cantidad de sus nutrimentos. Por lo tanto al tener las bebidas vegetales un menor contenido de sólidos totales con respecto a las leches, las bebidas vegetales son de menor calidad en cuanto a sus nutrimentos comparadas con las leches.

3.3 Cuantificación de cenizas

A continuación en el Cuadro 3.3 se muestra el contenido de cenizas en las bebidas vegetales y en las leches.

Cuadro 3.3 Contenido de cenizas en bebidas vegetales y en leches (g de cenizas/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca	Cabra	Borrega
Cenizas	0.22 ^b	0.42 ^d	0.42 ^d	0.65 ^e	0.28 ^c	0.10 ^a	0.68 ^f	0.81 ^g	0.94 ^h
Reportado en la literatura	0.33	0.27	0.72	0.20	0.30	0.35	0.70-0.80	0.70-0.90	0.80-1.00

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05)

Reportado en la literatura: Dyner, 2015 (Almendras), Valles, 2012 (Soya), Hernández, 2016 (Coco), Codina-Torella, 2017 (Nuez), Trejo, 2015 (Arroz), Medrano, 2013 (Alpiste) Claeys, 2016 (Vaca, Cabra, Borrega)

En el Cuadro 3.3 se observa que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de cenizas en casi todas las muestras, pero no hay diferencia estadísticamente significativa en las bebidas vegetales de soya y coco. También se presenta en el Cuadro 3.3 el contenido de cenizas de las bebidas vegetales reportadas en la literatura, experimentalmente no se obtuvieron los valores como lo reporta la literatura, esta diferencia se debe al proceso de elaboración de cada bebida vegetal. Por otro parte se muestra el contenido de cenizas reportado en la literatura de las leches **(Claeys, 2016)**.

Se muestra que en la leche de cabra y oveja experimentalmente se obtuvieron valores de 0.816 y 0.945 g ceniza/100 mL respectivamente, y se encuentran dentro del intervalo reportado en la literatura, con respecto a la leche de vaca experimentalmente se obtuvo un valor de 0.684 g ceniza/100 mL y de acuerdo con la literatura este dato no coincide; esta diferencia se debe a que las concentraciones de los minerales no son constantes si no que varían principalmente de acuerdo a dos tipos de factores, aquellos relacionados con la secreción de la glándula mamaria como el estado de lactación, las especies de los animales y el estado de salud, y el segundo factor como es la temporada y el medio ambiente **(Sola-Larrañaga, 2009)**.

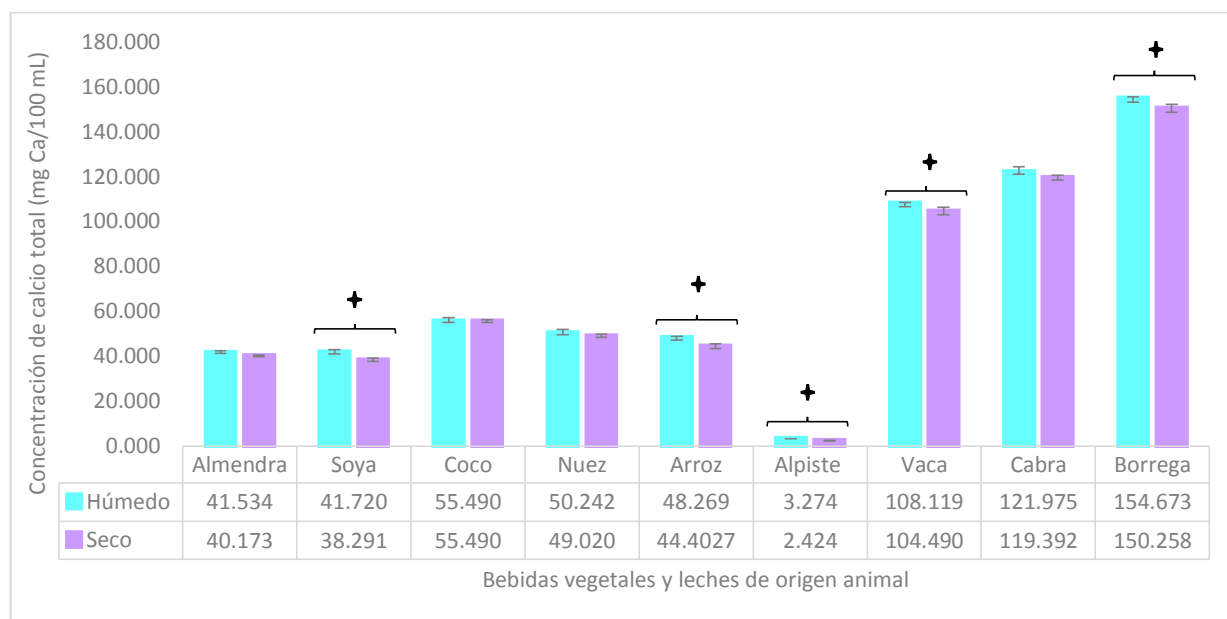
Ahora comparando el contenido de cenizas de las bebidas vegetales con respecto a las leches de las diferentes especies, la concentración de cenizas de casi todas las bebidas vegetales está muy por debajo en comparación, la única bebida vegetal

que obtuvo un contenido de cenizas un poco cercano a la leche de vaca fue la bebida vegetal de nuez; está baja concentración de cenizas en las bebidas vegetales se debe a que no fueron fortificadas con las concentraciones de minerales adecuadas para alcanzar las concentraciones de cenizas como en las leches de origen animal.

3.4 Comparación de métodos de digestión: húmedo y seco

3.4.1 Comparación de calcio total en bebidas vegetales y en leches, por dos métodos de digestión húmedo y seco

A continuación en la Figura 3.1 se muestra la comparación del contenido de calcio total por los dos métodos de digestión húmedo y seco en las bebidas vegetales y leches.



Barras con + presentan diferencia estadísticamente significativa

Figura 3.1 Contenido de calcio total por dos métodos de digestión húmedo y seco en bebidas vegetales y leches (mg Ca/100 mL)

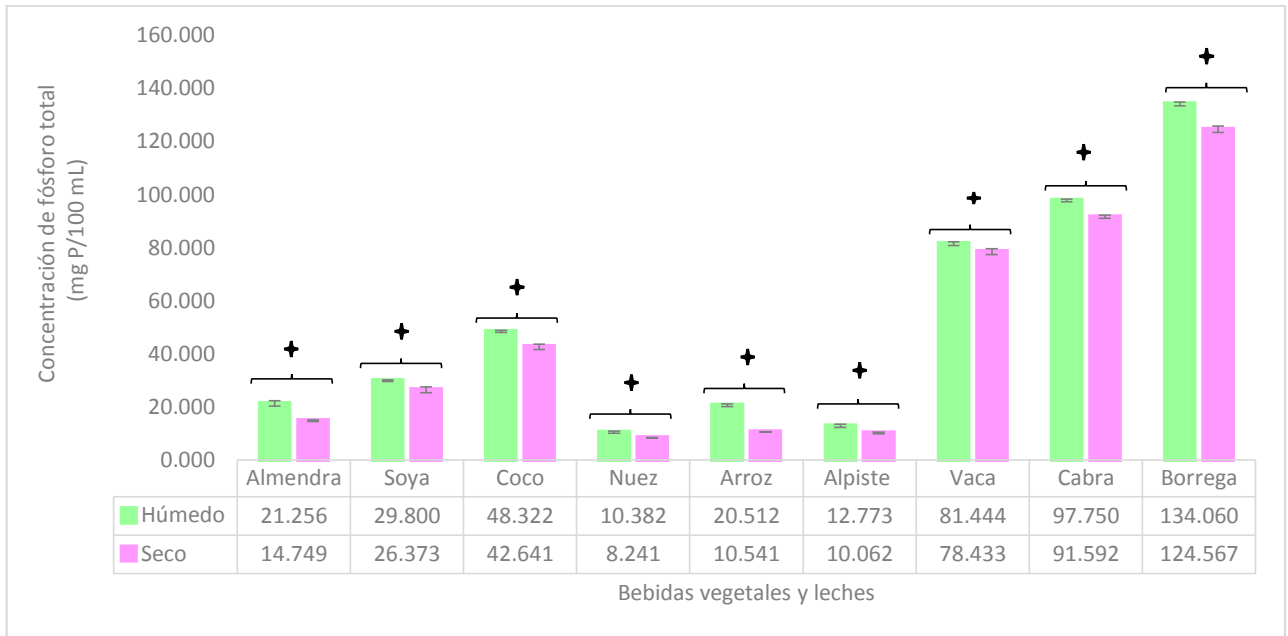
Se observa en la Figura 3.1 que si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio total por ambos métodos de digestión húmedo y seco en las bebidas vegetales de soya, arroz y alpiste y en la leche de vaca y borrega obteniendo un mayor contenido de calcio total por la digestión húmeda, también se

muestra que no hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio total por ambos métodos de digestión, en las bebidas vegetales de almendras, coco y nuez y en la leche de cabra pero de igual manera se obtuvo una concentración de calcio total mayor por la vía húmeda, excepto en la bebida vegetal de coco que se obtuvo la misma concentración de calcio total por ambos métodos de digestión.

En cuanto a la diferencia que hay entre el contenido de calcio total por ambos métodos de digestión, **Mendoza, 2014** cita que al cuantificar el calcio en sus muestras de foliares de caña de azúcar, no hubo diferencia estadísticamente significativa atribuidas a los dos métodos de digestión (húmedo y seco) utilizados. **Sánchez, 2014** de igual manera hace la comparación de métodos de digestión por la vía húmeda y seca para cuantificar el calcio en muestras de hojas de *Moringa oleifera* y encontró que no existe diferencia significativa por ambos métodos de digestión. Lo que mencionan estos dos autores coincide un poco con lo que se obtuvo experimentalmente, porque no en todas las muestras hubo diferencia significativa como se muestra en la Figura 3.1, por lo tanto para las muestras que no tuvieron diferencia estadísticamente significativa podría emplearse cualquiera de los dos métodos de digestión.

3.4.2 Comparación de fósforo total en bebidas vegetales y en leches, por los dos métodos de digestión húmedo y seco

En la Figura 3.2 se observa la comparación de fósforo total por ambos métodos de digestión húmedo y seco en las bebidas vegetales y en leches de origen animal.



Barras con + presentan diferencia estadísticamente significativa

Figura 3.2 Contenido de fósforo total por dos métodos de digestión húmedo y seco en bebidas vegetales y leches de origen animal (mg P/100 ml)

Se muestra en la Figura 3.2 que si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo total en las bebidas vegetales y en las leches por los dos métodos de digestión húmedo y seco, obteniendo una concentración mayor de fósforo total en todas las muestras por la vía húmeda.

De acuerdo con **Mendoza, 2014** el procedimiento de digestión húmeda produce excelentes resultados, y esto se puede comprobar en las Figuras 3.1 y 3.2 donde se observa que se logró cuantificar un mayor contenido de calcio y fósforo total respectivamente por la vía húmeda, sin embargo en este mismo trabajo comenta que el método por la vía seca sigue siendo favorable cuando la digestión se realiza para elementos no volátiles, ya que se pueden procesar una gran cantidad de muestras y las cenizas pueden disolverse en pequeños volúmenes.

Martínez, 2002 hace la comparación entre las dos vías de digestión húmedo y seco para determinar el contenido de fósforo en una muestra foliar de pimiento y menciona que la metodología más adecuada para oxidar la materia orgánica cuando

se quiere determinar fósforo es la digestión húmeda, ya que la temperatura no supera los 340°C, a partir de la cual pequeñas cantidades del elemento antes mencionado se pierde por volatilización; esto se puede comprobar porque se obtuvo menor contenido de fósforo total por la vía seca como se muestra en la Figura 3.2 ya que pequeñas cantidades de fósforo se volatilizaron en la mufla a 500°C.

Por otro lado **Nollet, 1996** menciona que una desventaja de usar la digestión seca es porque tiene poca utilidad para el análisis de elementos como Hg, As, P y Se por lo tanto concuerda con los resultados obtenidos con respecto al fósforo en todas las muestras.

Mendoza, 2014 realizó una comparación entre el método de digestión húmedo y seco para cuantificar fósforo y encontró que hay diferencia significativa entre sus muestras de foliares de caña de azúcar y explica que esto se debe a que cuando se utiliza la detección colorimétrica, esto puede derivarse de la diferencia en coloración que presentan las muestras por ambos métodos de digestión, los cuales son incoloras cuando se realiza la digestión seca obteniendo un mayor contenido de fósforo por la vía húmeda. Los resultados obtenidos en la Figura 3.2 concuerdan con lo que menciona **Mendoza, 2014** porque cuando se hicieron las digestiones húmedas la mayoría de las soluciones madres tenían una coloración amarilla en comparación con las soluciones madres de la vía seca que eran incoloras, por lo tanto cuando se agregó el reactivo de molibdo-vanadato a las soluciones madres para leer el fósforo, las soluciones madres por la vía húmeda tenían mayor color que las soluciones por la vía seca y por lo tanto se cuantificó un mayor contenido de fósforo total por la vía húmeda.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se logró una mayor concentración de calcio y fósforo total por la vía húmeda y se tomaron estos datos para el análisis de resultados y todas las digestiones que se hicieron posteriormente sólo se realizaron por el método de digestión húmeda.

3.5 Cuantificación de calcio y fósforo total por la vía húmeda en bebidas vegetales

3.5.1. Cuantificación de calcio total por la vía húmeda en bebidas vegetales

En el Cuadro 3.4 se muestra el contenido de calcio total por la vía húmeda en las bebidas vegetales.

Cuadro 3.4 Contenido de calcio total en bebidas vegetales (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste
Calcio total	41.534 ^b	41.720 ^b	55.490 ^d	50.242 ^c	48.269 ^c	3.274 ^a
Reportado en la literatura	42.000	40.000	18.000	17.000	42.000	50.000

Los valores corresponden al promedio con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05).

Reportado en la literatura: USDA, 2015 (Almendras, Soya, Coco, Nuez, Arroz); Medrano, 2013 (Alpiste)

Como se puede observar en el Cuadro 3.4 hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio total en las bebidas vegetales de coco y alpiste, pero no hay diferencia estadísticamente significativa entre las bebidas vegetales de nuez y arroz ni tampoco entre las bebidas vegetales de almendras y soya. Por otro lado se observa que la bebida vegetal con menor concentración de calcio total es la bebida vegetal de alpiste, seguida de almendras, soya, arroz, nuez y finalmente coco.

Según con la información nutrimental reportada en la etiqueta de las bebidas vegetales de almendras, soya, coco y arroz tienen un contenido de calcio de 123.75 mg Ca/100 mL comparando este valor con lo que se obtuvo experimentalmente, como se muestra en el Cuadro 3.4, se obtuvieron valores que no coinciden con lo reportado en su etiqueta; en cuanto a la bebida vegetal de nuez en su etiqueta menciona que tiene 168.75 mg Ca/100 mL y experimentalmente tampoco se obtuvo el valor reportado y por último en la bebida vegetal de alpiste en su etiqueta no se reporta la cantidad de calcio.

Por otro lado en el Cuadro 3.4 se observa el contenido de calcio total reportado en la literatura (**USDA, 2015**) (**Medrano, 2013**), las bebidas vegetales de almendras, soya y arroz experimentalmente obtuvieron un contenido de calcio total de 41.534, 41.720 y 48.269 mg Ca/100 mL respectivamente; comparando estos resultados con lo que reporta la literatura (Cuadro 3.4) se obtuvieron valores muy cercanos a lo reportado, sin embargo para las bebidas vegetales de coco, nuez y alpiste se cuantifico un calcio total de 55.490, 50.242 y 3.274 mg Ca/100 mL respectivamente y de acuerdo a la literatura experimentalmente no se obtuvieron los valores reportados en la literatura; esta diferencia puede ser asociada a la composición de las bebidas vegetales que dependen de varios factores como variedad de la legumbre, oleaginosa, cereal o fruto, localización geográfica, madurez, método de extracción y la cantidad de agua incorporada durante el proceso de extracción (**Hernandez, 2016**).

3.5.2 Cuantificación de fósforo total por la vía húmeda en bebidas vegetales

A continuación se muestra en el Cuadro 3.5 el contenido de fósforo total por la vía húmeda en las bebidas vegetales.

Cuadro 3.5 Contenido de fósforo total en bebidas vegetales (mg P/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste
Fósforo total	25.325 ^b	29.800 ^b	48.322 ^d	10.382 ^c	20.000 ^c	3.274 ^a
Reportado en la literatura	42.000	40.000	18.000	17.000	42.000	50.000

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05)

Reportado en la literatura: USDA, 2015 (Almendras, Soya, Coco, Nuez, Arroz)

En el Cuadro 3.5 se observa que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo total en todas las bebidas vegetales, por otra parte se muestra que la bebida vegetal que contiene menor concentración de fósforo total es la de nuez, en seguida la de alpiste, después la de arroz, almendras, soya y finalmente coco. También en el Cuadro 3.5 se muestra el contenido de fósforo total reportado en la literatura (**USDA, 2015**); comparando los valores experimentales

con lo que menciona la literatura, en todas las muestras experimentalmente no se obtuvieron los valores reportados y para la bebida de alpiste no se encontró el contenido de fósforo total en la literatura, esta diferencia entre el contenido de fósforo total que se obtuvo experimentalmente y el reportado en la literatura se debe a la composición química de las bebidas vegetales y a varios factores como ya se mencionaron antes **(Hernandez, 2016)**. Los contenidos nutricionales de estos productos a base de plantas dependen de la fuente, de los métodos de elaboración y de la fortificación de estos productos **(Singhal, 2017)**.

3.6 Cuantificación de calcio y fósforo total por la vía húmeda en leches de diferentes especies como vaca, cabra y borrega

3.6.1 Cuantificación de calcio total por la vía húmeda en leches

A continuación en el Cuadro 3.6 se muestra el contenido de calcio total por la vía húmeda en la leche de vaca, cabra y borrega.

Cuadro 3.6 Contenido de calcio total en leches (mg Ca/100 mL)

	Vaca	Cabra	Borrega
Calcio total	108.119 ^a	121.975 ^b	165.673 ^c
Reportado en la literatura	122.000	134.000	196.900

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05)

Reportado en la literatura: Claeys, 2016 (Vaca, Cabra, Borrega)

En el Cuadro 3.6 se muestra que si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio total en todas las muestras de leches, obteniendo una mayor concentración de calcio total en la leche de borrega, seguida de la leche de cabra y por último la leche de vaca.

Comparando la concentración de calcio total que se obtuvo experimental que fue de 108.119, 121.975 y 154.673 mg Ca/100 mL en la leche de vaca, cabra y borrega

respectivamente y comparar estos resultados con lo que menciona la literatura que es de 122, 134 y 196.9 mg Ca/100 mL para la leche de vaca, cabra y borrega respetivamente (**Claeys, 2016**) no se obtuvieron los valores reportados en la literatura, esta diferencia sobre el contenido de calcio total se debe a varios factores como son la raza, el tipo de alimentación, el medio ambiente, la edad del animal, estado de lactación entre otros (**Agudelo, 2005**).

3.6.2 Cuantificación de fósforo tota por la vía húmeda en leches

A continuación en el Cuadro 3.7 se muestra el contenido de fósforo total por la vía húmeda para la leche de vaca, cabra y borrega.

Cuadro 3.7 Contenido de fósforo total en leches (mg P/100 mL)

	Vaca	Cabra	Borrega
Fósforo total	81.444 ^c	97.759 ^b	136.60 ^a
Reportado en la literatura	119.000	121.000	152.300

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%. Las medias seguidas por la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tuckey, p<0.05)

Reportado en la literatura: Claeys, 2016 (Vaca, Cabra, Borrega)

En el Cuadro 3.7 se observa que si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo total en todas las leches, obteniendo una menor concentración en la leche de vaca, seguida de cabra y por último la de borrega. Por otro lado, se muestra el contenido de fósforo total reportado en la literatura (**Claeys, 2016**), donde los valores que se obtuvieron experimentalmente fueron de 81.444, 97.750 y 136.600 mg P/100 mL en leche de vaca, cabra y borrega respectivamente, valores que no se parecen a lo reportado en la literatura como se observa en el Cuadro 3.7; esta diferencia se debe a varios factores que ya se explicaron anteriormente (**Agudelo, 2005**).

De acuerdo con la literatura, la composición mineral de la leche de las distintas especies se presenta como uno de los aspectos más característicos o específicos de las mismas, sirviendo por lo tanto para identificarlas (**Sanz, 2003**).

Comparando el contenido de calcio y fósforo total de las bebidas vegetales (Cuadros 3.4 y 3.5), con respecto al contenido de calcio y fósforo total de las leches (Cuadros 3.6 y 3.7); las bebidas vegetales tienen un bajo contenido de estos minerales con respecto a las leches. **Singhal, 2017** argumenta que la mayoría de las bebidas no lácteas están fortificadas con calcio, sin embargo la adición de calcio a un producto no garantiza la equivalencia nutricional con otros productos que contienen cantidades similares de calcio, porque la biodisponibilidad del calcio varía significativamente en las bebidas fortificadas, en cambio en la leche de vaca y la de otros mamíferos tienen un alto contenido de calcio y altamente biodisponible.

Señala **Sethi, 2016** que las bebidas vegetales no se consideran sustitutos a la leche de vaca porque nutricionalmente no son comparables o equivalentes a la leche de vaca, por lo tanto con el fin de utilizar las bebidas vegetales como sustitutos de la leche de vaca, es indispensable la fortificación de vitaminas y minerales. También los tratamientos del procesamiento para la elaboración de las bebidas vegetales tales como descamación, blanqueo, trituración en caliente y la UHT etc podrían causar la pérdida de nutrientes, especialmente de vitaminas y minerales.

Se sabe que las leches se caracterizan porque son una buena fuente por el contenido y alta biodisponibilidad del calcio; y que las bebidas vegetales necesitan ser fortificadas con fuentes de calcio para alcanzar la concentración de calcio que tiene la leche, sin embargo **Farré, 2015** indica que en las bebidas vegetales cuando se fortifican con carbonato cálcico proporcionan una absorción de calcio similar al de la leche y cuando se fortifican con fosfato tricálcico la absorción del calcio es menor.

Revisando los ingredientes de las bebidas vegetales de almendras, coco y arroz su fuente de calcio para fortificarlas fue fosfato tricálcico lo que les confiere menor absorción de calcio al consumirlas; en cuanto a las bebidas vegetales de soya y nuez fueron fortificadas con carbonato cálcico y por lo tanto al consumirlas la

absorción del calcio es mayor que las anteriores bebidas vegetales y para la bebida vegetal de alpiste en sus ingredientes no menciona la fuente de calcio.

Por lo tanto estas bebidas vegetales que fueron utilizadas, se puede decir que no fueron fortificadas con la cantidad necesaria de calcio y fósforo para alcanzar los niveles de concentración de calcio y fósforo como en las leches o puede ser que en estas bebidas vegetal tal vez en su proceso de elaboración hubo pérdidas de estos minerales de calcio y fósforo y de esta manera las bebidas vegetales tienen menor concentración de estos minerales con respecto a las leches.

Se sabe que en la leche de vaca, cabra y oveja el fosfato de calcio coloidal retícula a las caseínas junto con otros minerales en cantidades pequeñas como Mg, Na, K y citrato (**Park, 2007**); y que la caseína es la proteína más característica de la leche por no encontrarse en otros alimentos (**Agudelo, 2005**), por esta razón las proteínas de las bebidas vegetales no son caseínas.

A continuación se hizo la precipitación de las proteínas vegetales así como de las proteínas animales tanto en las bebidas vegetales como en las leches respectivamente; por medio de un método físico (centrifugación), dos métodos químicos (acidificación y sales) y un método enzimático (quimosina), con el propósito de observar si los minerales de calcio y fósforo en las bebidas vegetales están ligados a sus proteínas como en las leches. Se usó la leche de vaca como referencia porque es la leche más consumida comparada con las otras leches (cabra y borrega).

3.7 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca con TCA al 10%

3.7.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando TCA al 10%

En el presente Cuadro 3.8 se muestra el contenido de calcio soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3.8 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Calcio coloidal	1.426 ^{αD}	0.735 ^{αB}	1.745 ^{αE}	1.920 ^{αF}	1.134 ^{αC}	0.497 ^{αA}	2.026 ^{αG}
Calcio soluble	41.010 ^{βB}	41.375 ^{βB}	52.760 ^{βE}	48.115 ^{βD}	46.496 ^{βC}	2.323 ^{βA}	104.062 ^{βF}
Calcio total	41.534	41.720	55.490	50.242	48.269	3.274	108.119

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV<5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A- G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.8 se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de calcio coloidal entre todas las muestras, mientras no existe diferencia estadísticamente significativa en la concentración de calcio soluble entre almendras y soya pero si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio soluble en el resto de las muestras.

Por otro lado también se muestra en el Cuadro 3.8 que hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de calcio soluble y coloidal en todas las muestras; se observa que al precipitar las proteínas de las bebidas vegetales con TCA⁵ al 10%, la mayoría de la concentración de calcio total se encuentra en la fase soluble mientras que en la fase coloidal la concentración de calcio es muy

⁵ TCA.- Ácido Tricloroacético

baja; por otro lado también se muestra que en la leche de vaca, de la misma manera que en las bebidas vegetales, se tiene mayor concentración de calcio soluble que calcio coloidal.

La literatura (**Fennema, 2000**) reporta que la leche de vaca tiene un contenido de calcio soluble de 33 mg Ca/100 mL y un contenido de calcio coloidal de 67 mg Ca/100 mL por lo tanto la concentración de calcio coloidal es mayor que en la fase soluble; experimentalmente en la leche de vaca se obtuvo una concentración mayor en la parte soluble que en la fase coloidal, es decir se obtuvieron datos experimentales al revés de acuerdo con la literatura. Tomando en cuenta los valores de referencia de la leche de vaca que reporta la literatura y compararlos con los datos que se obtuvieron experimentalmente tanto de las bebidas vegetales como en la leche de vaca no coinciden con lo reportado que es tener mayor concentración de calcio en la fase coloidal que en la fase soluble.

3.7.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína (mg P/100 mL) en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca usando TCA al 10%

A continuación en el Cuadro 3.9 se muestra el contenido de fósforo soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3.9 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Fósforo coloidal	3.961 ^{αD}	5.885 ^{αE}	9.573 ^{αF}	2.878 ^{αB}	3.111 ^{αC}	2.616 ^{αA}	13.815 ^{αG}
Fósforo soluble	21.256 ^{βD}	23.002 ^{βE}	37.754 ^{βF}	7.676 ^{βA}	17.013 ^{βC}	9.248 ^{βB}	67.581 ^{βG}
Fósforo total	25.325	29.800	48.322	10.382	20.901	12.773	81.444

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A- G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.9 se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo coloidal entre todas las muestras, al igual existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo soluble entre todas las muestras.

También se observa que hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de fósforo soluble y coloidal en todas las muestras; por otro lado también se muestra que la mayoría de la concentración del fósforo total en las bebidas vegetales se encuentra en la fase soluble que en la fase coloidal. Esta misma tendencia se observó en la leche de vaca obteniendo un mayor contenido de fósforo soluble que fósforo coloidal.

La literatura (**Fennema, 2000**) menciona que la leche de vaca tiene un contenido de fósforo soluble de 45 mg P/100 mL y de fósforo coloidal tiene 55 mg P/100 mL, comparando estos valores con lo que se obtuvo experimentalmente en la leche de vaca se obtuvieron datos al revés, obteniendo un mayor contenido de fósforo soluble con respecto al fósforo coloidal como se muestra en el Cuadro 3.9. Tomando los datos de referencia de la literatura de la leche de vaca y compararlos con los valores que se obtuvieron en las bebidas vegetales no coinciden con lo de literatura de tener mayor contenido de fósforo coloidal que en la fase soluble.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se sabe que durante la coagulación inducida por ácido en la leche de vaca los cambios se producen no sólo en la superficie de la micela, sino también en su estructura interna. La acidificación de pH 6.6 a 5.3 causa la liberación progresiva de iones fosfato cálcico, magnesio y citrato desde el interior de las micelas ocasionando la pérdida de los nanoclusters de fosfato de calcio coloidal. Todo el fosfato inorgánico se solubiliza cuando se alcanza el pH de 5.2 y la mayoría de los iones de calcio restantes se solubilizan cuando se alcanza el pH de 4.6 que es el punto isoeléctrico de la caseína (**Dalgleish, 2012**).

Walstra, 2001 argumenta que el fosfato coloidal se va disolviendo cuando se lleva a cabo la acidificación en la leche y la disolución se completa a pH de 5.25. La eliminación de todo el calcio requiere un pH todavía más bajo, inferior al pH isoeléctrico de la caseína. Al descender más el pH, la carga negativa de la caseína

aumenta más por la disociación de los iones calcio y, eventualmente, disminuye de nuevo debido a la asociación con los iones H⁺. A un pH todavía más bajo, la caseína adquiere una carga positiva. Además el descenso de pH produce inicialmente un hinchamiento de las micelas y después un considerable encogimiento. Por otro lado **Anema, 2009** menciona que a un pH por debajo del pH natural de la leche el fosfato cálcico coloidal se solubiliza.

Por eso en la leche de vaca experimentalmente se obtuvieron valores más altos de calcio y fósforo en la fase soluble que en la fase coloidal, debido a que las micelas de caseína se desmineralizaron solubilizándose la mayoría de los minerales, especialmente el fosfato cálcico coloidal de las caseínas en la fase soluble; en cuanto a las bebidas vegetales ocurrió lo mismo que en la leche de vaca, porque las proteínas vegetales tienen su punto isoeléctrico inferior a 5 (**Makinen, 2016**) y cuando se precipitaron sus proteínas con TCA⁶ al 10%, el calcio y fósforo que están “asociados a las proteínas” se solubilizaron en la fase acuosa y de esta manera ocasionó que las proteínas vegetales se desmineralizaran al igual que las caseínas.

3.7.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando TCA al 10%

En el Cuadro 3.10 se muestra el contenido de proteína soluble, coloidal, total y la relación de caseína/suero de las bebidas vegetales y de leche de vaca.

⁶ TCA.- Ácido Tricloroacético

Cuadro 3.10 Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Proteína coloidal	0.322 ^{βD}	1.994 ^{βF}	0.143 ^{βB}	0.218 ^{βC}	0.083 ^{βA}	0.904 ^{βE}	3.319 ^{βG}
Proteína soluble	0.095 ^{αC}	0.181 ^{αE}	0.095 ^{αC}	0.150 ^{αF}	0.038 ^{αA}	0.101 ^{αD}	0.086 ^{αB}
Proteína total	0.420	2.259	0.239	0.390	0.131	1.035	3.594
Relación coloidal/soluble	3.300	11.00	1.500	1.400	2.100	8.900	38.500

Los valores corresponden al promedio de triplicados \pm su desviación estándar con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A- G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.10 se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína coloidal entre todas las muestras, mientras no existe diferencia estadísticamente significativa en la concentración de proteína soluble entre almendras y coco pero si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína soluble en el resto de las muestras.

También se observa en el Cuadro 3.10 que si existe diferencia estadísticamente significativa entre la proteína coloidal y la proteína soluble en todas las muestras. Cuando se utilizó TCA ⁷ al 10% para precipitar las proteínas tanto de las bebidas vegetales como en la leche de vaca, se observa que se logró separar las proteínas “ligadas al Ca y P” en las bebidas vegetales y la proteína coloidal en la leche de vaca del suero, obteniendo un mayor contenido de proteína coloidal que proteína soluble en todas las muestras. Estos resultados concuerdan con lo que menciona la literatura, que dice que en la leche de vaca se tiene 80% de caseína y 20% de seroproteína y que la relación de caseína/suero es de 4.7 (**Gaspard, 2017**), experimentalmente si se obtuvo más proteína coloidal que proteína soluble en todas

⁷ TCA.- Ácido Tricloroacético

las muestras, sin embargo experimentalmente en la leche de vaca se obtuvo un resultado de caseína/suero muy elevado; en cuanto a las bebidas vegetales tomando como referencia este valor de 4.7 ninguna muestra se asemeja a este valor.

3.8 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca aplicando fuerza mecánica

3.8.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando fuerza mecánica

A continuación en el Cuadro 3.11 se muestra el contenido de calcio soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3 11 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Calcio coloidal	34.672 ^{βD}	36.938 ^{βE}	37.029 ^{βF}	40.870 ^{βG}	26.344 ^{βC}	2.569 ^{βA}	15.554 ^{αB}
Calcio soluble	4.534 ^{αB}	5.984 ^{αC}	17.199 ^{αE}	10.089 ^{αD}	19.868 ^{αF}	1.049 ^{αA}	89.308 ^{βG}
Calcio total	41.534	41.720	55.490	50.242	48.269	3.274	108.119

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A- G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.11 se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio coloidal entre todas las muestras, también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio soluble entre todas las muestras.

Por otra parte también se observa en el Cuadro 3.11 hay diferencia estadísticamente significativa entre el calcio coloidal y soluble de todas las muestras. Aplicando el método físico de centrifugación en las bebidas vegetales, el

contenido de calcio es mayor en la fase coloidal con respecto a la fase soluble, comparando estos resultados y tomando en cuenta los valores de referencia de la leche vaca que se reportan en la literatura (**Fennema, 2000**) que son calcio soluble de 33 mg Ca/100 ml y calcio coloidal de 67 mg Ca/100 mL; las bebidas vegetales concuerdan en tener un mayor contenido de calcio coloidal que calcio soluble; sin embargo para la leche de vaca experimentalmente se volvieron a obtener resultados al revés, es decir se obtuvo mayor contenido de calcio soluble que calcio coloidal y por lo tanto no concuerdan estos datos antes mencionados en la literatura.

3.8.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg P/100 mL) usando fuerza mecánica

A continuación en el Cuadro 3.12 se muestra el contenido de fósforo soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3.12 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Fósforo coloidal	22.390 ^{βF}	19.631 ^{βE}	25.207 ^{βG}	6.025 ^{βB}	16.304 ^{βD}	9.704 ^{βC}	2.616 ^{αA}
Fósforo soluble	2.099 ^{αA}	10.108 ^{αE}	22.695 ^{αF}	2.422 ^{αB}	3.666 ^{αD}	3.046 ^{αC}	78.538 ^{βG}
Fósforo total	25.325	29.800	48.322	10.382	20.901	12.773	81.444

Los valores corresponden al promedio de triplicados \pm su desviación estándar con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.12 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo coloidal entre todas las muestras, también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo soluble entre todas las muestras.

También se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de fósforo coloidal y soluble en todas las muestras; en las bebidas vegetales se obtuvo un mayor contenido de fósforo coloidal que fósforo soluble. Tomando de nuevo los valores de referencia de la leche de vaca reportados en la literatura de fósforo soluble de 45 mg P/100 mL y de fósforo coloidal tiene 55 mg P/100 mL (**Fennema, 2000**), estos datos coinciden con los valores experimentales de las bebidas vegetales donde se obtuvo un mayor contenido de fósforo en la parte coloidal que en la parte soluble; sin embargo en la leche de vaca experimentalmente se obtuvo mayor concentración de fósforo soluble con respecto al fósforo coloidal y esto no concuerda con lo que dice la literatura.

De acuerdo con los resultados obtenidos al aplicar el método físico de centrifugación en las bebidas vegetales, se observó que es un método que si sirve para poder cuantificar calcio y fósforo en la parte ligada a proteína porque los resultados coinciden con lo que dice la literatura que es tener mayor concentración de calcio y fósforo en la parte coloidal, pero para la leche de vaca no es un buen método ya que se obtuvo un mayor contenido de calcio y fósforo soluble que al igual cuando se acidifico la leche.

Makinen, 2016 afirma que entre el 82-89% del calcio de las bebidas vegetales de soya y arroz es separable por centrifugación mientras que en la leche de vaca solo es de un 11%, esto coincide con lo que obtuvo experimentalmente ya que en las bebidas vegetales cuando se aplicó la centrifugación se logró cuantificar más contenido de calcio ligado a proteína que en la leche de vaca.

3.8.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando fuerza mecánica

En el Cuadro 3.13 se muestra el contenido de proteína soluble y coloidal en bebidas vegetales y en leche de vaca.

Cuadro 3.13 Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Proteína coloidal	0.116 ^{αD}	0.129 ^{αE}	0.113 ^{αC}	0.070 ^{αB}	0.058 ^{αA}	0.411 ^{αF}	0.726 ^{αG}
Proteína soluble	0.317 ^{βD}	1.892 ^{βF}	0.125 ^{βB}	0.313 ^{βC}	0.073 ^{βA}	0.582 ^{βE}	2.750 ^{βG}
Proteína total	0.420	2.259	0.239	0.390	0.131	1.035	3.594
Relación coloidal/soluble	0.36	0.06	0.90	0.22	0.79	0.70	0.264

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.13 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína coloidal entre todas las muestras, también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína soluble entre todas las muestras.

Como se observa en el Cuadro 3.13 si existe diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de proteína coloidal y soluble en todas las muestras. Al precipitar las proteínas mediante centrifugación se obtiene menor contenido de proteína coloidal que proteína soluble en todas las muestras, lo que nos indica que no se está separando del todo la parte coloidal de la parte soluble y por lo tanto se tiene mayor contenido de proteína soluble.

De acuerdo con la literatura (**Gaspard, 2017**), menciona que la leche de vaca tiene 80% de caseínas y 20% de proteínas de suero y que la relación caseína/suero es de 4.7, si se comparan los datos que se obtuvieron experimentalmente de la leche con lo reportado, no coinciden con lo de la literatura porque experimentalmente se obtuvo mayor proteína soluble que coloidal y la relación de caseína/suero experimentalmente fue muy baja. Tomando de referencia estos datos de la literatura y compararlos con los valores que se obtuvieron experimentalmente de las bebidas

vegetales no coinciden con lo reportado tanto de tener mayor concentración de proteína coloidal como la relación coloidal/soluble.

Por consiguiente como en las bebidas vegetales se obtuvo un mayor contenido de calcio y fósforo ligado a proteína pero su contenido de proteína “coloidal” es menor que la proteína soluble, se establece que el calcio y el fósforo no están ligados a las proteínas, caso contrario en la leche de vaca se obtuvo menor contenido de calcio, fósforo y proteína coloidal por medio de la centrifugación y por lo tanto el calcio y fósforo si están ligados a sus proteínas.

Se sabe que el fosfato cálcico coloidal (CCP) es un factor de integración de las micelas de caseínas ya que si se elimina el CCP la micela se desintegra entre los posibles sitios de unión que son el grupo carboxilo y fosfato éster (**Aoki, 2006**), así que si solo se centrifugó la leche de vaca no implica una precipitación de sus proteínas, lo único que sucede es que se separa una pequeña parte de proteína coloidal de la leche de vaca y como están ligados el calcio y fósforo a la caseína, al cuantificar calcio y fósforo coloidal sus concentraciones son muy bajas.

3.9 Precipitación de proteínas en las bebidas vegetales y en leche de vaca con citrato de sodio al 10%

3.9.1 Concentración de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL) usando citrato de sodio al 10%

A continuación en el Cuadro 3.14 se muestra el contenido de calcio soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3.14 Contenido de calcio soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Calcio coloidal	35.307 ^{βE}	29.719 ^{βD}	46.145 ^{βG}	45.369 ^{βF}	28.025 ^{βC}	2.253 ^{βA}	23.247 ^{αB}
Calcio soluble	5.768 ^{αB}	11.904 ^{αD}	9.722 ^{αC}	5.487 ^{αB}	17.240 ^{αE}	1.811 ^{αA}	83.648 ^{βF}
Calcio total	41.534	41.720	55.490	50.242	48.269	3.274	108.119

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.14 se muestra que si existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio coloidal entre todas las muestras, mientras que no existe diferencia estadísticamente significativa en la concentración de calcio soluble entre de almendras y nuez pero si hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína soluble en el resto de las muestras.

Por otra parte también se observa que si hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de calcio coloidal y soluble en todas las muestras. Al precipitar las proteínas con citrato de sodio en las bebidas vegetales se obtuvo mayor contenido de calcio “coloidal” que calcio soluble, de nuevo tomando de referencia los valores de la leche sobre el contenido de calcio coloidal de 67 mg Ca/100 mL de y soluble de 33 mg Ca/100 mL (**Fennema, 2000**), los resultados obtenidos concuerdan con lo que reporta la literatura de tener mayor contenido de calcio coloidal que calcio soluble. También en el Cuadro 3.14 se observa la concentración de calcio coloidal y soluble en leche de vaca y si se comparan estos resultados con lo que reporta la literatura, como ya se mencionó anteriormente, se vuelve a obtener menor concentración de calcio coloidal con respecto al calcio soluble.

3.9.2 Concentración de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg P/100 mL) usando citrato de sodio al 10%

En el Cuadro 3.15 se muestra el contenido de fósforo soluble y coloidal de las muestras.

Cuadro 3.15 Contenido de fósforo soluble y ligado a proteína en bebidas vegetales y fósforo soluble y coloidal en leche de vaca (mg Ca/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Fósforo coloidal	14.619 ^{βD}	15.151 ^{βE}	28.415 ^{βF}	6.482 ^{βA}	15.498 ^{βC}	7.094 ^{βB}	24.412 ^{αG}
Fósforo soluble	9.264 ^{αD}	11.469 ^{αE}	19.951 ^{αF}	3.664 ^{αA}	5.125 ^{αC}	4.826 ^{αB}	57.130 ^{βG}
Fósforo total	25.325	29.800	48.322	10.382	20.901	12.773	81.444

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.15 muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo coloidal entre todas las muestras y también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo soluble en todas las muestras.

También se observa en el Cuadro 3.15 que hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de fósforo coloidal y soluble en todas las muestras. Por otro lado se muestra que la concentración de fósforo coloidal es mayor que la concentración de fósforo soluble en las bebidas vegetales. Una vez más se toman de referencia los datos de la leche de vaca que reporta la literatura, que dice que tiene un contenido de fósforo soluble de 45 mg P/100 mL y de fósforo coloidal tiene 55 mg P/100 mL (**Fennema, 2000**); los datos de las bebidas vegetales que se obtuvieron experimentalmente coinciden con lo reportado de tener mayor concentración de fósforo coloidal que fósforo soluble.

Por otro lado también se observa en el Cuadro 3.15 que los datos que se obtuvieron experimentalmente de la leche de vaca no se parecen a lo reportado anteriormente en la literatura, porque se cuantificó mayor contenido de fósforo soluble que fósforo coloidal.

Se sabe que la adición de sales en la leche induce un aumento en la viscosidad. Todos estos cambios fisicoquímicos provocan una pérdida en la estructura micelar, provocando modificaciones en los equilibrios de las sales en la leche, ocasionando que la fase acuosa se vuelve menos saturada en fosfato de calcio y los equilibrios de las sales se desplazan de la fase micelar a la fase acuosa con incrementos de contenido de calcio y fosfato inorgánico en la fase acuosa (**Gaucheron, 2011**).

Amiot, 2000 señala que la adición de sales en la leche como como citrato reduce la concentración de iones de calcio y fosfato de calcio coloidal y aumenta el calcio soluble y el fosfato soluble. La naturaleza de la sal que se utiliza es un aspecto muy importante, las sales que producen enlaces e interactúan directamente con la proteína tienen efectos desestabilizadores. Las sales que producen mejores resultados, es decir una mayor precipitación de las proteínas, son aquellas que producen deshidratación de las regiones hidrofóbicas y fomentan la hidratación de las regiones polares de la proteína.

Existe una regla para seleccionar la sal más adecuada para un proceso de precipitación donde los aniones son más efectivos en el siguiente orden citrato³⁻>tartato²⁻>SO₄²⁻>F⁻>IO₃⁻>H₂PO₄⁻>CH₃COO⁻>Cl⁻>ClO₃⁻>Br⁻>NO₃⁻>ClO₄⁻>I⁻ (**Tejada, 2011**). Por este motivo se explica el comportamiento de la sal de citrato de sodio en la leche de vaca porque experimentalmente cuando se agregó, el calcio y fósforo coloidal se desplazaron a la fase soluble y de esta manera se cuantifico más calcio y fósforo soluble. **Villegas, 2015** afirma que para precipitar las caseínas de la leche utilizaron citrato de sodio pero con quimosina; en este caso el citrato de sodio actúa como un agente secuestrante de calcio y ajusta el pH, ambas funciones ayudan a la hidratación de las caseínas.

Una vez más se comprueba que el calcio y fósforo en las bebidas vegetales no está ligado a sus proteínas como en la leche porque se cuantificó más calcio y fósforo

coloidal que en la fase soluble cuando se adiciono citrato de sodio; caso contrario en la leche de vaca al agregar algún tipo de sal para precipitar la concentración de calcio y fósforo es mayor en la fase acuosa que en la fase coloidal; por lo tanto las bebidas vegetales no siguen el mismo comportamiento que en la leche de vaca.

3.9.3 Cuantificación de proteína soluble y proteína ligada a minerales en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL) usando citrato de sodio

En el Cuadro 3.16 se muestra el contenido de proteína soluble y coloidal de las bebidas vegetales y de la leche de vaca.

Cuadro 3.16 Contenido de proteína soluble y proteína ligada a Ca y P en bebidas vegetales y proteína soluble y coloidal en leche de vaca (g proteína/100 mL)

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca
Proteína coloidal	0.180 ^{αE}	0.226 ^{αF}	0.103 ^{αC}	0.136 ^{αD}	0.036 ^{αA}	0.447 ^{αG}	0.070 ^{αB}
Proteína soluble	0.231 ^{βD}	1.805 ^{βF}	0.125 ^{βB}	0.234 ^{βD}	0.091 ^{βA}	0.623 ^{βE}	3.135 ^{βG}
Proteína total	0.420	2.259	0.239	0.390	0.131	1.035	3.594
Relación coloidal/soluble	0.78	0.12	0.82	0.58	0.39	0.71	0.02

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.16 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína coloidal entre todas las muestras y también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína soluble en todas las muestras.

También por otro lado en el Cuadro 3.16 se observa que al utilizar citrato de sodio para precipitar las proteínas de las muestras hay diferencia estadísticamente

significativa entre el contenido de proteína coloidal y soluble en todas las muestras, obteniendo mayor contenido de proteína soluble que proteína coloidal. Se sabe que las caseínas representan el 80% de las proteínas de la leche y el resto que es 20% son proteínas de suero, por lo tanto en la leche de vaca experimentalmente se obtuvieron resultados al revés, es decir se obtuvo mayor contenido de proteína soluble que proteína coloidal y por lo tanto al cuantificar el calcio y fósforo coloidal en la proteína coloidal las concentraciones son muy bajas ya que realmente no se está logrando separar las caseínas de las proteínas del suero.

En cuanto a las bebidas vegetales los datos experimentales de proteína coloidal y soluble no coinciden con lo reportado en la literatura de tener más proteína coloidal que proteína soluble, sin embargo al cuantificar el calcio y fósforo coloidal se obtienen concentraciones mayores que en la fase acuosa y de esta manera se establece que el calcio y fósforo no están ligadas a sus proteínas. Comparando la relación que existe entre caseína/suero en la leche de vaca que es de 4.7 (Claeys, 2016), ninguna de las muestras se acerca a esta relación de caseína/suero como se puede apreciar en el Cuadro 3.16 tanto las bebidas vegetales como en la leche de vaca.

3.10 Precipitación de proteínas en leche de vaca, cabra y borrega con quimosina

3.10.1 Concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg Ca/100 mL) usando quimosina

A continuación se muestra en el Cuadro 3.17 la concentración de calcio soluble y coloidal en las leches.

Cuadro 3.17 Concentración de calcio soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg Ca/100 mL)

	Vaca	Cabra	Borrega
Calcio coloidal	74.356 ^{β A}	99.141 ^{β B}	101.483 ^{β C}
Calcio soluble	32.397 ^{α B}	23.159 ^{α A}	45.871 ^{α C}
Calcio total	108.119	121.975	154.673

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-C no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.17 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio coloidal entre todas las leches y también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de calcio soluble.

También se observa en este mismo Cuadro, que existe diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de calcio coloidal y soluble en las leches. Como se precipitaron las proteínas de la leche de vaca por diferentes métodos de precipitación y ninguno de los métodos coincidió con lo reportado en la literatura, en el Cuadro 3.17 se observa la concentración de calcio coloidal y soluble donde se usó quimosina para precipitar las proteínas únicamente de origen animal; lo que se puede ver es que en las tres leches la concentración de calcio coloidal es mayor que el calcio soluble.

Se sabe que en la leche de vaca se tiene un contenido de calcio soluble de 33 mg Ca/100 mL y un contenido de calcio coloidal de 67 mg Ca/100 mL (**Fennema, 2000**), comparando los datos de la leche de vaca con lo que se obtuvo experimentalmente que fue de 32.397 y 74.356 mg Ca/100 ml en la fase soluble y coloidal, estos valores se asemejan bastante a lo reportado; ahora tomando una vez más de referencia los datos de la literatura de la leche vaca y compararlos con los datos experimentales de la leche de cabra y borrega efectivamente coinciden estos datos en tener mayor contenido de calcio coloidal que calcio soluble.

3.10.2 Concentración de fósforo soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg P/100 mL) usando quimosina

En el Cuadro 3.18 se muestra la concentración de fósforo soluble y coloidal en leches.

Cuadro 3.18 Contenido de fósforo soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (mg P/100 mL)

	Vaca	Cabra	Borrega
Fósforo coloidal	50.365 ^{β A}	76.624 ^{β B}	82.393 ^{β C}
Fósforo soluble	31.252 ^{α B}	21.190 ^{α A}	52.885 ^{α C}
Fósforo total	81.444	97.750	134.060

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-C no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.18 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo coloidal entre todas las leches y también hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fósforo soluble.

Como se observa en el Cuadro 3.18 hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de fósforo coloidal y soluble en las leches. En cuanto a la leche de vaca la concentración de fósforo coloidal es mayor que el contenido de fósforo soluble, estos resultados de la leche vaca experimentalmente coinciden con lo que menciona la literatura, que dice que la leche de vaca que tiene un contenido de fósforo soluble de 45 mg P/100 mL y de fósforo coloidal tiene 55 mg P/100 mL (**Fennema, 2000**) donde se obtuvieron valores muy semejantes a lo reportado en la literatura. Y en cuanto a la leche de cabra y oveja los datos también concuerdan con la literatura de tener mayor contenido de fósforo coloidal que soluble.

Dado que las micelas se estabilizan mediante la repulsión estérica generada por la κ -caseína, cualquier proceso que elimine la región c-terminal de la κ -caseína provoca una disminución de la estabilidad coloidal de las micelas. La quimosina rompe específicamente las moléculas de κ -caseína en una posición específica y libera la región c-terminal. Durante la primera etapa la reacción enzimática genera un aumento en el coeficiente de difusión de las micelas debido a la eliminación gradual de la región c-terminal. La viscosidad de la leche disminuye hasta que más del 85% de la κ -caseína se hidroliza. En este punto la estabilización estérica generada por los pocos “pelos” de la caseína restantes son insuficientes para mantener las micelas, y empieza agregarse y eventualmente a gelificar. Por lo tanto la gelificación, se produce sólo después de la liberación casi completa de la región c-terminal de la κ -caseína en solución. Una vez que la disminución de la repulsión estérica permite que las micelas se aproximen entre sí, las interacciones hidrofóbicas causan la unión entre las partículas **(Dagleish, 2012)** .

El cuajo es un peptidasa (quimosina) que actúa en primer lugar hidrolizando la κ -caseína. La ruptura se produce a nivel del enlace fenilalanina-metionina formándose paracaseína y glicomacropéptido.

La reacción secundaria consiste en la formación de un gel continuo resultante de la desestabilización de las micelas. El fosfato cálcico coloidal desempeña aquí un papel importante en la formación de los enlaces entre las micelas, condición indispensable para firmeza del gel. Dado que la caseína se comporta como un ácido, los grupos ácidos aumentan en la hidrólisis, lo que contribuye a la neutralización de las cargas negativas de las micelas. La formación del gel se produce por la atracción entre grupos similares: polares atraen a polares. Y por último la reacción terciaria del cuajo es la sinéresis del coagulo **(Amiot, 2000)**.

Por esta razón al precipitar las proteínas con quimosina de la leche de vaca, cabra y oveja su contenido de calcio y fósforo coloidal es mayor que en la fase acuosa porque no se modifica el fosfato cálcico coloidal de las micelas de caseína sólo afecta a la superficie de la micela de caseína y por lo tanto el calcio y el fósforo están ligados a las caseínas en las leches.

3.10.3 Cuantificación de proteína soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (g proteína/100 mL) usando quimosina

En el Cuadro 3.19 se muestra el contenido de proteína en la fase acuosa y en la fase coloidal en las leches.

Cuadro 3.19 Contenido de proteína soluble y coloidal en leche de vaca, cabra y borrega (g proteína/100 mL)

	Vaca	Cabra	Borrega
Proteína coloidal	2.961 ^{βA}	3.159 ^{βB}	4.095 ^{βC}
Proteína soluble	0.743 ^{αA}	0.773 ^{αB}	1.274 ^{αC}
Proteína total	3.594	3.850	5.038
Relación caseína/suero	4.000	4.000	3.200

Los valores corresponden al promedio de triplicados con un CV <5%.

Las medias seguidas por la misma letra α - β no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-C no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.19 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína coloidal entre todas las leches al igual hay diferencia estadísticamente significativa en el contenido de proteína soluble.

Por otra parte en el Cuadro 3.19 se aprecia que hay diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de proteína coloidal y soluble en todas las leches; y también se observa que el contenido de proteína coloidal es mayor que el contenido de proteína soluble. Se sabe que el contenido de caseínas representa el 80% y el 20% son proteínas de suero (**Gaspard, 2017**), comparando estos datos con lo que se obtuvo experimentalmente; en la leche de vaca y cabra el contenido de proteína coloidal representa el 82% y en la leche de borrega el 81%, mientras la proteína soluble en la leche de vaca y cabra representa el 20% y en la leche de borrega el 25% estos datos se asemejan con lo reportado.

En cuanto a la relación de caseína/suero en la leche de vaca, cabra y borrega es de 4.7, 3.5 y 3.1 respectivamente (**Claeys, 2016**), estos resultados vuelven a ser

semejantes con lo que se obtuvo experimentalmente como se observa en el Cuadro 3.19, por lo tanto al usar el método enzimático para precipitar las proteínas en las diferentes tipos de leches realmente se separan las caseínas del suero y el contenido de calcio y fósforo no se ven afectados y se comprueba que el calcio y el fósforo están ligados a sus proteínas.

3.11 Relación de Ca/P en las bebidas vegetales y en las leches de vaca, cabra y borrega

A continuación en el Cuadro 3.20 se muestra la proporción que existe entre el Ca/P coloidal.

Cuadro 3.20 Proporción de Ca/P en leche de vaca, cabra, borrega y en bebidas vegetales

	Almendras	Soya	Coco	Nuez	Arroz	Alpiste	Vaca	Cabra	Borrega
TCA al 10%	0.360 ^{αE}	0.124 ^{αA}	0.182 ^{αC}	0.667 ^{αG}	0.364 ^{αF}	0.189 ^{αD}	0.146 ^{αB}	-	-
Centrifugación	1.548 ^{βC}	1.559 ^{βD}	1.468 ^{βB}	6.783 ^{βG}	1.583 ^{βE}	0.264 ^{βA}	5.945 ^{δF}	-	-
Citrato de sodio al 10%	2.415 ^{γF}	1.961 ^{γE}	1.623 ^{γC}	6.999 ^{γG}	1.808 ^{γD}	0.317 ^{γA}	0.952 ^{βB}	-	-
Quimosina	-	-	-	-	-	-	1.516 ^{γC}	1.293 ^{B}	1.231 ^{A}

Las medias seguidas por la misma letra α - γ no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por columna (Tuckey, $p < 0.05$).

Las medias seguidas por la misma letra A-G no presentan diferencia estadísticamente significativa, comparación por renglón (Tuckey, $p < 0.05$).

En el Cuadro 3.20 se muestra que hay diferencia estadísticamente significativa entre todas las muestras usando los diferentes métodos de precipitación (pH, fuerza iónica y fuerza mecánica); también se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de leches usando quimosina.

Por otra parte, se observa que hay diferencia estadísticamente significativa en la relación de Ca/P entre los diferentes métodos usados para la precipitación de proteínas de todas las muestra. Según la literatura la relación Ca/P coloidal es de 1.5 (Walstra, 2001), tomando este valor de referencia en las bebidas vegetales de almendras, soya, coco y arroz por medio del método de centrifugación la relación

que de Ca/P es muy semejante a lo reportado en la literatura, sin embargo para la bebida vegetal de nuez ningún método de precipitación se acerca a este dato de 1.5 porque la cantidad de fósforo total que se cuantificó en esta bebida es muy baja y no se logró cuantificar gran concentración de fósforo coloidal por ningún método de precipitación y para la bebida vegetal de alpiste los valores experimentales de la relación de Ca/P es muy baja comparado con lo de literatura debido a que experimentalmente se reportó más contenido de fósforo que calcio y por lo tanto al hacer el cálculo esta relación resulta menor a 1.5.

Para la leche de vaca se observa que al aplicar los métodos de precipitación de acidificación, centrifugación y sales esta proporción de Ca/P no se asemeja a lo que menciona la literatura y lo mismo ocurrirá para las demás leches de cabra y borrega porque al igual que en la leche vaca, el calcio y el fósforo están ligados a sus caseínas, sin embargo al precipitar las proteínas con quimosina en las leches se observa que los datos experimentales coinciden con lo reportado. Por lo tanto para cuantificar mayor contenido de calcio y fósforo coloidal en las bebidas de almendras, soya, coco y arroz resultó usar el método de precipitación de proteínas por centrifugación y para las leches vaca, cabra y oveja es la precipitación con quimosina.

CONCLUSIONES

- La concentración de proteína fue mayor en las leches con respecto a las bebidas vegetales.
- Se logró cuantificar mayor contenido de calcio y fósforo total por la vía húmeda en comparación con la vía seca en todas las muestras.
- Al utilizar ácido tricloroacético 10% para precipitar las proteínas de las bebidas vegetales y las proteínas de la leche de vaca, las proteínas se desmineralizaron obteniendo concentraciones de calcio y fósforo soluble elevadas.
- Al realizar el método de centrifugación para precipitar las proteínas de las bebidas vegetales, se obtuvo mayor concentración de calcio y fósforo “ligado a proteína” ya que la relación de Ca/P en la mayoría de las bebidas vegetales se asemeja a la relación de Ca/P de las leches.
- En cuanto al método de precipitación con citrato de sodio en las bebidas vegetales, también se cuantificó mayor concentración de calcio y fósforo “ligado a proteína”, pero la relación de Ca/P de las bebidas vegetales no se asemeja a la relación de Ca/P de las leches.
- Para la bebida vegetal de nuez tanto el método de precipitación de fuerza mecánica (precipitación) como fuerza iónica (con citrato de sodio), la relación de Ca/P en ambos métodos es muy alta en comparación con la relación de Ca/P de las leches.
- Para la bebida vegetal de alpiste la relación de Ca/P usando el método de precipitación como con citrato de sodio, la proporción de Ca/P es muy baja en comparación con la relación de Ca/P de las leches.
- Al usar la quimosina para precipitar las proteínas de las leches de origen animal se logró obtener mayor contenido de calcio y fósforo coloidal que soluble, sin modificar el fosfato cálcico coloidal.
- Se obtuvo mayor concentración de calcio y fósforo total en la leche de vaca, cabra y borrega en comparación con todas las bebidas vegetales. En cuanto al calcio y fósforo soluble y coloidal se comprobó que el calcio y el fósforo no

están ligados a sus proteínas en las bebidas vegetales como el fosfato cálcico coloidal en las leches que está ligado a las caseínas.

ANEXOS

Recolección de las muestras

Referencia: **(AOAC925.20) 1990**

Procedimiento: Para la recolección de las muestras de leches de origen animal (vaca, cabra y borrega), se obtuvieron del rancho Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal CEIPSA, Topilejo Tlalpan, Ciudad de México. Para las bebidas vegetales (almendras, soya, coco, arroz, nuez y alpiste) se compraron en una tienda de autoservicio.

Determinación de humedad

Referencia: **(NOM-116-SSA1-1994, 1995)**

Equipo: Balanza analítica, Estufa

Procedimiento: Se pusieron a peso constante pesafiltros en la estufa a 60 °C durante 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo se sacaron de la estufa y se colocaron en un desecador y se esperó a que los pesafiltros se enfriaran hasta alcanzar la temperatura ambiente para posteriormente pesarlos en la balanza analítica y anotar su peso constante. Con una pipeta volumétrica se midieron 10 mL de las muestras de leches y de las bebidas vegetales y se colocaron en los pesafiltros, que ya estaban a peso constante, enseguida se colocaron los pesafiltros en la estufa a una temperatura de 60°C hasta que las muestras estuvieran secas. Una vez secas las muestras se sacaron los pesafiltros de la estufa y se colocaron en el desecador hasta que alcanzaran de nuevo la temperatura ambiente, y se volvieron a pesar en la balanza analítica. Todas las determinaciones de humedad de cada muestra se hicieron por triplicado.

Calculo:
$$\%H = \frac{M2 - M3}{M2 - M1}$$

M1: Peso del pesafiltros (g)

M2: Peso del pesafiltros más la muestra húmeda (g)

M3; Peso del pesafiltros más la muestra seca (g)

Determinación de sólidos totales

Referencia: (Trejo, 2015)

Equipo: Refractómetro

Procedimiento: Se calibró primero el refractómetro colocando una gota de agua destilada con un agitador de vidrio sobre las placas del refractómetro, una vez ya calibrado se leyeron todas las muestras en el refractómetro colocando una gota de cada muestra sobre el refractómetro y posteriormente se registraron las lecturas, todas las lecturas de cada muestra se hicieron por triplicado

Determinación de proteína cruda

Referencia: (AOAC920.15) 1990

Reactivos: Sulfato de cobre, sulfato de potasio, ácido sulfúrico concentrado, NaOH 36%, ácido bórico y ácido clorhídrico 0.0993 M.

Procedimiento:

- ☉ Digestión.- Para cuantificar el contenido de proteína total de las leches de origen de animal y de las bebidas vegetales se midió con una pipeta volumétrica 10 mL de cada muestra, se introdujo en un tubo de Kjeldahl y se agregó 0.5 g de sulfato de cobre y 1.5 g de sulfato de potasio que fueron pesados en balanza analítica y por último se midió con una pipeta 15 ml de ácido sulfúrico concentrado y se agregó al tubo Kjeldahl. Para cuantificar la proteína coloidal y soluble de las leches origen animal así como de las bebidas vegetales; de la parte soluble de todas las muestras se midió con una pipeta volumétrica 5 ml y de la parte coloidal se pesó en una balanza analítica 0.2 g de las leches y 0.1 g de las bebidas vegetales y se agregó la misma cantidad de reactivos que ya se describieron a los tubos Kjeldahl. Se colocaron los tubos Kjeldahl en la parrilla y se prendió la campana, se calentaron los tubos hasta total destrucción de la materia orgánica, es decir hasta observar un líquido con una coloración azul-verdosa.
- ☉ Destilación.- Se encendió el destilador Kjeldahl y se esperó un momento hasta que el equipo empezará a destilar para poder usarlo, al tubo de Kjeldahl

ya frío se le agrego tantita agua destilada para disolver la muestra; una vez que el equipo ya estaba listo se empezó a destilar la muestra adicionándole NaOH al 36% y recibiendo el destilado en un vaso de precipitado de 250 ml con 50 ml de ácido bórico hasta alcanzar un volumen de 100 mL del destilado.

- **Titulación.**- Cuando ya se obtuvo la muestra destilada se tituló con HCl hasta obtener un color rosa fuerte. Todas las determinaciones de proteínas se hicieron por triplicado.

Cálculo: %proteína= $\frac{V \cdot M \cdot 14 \cdot F \cdot 100}{m \cdot 1000}$

V= ml de HCl gastados

M= molaridad del HCl

m= g muestra

F= factor de conversión 6.38 para leche

2.6 Digestión en húmedo y seco

Referencia: Para la digestión húmeda **(AOAC999.10) 1990**

Equipo: Parrilla, balanza analítica

Reactivos: Ácido nítrico concentrado

Procedimiento: Para hacer la digestión total de las muestras se midieron 5 mL de estas con una pipeta volumétrica; de la parte soluble de todas las muestras de igual manera se midieron 5 mL y para la parte coloidal se pesaron en balanza analítica 0.1 g de las bebidas vegetales y 0.2 g de las leches; posteriormente se colocaron en tubos de ensayo y se les adicionó 7 mL de ácido nítrico concentrado. Los tubos de ensayo se colocaron en ollas peltre y se calentaron en una parrilla hasta observar un color traslucido en los tubos de ensayo. Una vez que se obtuvo ese color en los tubos de ensayo, se dejaron enfriar y enseguida se filtraron y se aforaron en matraces de 50 ml, todas las digestiones húmedas se hicieron por triplicado.

Referencia: Para la digestión seca **(AOAC999.11) 1990**

Equipo: Parrilla, mufla

Reactivos: HCl 25%

Procedimiento: Se pusieron a peso constante los crisoles en la estufa a 60°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se sacaron los crisoles de la estufa y se colocaron en el desecador y se esperó hasta que los crisoles alcanzaron la temperatura ambiente para pesarlos en la balanza analítica y anotar el peso contante de cada crisol. Para hacer la digestión seca total de las muestras se midieron 5 mL de las muestras con una pipeta volumétrica y se agregaron en los crisoles, estos se colocaron en una parrilla para obtener la calcinación de las muestras. Una vez que las muestras estuvieron calcinadas, los crisoles se introdujeron en una mufla a una temperatura de 500°C por 24 horas. Pasado este tiempo, se sacaron los crisoles de la mufla, se dejaron enfriar en un desecador y se volvieron a pesar; una vez fríos los crisoles se les agregó 5 mL de HCl al 25% con una pipeta para disolver las cenizas, enseguida se filtraron los crisoles y se aforaron en matraces de 50 mL, todas las digestiones secas se hicieron por triplicado.

Calculo: $\%cenizas = \frac{P1-P2}{M} \times 100$

P1=Masa del crisol con las cenizas (g)

P2=Masa del crisol vacío (g)

M= Masa de la muestra (g)

2.7Cuantificación de calcio

Referencia: **(AOAC985.35) 1990**

Equipo: Equipo de Absorción Atómica

Reactivos: Estándar de calcio

Procedimiento: Se preparó una curva patrón de calcio, a partir del estándar de calcio, entre un rango de 1-5 ppm, posteriormente se prendió el equipo y se ajustaron las condiciones para leer el analito de calcio a 422.7 nm, enseguida se

calibró el equipo con la curva patrón de calcio; y una vez que estuviera calibrado el equipo se leyeron todas las muestras.

Calculo: $x = \frac{y-b}{m} = \frac{mg}{1000ml} \left(\frac{D}{D}\right) \left(\frac{m}{M}\right) * 100$

X=Concentración de calcio en la muestra (mg Ca/100 mL)

Y= Absorbancia de la muestra

b=ordenada de la ecuación

m=pendiente de la ecuación

D= factor de dilución, en caso de que haya (mL/mL)

m= volumen de aforo de la solución madre (mL)

M= cantidad de muestra que se agregó a la solución madre (mL)

2.8 Cuantificación de fósforo

Referencia: (AOAC965.17) 1990

Equipo: Espectrofotómetro

Reactivos: Solución de molibdo-vanadato, solución estándar de fósforo

Procedimiento: Se preparó una curva patrón de fósforo, a partir de la solución estándar de fósforo, entre un rango 0-0.2 mg/ml, a cada punto de la curva se le adiciono con una micropipeta 10 mL de la solución de molibdo-vanadato, después de aforaron los matraces a 50 mL, se dejaron reposar 10 minutos y se leyó la curva patrón en el espectrofotómetro a 400 nm. Para leer las muestras se tomó con una micropipeta 0.5 mL de cada una de ellas, se les agregaron 10 mL de la solución de molibdo-vanadato y se aforaron a 50 ml, de igual manera que la curva, se dejaron reposar los matraces 10 minutos y se leyeron a 400 nm.

Calculo: $x = \frac{y-b}{m} = \frac{mg}{ml} \left(\frac{m}{M}\right) * 100$

X=Concentración de calcio en la muestra (mg Ca/100 mL)

Y= Absorbancia de la muestra

b=ordenada de la ecuación

m=pendiente de la ecuación

m= volumen de aforo de la solución madre (mL)

M= cantidad de muestra que se agregó a la solución madre (mL)

2.9 Precipitación de proteínas

Referencia: (Zimmerman, 2010)

Equipo: Centrifuga

Reactivos: TCA 10%, Citrato de sodio 10%

Procedimiento: Se midió con una pipeta volumétrica 5 mL de cada una de las muestras (leches y bebidas vegetales), y se colocaron en tubos falcon, y se les adicionó 5 ml de TCA al 10%. Después los tubos falcon se colocaron en la centrifuga a 8500 rpm durante 15 minutos. Una vez pasado este tiempo, se sacaron los tubos falcon de la centrifuga y se observaron dos fases una insoluble y otra soluble, posteriormente se filtraron los tubos falcon para separar las dos fases. Para precipitar las muestras con citrato de sodio al 10% se siguió el mismo procedimiento ya descrito pero adicionando 5 mL de citrato de sodio al 10% en los tubos falcon junto con las muestras.

Para solo centrifugar las muestras se midieron 10 mL con una pipeta volumétrica de cada muestra y se colocaron en los tubos falcon que posteriormente fueron centrifugados a 8500 rpm durante 15 minutos y de la misma manera fueron filtrados para obtener una fase soluble y una insoluble.

BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo, D. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista La Sallista de Investigación*, 38-42.
- Albarracin, O. (2012). *Elaboración de manjar con tres niveles de leche de soya (Licencitura)*. Los Ríos: Universidad Técnica Estatal de Quevedo Facultad de ciencias pecuarias.
- Amiot, J. (2000). Ciencia y tecnología de la leche. Principios y Aplicaciones . En R. Riel, *Capítulo I Composición y estructura fisico-química de la leche* (págs. 1-55). Zaragoza: Acribia.
- Anema, S. (2009). Role of colloidal calcium phosphate in the acid gelation properties of heated skim milk. *Food Chemistry*, 161-167.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. Virginia: Association of Official Analytical Chemists.
- Aoki, T. (2006). Caseins are cross-linked through their ester phosphate groups by colloidal calcium phosphate. *Elsevier*, 238-243.
- Badui, S. (2012). Química de los alimentos. En B. Salvador, *Leche* (págs. 611-638). México: Pearson.
- Bernat, N. (2014). Vegetable milks and their fermented derivative products. *International Journal of Food Studies*, 93-124.
- Briviba, K. (2016). Ultra high pressure homogenization of almond milk: Physico-chemical and physiological effects. *Food Chemistry*, 82-89.
- Chacón, A. (2005). Aspectos nutricionales de la leche de cabra y sus variaciones en el proceoso agroindustrial. *Agronomía mesoamericana*, 232-259.
- Claeys, W. (2016). Milk: sources and composition. *Elsevier Ltd. All right reserveds*, 741-747.

- Closa, S. (2003). Contenido de nutrientes minerales en leches de vaca y derivados de Argentina. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 320-324.
- CODEX 206, S. (1999). *Codex Alimentarius*. Obtenido de Normas internacionales de los alimentos: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/es/> [Ultimo acceso 17-junio-2017]
- CODEX 240, S. (2003). *Codex Alimentarius*. Obtenido de Normas Internacionales de los alimentos: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/fr/?> [Ultimo acceso 7-junio-2017]
- Codina-Torella, B. (2017). Potential application of ultra-high pressure homogenization in the physico-chemical stabilization of tiger nuts' milk beverage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42-51.
- Dalgleish, D. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 449-467.
- Dyner, L. (2015). Contenido de nutrientes de bebidas artesanales a base de almendras. *Número Internacional Normalizado de Publicaciones Seriadas* , 12-17.
- FAO. (Enero de 2015). Obtenido de http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.WTCop5I1_IV [Ultimo acceso 30-junio-2017]
- Farré, R. (2015). La leche y los productos lácteos: fuentes dietéticas de calcio. *Nutrición Hospitalaria*, 1-9.
- Fennema, O. (2000). Química de los alimentos. En O. Fenemma, *Características de la leche* (págs. 889-930). España: Acribia.
- FEPALE. (15 de Noviembre de 2011). *Leche y derivados. Calidad nutricional superior para el ser humano*. Obtenido de <http://infolactea.com/biblioteca/la->

leche-y-derivados-calidad-nutricional-superior-para-el-ser-humano/ [Ultimo acceso 23-junio-2017]

Ferrandini, E. (2006). Modelos estructurales de la micela de caseína. *Revistas Científicas de la Universidad de Murcia*, 5-18.

Gaspard, J. (2017). Isolation and characterisation of k-casein/whey protein particles from heated milk protein concentrate and role of k-casein in whey protein aggregation. *International Dairy Journal*, 98-108.

Gaspoz, M. (2014). *Aprovecho de la leche, la crema de leche y la manteca (Licenciatura)*. Estado de México: Instituto Superior.

Gaucheron, F. (2011). MILK, SALTS. *Science et Technologie*, 908-96.

Giraud, M. (2014). Biodisponibilidad del calcio en los productos lácteos. *Revistas científicas de la UNLA*, 53-62.

Hernandez, B. (2016). *Desarrollo de una leche vegetal a base de coco adicionada con proteína aislada de soya (Licenciatura)*. ESTADO DE MÉXICO: UNAM FES Cuatitlán.

Icier, F. (2015). Changes on some quality characteristics of fermented soy milk. *LWT - Food Science and Technology*, 57-64.

Jeske, S. (2017). Past, present and future: The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials. *Food Research International*, 1-10.

Koutina, G. (2015). Influence of colloidal calcium phosphate level on the microstructure and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. *Food Science and Technology*, 654-659.

LACTODATA. (30 de MAYO de 2017). *Información sobre el sector lechero*. Obtenido de <http://www.lactodata.info/boletin/produccion-de-leche-de-vaca/> [Ultimo acceso 3-junio-2017]

- Makinen, O. (2016). Foods for Special Dietary Needs: Non-dairy Plant-based Milk Substitutes and Fermented Dairy-type Products. *Food Science and Nutrition*, 339-349.
- Martínez, G. (Mayo de 2002). *Comparación de procedimientos de oxidación de materia orgánica para la determinación de fósforo en material vegetal*. Obtenido de UNNE: www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/05-Agrarias/A-032.pdf [Ultimo acceso 1-julio-2017]
- Martinez, J. (2016). *Ainia Centro Tecnológico*. Obtenido de <http://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/bebidas-vegetales-como-se-adaptan-a-las-nuevas-tendencias-de-mercado/> [Ultimo acceso 1-julio-2017]
- Matthews, V. (2011). Soy milk and dairy consumption is independently associated with ultrasound attenuation of the heel bone among postmenopausal women:the Adventist Health Study–2. *Elsevier*, 766-775.
- Medrano, A. (2013). *Elaboración de una bebida a base de alpiste (Phalaris canariensis) (Licenciatura)*. Cuscatlan: Universidad Dr. José Matías Delgado Facultad de Agricultura en investigación agrícola.
- Mendoza, B. (2014). Evaluación de dos métodos de digestión ácida en el análisis de tejido foliar de caña (Saccharum officinarum L.). *Ciencia y Tecnología*, 9-20.
- Miñana, V. (2015). Errores dietéticos en el lactante: las bebidas vegetales (parte 2)*. *Acta Pediátrica Española*, 229.235.
- Naziri, E. (2017). Influence of thermal treatment on the stability of vegetable “milk” obtained by ultrafiltration of aqueous oil body extracts from various sources. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 1-13.
- Nollet, L. (1996). *Handbook of food analysis*. New York: Dekker.
- NOM-116-SSA1-1994. (29 de Junio de 1995). *Dirección General de Normas*. Obtenido de Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por

tratamiento

térmico.:

<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/116ssa14.html>

NOM-243-SSA1-2010. (27 de Septiembre de 2010). *COFEPRIS*. Obtenido de Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba: <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/Normas/243ssa1.pdf>

Ochoa, A. (2009). Características físico-químicas de la leche de ovejas. *Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias*, 196-200.

Park, Y. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Elsevier* , 88-113.

Pereira, P. (2013). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 619-627.

Quintana, A. (2011). *Caracterización fisicoquímica y nutricional de leches fermentadas de cabras (Licenciatura)*. Granada: Universidad Granada.

Raghavendra, S. (2010). Effect of different treatments for the destabilization of coconut milk emulsion. *Journal of Food Engineering*, 341-347.

Sánchez, D. (2014). Comparaciones metodológicas para la determinación total de metales esenciales en hojas de Moringa Oleífera por técnicas espectrofotométricas. *Red de Investigación Estudiantil de la Universidad del Zulia*, 98-108.

Sanz, M. (2003). Calidad de la leche de los pequeños rumiantes. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, 155-166.

Sethi, S. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 3408-3423.

SIAP. (SEPTIEMBRE de 2016). *PANORAMA-SIAP*. Obtenido de infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Septiembre2016.pdf
[Ultimo acceso 10-junio-2017]

- Singhal, S. (2017). A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 799–805.
- Sola-Larrañaga, C. (2009). Chemometric analysis of minerals and trace elements in raw cow milk from the community of Navarra, Spain. *Food Chemistry*, 189-196.
- Suárez, V. (2000). Lechería ovina y raza pampinta. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Anguil*, 194-200.
- Tejada. (2011). Bioseparaciones. En *Precipitación* (págs. 493-545). México: Pearson.
- Tejada, A. (2011). Bioseparaciones. En *Precipitación* (págs. 493-545). México: Person.
- Tejada, A. (2011). Bioseparaciones. En *Centrifugación* (págs. 111-163). México: Pearson.
- Trejo, J. (2015). *Desarrollo y comporación de los principales componentes nutricionales de leches vegetales (Licenciatura)*. Saltillo: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- USDA. (2015). *United States Department of Agriculture* . Obtenido de USDA Food Composition Databases: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> [Ultimo acceso 11-junio-2017]
- Valencia, F. (2011). El calcio en el desarrollo de alimentos funcionales. *Revista La Sallista de Investigación* , 104-116.
- Valles, S. (2012). *Obtención de "leche" de Sachi Inchi (Plukenetia volubilis Linneo) (Licenciatura)*. Perú.
- Valverde, A. (23 de noviembre de 2016). Crece mercado de las leches vegetales; no sustituyen a la leche de vaca , alertan. *Excelsior*, págs. 15-17.
- Villamil, V. (21 de marzo de 2016). Almendras, arroz, coco y soya 'arrinconan' a la leche de vaca. *El Financiero* , pág. 8.

- Villegas, G. (2015). Use of sodium citrate in asadero cheese-making. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 35-47.
- Walstra, P. (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. En P. Walstra, *Partículas coloidales de la leche* (págs 109-148). Zaragoza: Acribia.
- Walstra, P. (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. En P. Walstra, *Composición, estructura y propiedades* (págs. 1-27). España: Acribia S. A.
- Zimmerman, K. (2010). Estructura y funcionalidad de proteínas lácteas: Efecto de modificaciones inducidas por métodos físicos, químicos y enzimáticos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 24-37.