

Review. Aplicaciones del lactosuero y sus derivados proteínicos

Review. Applications of whey and its proteins derivatives

Ángela Patricia Aponte Colmenares¹, Gloria Astrid Prieto Suárez², Yeimy Tatiana Castellanos Báez³, Carlos de Jesús Muvdi Nova⁴ y Iván Yurievich Sakharov⁵

Resumen

El lactosuero se descubrió hace unos 3000 años como subproducto de la industria láctea (quesera principalmente) y durante décadas se consideró como un líquido de desecho, utilizado como alimento para animales o simplemente vertido como residuo a ríos. Sin embargo, hoy en día el aprovechamiento del lactosuero permite reconocerlo como un ingrediente nutricional de alto valor agregado aplicado a muchos productos alimenticios. Dentro de su composición encontramos: lactosa, grasa, proteínas de importante valor biológico, minerales y vitaminas; las proteínas del lactosuero se constituyen como una fuente económica con múltiples propiedades tecno-funcionales, nutracéuticas y nutricionales, útiles para añadir a una amplia gama de alimentos multiplicando posibilidades de desarrollo para la misma industria láctea. Teniendo en cuenta lo expuesto, a lo largo de esta revisión se describirán aspectos relevantes sobre este subproducto lácteo haciendo énfasis en las proteínas que lo conforman y en sus derivados (concentrados e hidrolizados), así como las propiedades moleculares, fisicoquímicas y tecno-funcionales, aspectos que lo posicionan como una materia prima llamativa a nivel industrial además de las bondades que para la salud del consumidor imparte.

Palabras clave: concentrados proteínicos del lactosuero, derivados proteicos, hidrolizados de proteínas del lactosuero, propiedades funcionales.

Abstract

Whey was discovered about 3000 years ago as a by-product of the dairy industry (mainly cheese) and for decades it was considered a liquid waste, used as animal feed or simply dumped into rivers. However, today the use of whey allows it to be recognized as a nutritional ingredient with high added value applied to many food products. Within its composition we find, lactose, fat, proteins of important biological value, minerals and vitamins; whey proteins constitute an economic source with multiple techno-functional, nutraceutical and nutritional properties, useful to add to a wide range of foods, multiplying development possibilities for the dairy industry itself. Taking into account the above, throughout this review relevant aspects of this dairy by-product will be described, emphasizing the proteins that make it up and their derivatives (concentrated and hydrolyzed), as well as the molecular, physicochemical and functional properties, aspects that they position it as a striking raw material at an industrial level in addition to the benefits it imparts to the health of the consumer.

Keywords: whey protein concentrates, protein derivatives, whey protein hydrolysates, functional properties.

Recepción: 9-sep-2022

Aceptación: 13-dic-2022

¹Química, Grupo de Investigación en Química y Tecnología de Alimentos-GIQT, UPTC, Escuela de Ciencias Químicas. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo electrónico: angela.aponte01@uptc.edu.co

²PhD. Grupo de Investigación en Química y Tecnología de Alimentos, Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja.

³Química. Grupo de Investigación en Química y Tecnología de Alimentos, Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja.

⁴Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Escuela de Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.

⁵Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

1 Introducción

La leche y los productos lácteos son parte fundamental de la alimentación humana ya que son ampliamente reconocidos como fuentes de calcio, vitamina D y proteínas por lo que se recomiendan de forma esencial en una dieta saludable. Adicionalmente, se ha logrado un progreso considerable en la comprensión de las funciones biológicas de los componentes de la leche y sus beneficios para la salud, encontrando aspectos favorables o neutrales entre el consumo de productos lácteos y el tratamiento de diversas enfermedades (hipertensión, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2). Los productos lácteos representan el 16 % de la ingesta promedio diaria de proteínas por los adultos en los EE. UU. (13g/día), así mismo en la Unión Europea representa el 38 %, mientras que, en Sudamérica, Centro América y el Caribe sólo un 5 %. En la actualidad el consumo de lácteos es de 1,7 porciones/día y las pautas dietéticas de consumo sugieren un suministro de 3 porciones/día. Si se cumpliera dicha recomendación la ingesta diaria de productos lácteos incrementaría a un 22-31 % [1].

De otro lado, el panorama para el subproducto de la industria láctea, lactosuero generado durante la fabricación de queso, evolutivamente ha ido cambiando favorablemente. En la antigüedad fue considerado como un producto de desecho con poco valor nutritivo [2], y en la edad media el lactosuero paso a ser estimado no solo como un medicamento para curar dolencias, que iban desde molestias gastrointestinales hasta problemas de articulaciones y ligamentos; sino también como un afrodisiaco, un bálsamo para la piel y como adobo o conservante para la carne y otros alimentos [3]. Actualmente, como se refleja más adelante el lactosuero tiene un sin número de bondades que amplían las aplicaciones en la industria alimentaria.

Existe un interés particular de investigación por éste sustrato debido a que el volumen generado de lactosuero en la industria láctea es bastante alto; por cada 10L de leche procesada se producen 9L de lactosuero, de los cuales se desecha gran parte a los sistemas de alcantarillado público generando altos niveles de contaminación en afluentes hídricos y suelos, ya que por su contenido alto de lactosa

presenta una alta demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO > 35,000ppm), alta Demanda Química de Oxígeno (DQO, > 60,000ppm) y presencia de sales, entre otros [4]-[5]. Sin embargo, se ha reportado que sólo el 50 % de lactosuero producido es utilizado en la formulación de productos o en la alimentación de ganado.

En la actualidad, la industria alimentaria ha venido evaluando el procesamiento de subproductos, con el fin de otorgarles un valor agregado [6]. Teniendo en cuenta que el 55 % de los nutrientes de la leche son retenidos en el lactosuero, se han planteado diversas alternativas de aprovechamiento como la hidrólisis química, hidrólisis enzimática, procesos de fermentación y tecnologías verdes (ultrasonido y tratamientos térmicos) que han sido exitosas en la producción de péptidos a partir de lactosuero considerados compuestos de alto valor agregado con base en sus propiedades funcionales útiles para la misma industria de alimentos [6]. Durante las últimas décadas ha surgido un mayor interés en los derivados del lactosuero, debido a su papel nutricional, tecnofuncional y propiedades bioactivas, resultando ser promotor para diferentes aplicaciones en la salud humana.

La industria láctea en Colombia ha venido incrementando su producción de manera notable, y en especial la industria quesera debido a que es el derivado con mayor retorno económico para el sector. En el 2017 se produjeron cerca de 97,000 ton de queso con una generación aproximada de lactosuero de 869,000 L. En nuestro país este subproducto es poco procesado, por tanto, está destinado a aplicaciones de muy bajo valor y en su gran mayoría a ser vertido en ríos causando serios problemas ambientales. Más aún, el lactosuero en polvo se importa de EE.UU. y la Unión Europea, en respuesta a un déficit en las estrategias de aprovechamiento por falta de tecnología y/o dependencia tecnológica extranjera.

2 Composición y Propiedades del Lactosuero

La composición del lactosuero depende de varios factores, la fuente de la leche, etapa de lactancia del mamífero, tipo de alimentación del animal, método empleado en la elaboración del queso y período de almacenamiento. La leche entera de vaca es la más

comúnmente empleada en los países occidentales. Sin embargo, en algunas regiones del mundo como Portugal, Reino Unido, Grecia y Dinamarca [7], el lactosuero proviene del tratamiento de leches como la de cabra, oveja, búfala y camella. Como propiedades físicas del lactosuero se puede mencionar que suele ser de color amarillo/verde, o incluso de un tinte azulado, dichas variaciones en color se deben a la calidad y el tipo de leche utilizada [7].

A partir del procesamiento de lactosuero se pueden fabricar diferentes productos lácteos y demás derivados como ácido láctico [8], bebidas fermentadas, quesillo, requesón, producción de etanol, biomasa, fórmulas infantiles [4], mermeladas, salsas, productos de panadería, productos cárnicos, dietéticos y nutraceuticos [9], empaques biodegradables, gomas, sustancias inhibidoras de crecimiento, concentrados proteicos [10], bebidas para deportistas, cremas artificiales de café, sopas deshidratadas [11], entre otros.

Sin embargo, el lactosuero no solo es empleado como materia prima en la industria de alimentos, sino que también es útil en la industria farmacéutica, cosmética e incluso agrícola como se ilustra en la figura 1.

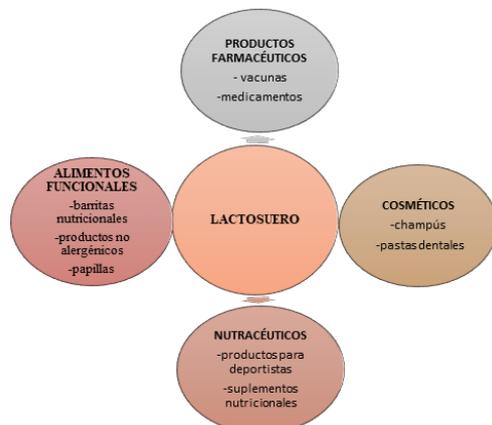


Figura 1. Aplicaciones industriales del lactosuero con algunos ejemplos (Adaptado de [9]).

La industria láctea produce varios tipos de lactosuero como subproductos de la elaboración de queso o caseína, y se clasifica de acuerdo con el método de obtención de quesos así [12]:

- Lactosuero dulce ($\text{pH} > 5.8$) que puede obtenerse de la fabricación de quesos naturales elaborados con enzimas proteolíticas (por ejemplo, el queso Cheddar y queso Edam), o de la producción de caseinatos (usando cuajo), también conocido como suero de caseína de cuajo.
- Lactosuero medio ácido (pH entre 5.0 y 5.8), procedente de la fabricación de algunos quesos ácidos frescos (por ejemplo, queso Danbo o queso blanco).
- Lactosuero ácido ($\text{pH} < 5.0$), obtenido mediante la fabricación de quesos ácidos frescos (Ejemplo: queso Quarg y requesón).
- Lactosuero de caseína ácida, proveniente de la producción de caseína ácida por acidificación de la leche desnatada [13].

Aunque existen diferentes tipos de lactosuero, de forma general en la Tabla 1, se muestra su composición de macro y micronutrientes.

Tabla 1. Composición química del lactosuero

Composición química del lactosuero	
Agua	93-94 %
Sólidos totales (lactosa, proteína/péptidos, minerales, vitaminas, grasa, entre otros)	6-7 %
Lactosa	4.5 %
Proteína soluble	0.8 %
Lípidos	0.5 %
Vitaminas del complejo B, tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido nicotínico (B3), piridoxina (B6), Biotina (B8), ácido fólico (B9).	
Minerales: sodio, potasio, calcio, magnesio. Fosforo y en bajas cantidades zinc.	

Fuente: [14]

Los minerales se transfieren al lactosuero o a los permeados de lactosuero después de la coagulación de la proteína en la producción de la cuajada [15].

Desde el punto de vista nutricional, el lactosuero es un alimento que resulta ser más valioso que otras proteínas de origen animal (carne, huevo, caseína) o vegetal (proteínas de soya) [16]. La estimación del lactosuero ha permitido su utilización como materia prima para elaborar alimentos y bebidas (productos lácteos, bebidas energizantes, carnes procesadas, alternativas de comidas líquidas, aderezos, pastas para

untar, espaguetis, dulces, fórmulas infantiles, productos emulsionados, sopas y cremas, entre otros.) [17]. Lo anterior teniendo en cuenta que es una fuente con alta capacidad para cumplir con los requerimientos de aminoácidos esenciales en especial la leucina (ver Tabla 2) [18].

Tabla 2. Proporción de aminoácidos esenciales en el lactosuero.

Aminoácidos esenciales(AE)	mg/g de proteína	
	Lactosuero	Requerimientos diarios de AE FAO/WHO/UNU
Metionina	35	19
Valina	54	35
Leucina	135	66
Isoleucina	54	28
Fenilalanina	34	38
Lisina	109	58
Histidina	20	5
Triptófano	15	11
Treonina	53	34

Fuente: [17-19].

El aminoácido esencial leucina representa en las PL del 9-12 %, mientras que las proteínas de animales (huevo, carnes y pescados) contienen del 8-9 % y las proteínas vegetales del 6-8 %. Lo anterior permite establecer que el umbral de leucina en las PL es menor y su consumo será más bajo desencadenando además una mayor respuesta anabólica posterior a la comida en el músculo esquelético con menor cantidad de proteína total y de calorías totales [1]. Estas son consideraciones importantes para el control de peso, antienvjecimiento y para la recuperación de los atletas luego de un fuerte ejercicio.

No obstante, las proteínas del lactosuero (PL) presentan inconvenientes de alergenicidad, principalmente en lactantes con una prevalencia del 3-5 % [20]. Una forma de reducir en gran medida su alergenicidad es mediante diferentes tratamientos de hidrólisis y separación por membranas (Ej., hidrólisis-ultrafiltración), dando lugar a proteínas con bajo peso molecular y péptidos cuya masa molecular promedio oscila entre 3-8kDa. Está mezcla es reconocida como péptidos bioactivos (por sus siglas en inglés, Bioactives Peptides - BAPs). Ellos pueden tener un impacto positivo sobre funciones o condiciones corporales relacionadas con la salud humana. Lo anterior ha

sido demostrado mediante pruebas *in vivo* (aunque limitadas) e *in vitro* a cada uno de los péptidos identificados por su peso molecular y la respectiva secuenciación en BAPs de leche de camella (CM-BAPs).

De forma general, dentro de las propiedades saludables de BAPs, se destacan su actividad antioxidante, antidiabética, anti-obesidad, anti-hipertensión, antibacteriana, anticancerígena, antiinflamatoria, anti-hemolítica y anti-hiperpigmentación [21]. Además, estos compuestos son excelentes productos nutricionales debido al alto valor biológico de las proteínas. Los péptidos bioactivos derivados de alimentos (FD-BAP, por sus siglas en inglés, Food-derived bioactive peptides), constituyen un área dinámica de investigación, pues cada vez hay más pruebas de su eficacia contra los cambios relacionados con el estilo de vida y las enfermedades. Los péptidos aislados pueden usarse en la inhibición de bacterias y virus.

2.1 Proteínas de lactosuero (PL)

Las proteínas del suero son un conjunto heterogéneo de proteínas que representa aproximadamente el 20 % del total de la proteína láctea. Se diferencian de la caseína en que son insensibles a la coagulación ácida y a la acción de la quimosina [22]. Las principales proteínas del lactosuero se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Principales proteínas presentes en el lactosuero

Proteína	Contenido (%p/v)	Peso molecular (kDa)	Punto isoeléctrico (pI)
β -lactoglobulina	48	18.4-36.9	5.4-5.5
α -lactoalbumina	19	14.2	4.2-4.5
Proteosomas-peptonas	20	4-80	5.1-6.0
Albumina sérica	6	69	4.8
Inmunoglobulina	8	160	5.5-8.3
Lactoferrina	0.01	80	8.0-8.5

Fuente: [14]

La β -lactoglobulina (β -Lg): Está conformada por 162 residuos de aminoácidos, es la más abundante de todas, representando casi un 50 % del total de PL. Esta proteína existe como un dímero de 36.7 kDa en soluciones cuyo pH se encuentra por encima de su punto isoeléctrico (PI) hasta pH 7.5. En el rango $3.5 < \text{pH} < 7.5$, el dímero se disocia en un

monómero expandido, y a pH entre 3.5 y 5.2 el dímero se polimeriza en un octámero de 147 kDa [23]. Esta proteína cuenta con 5 residuos de cisteína sumamente importantes, 4 de los cuales forman dos puentes disulfuro intramoleculares quedando un grupo sulfhidrilo libre en el residuo 119 o 121 (ver Fig. 2). Este contenido de cisteína y cistina facilita la polimerización de la proteína por formación de puentes disulfuro intermoleculares durante el procesamiento a alta temperatura y almacenamiento. Por encima de los 65°C comienza a desnaturalizarse sufriendo extensivos cambios conformacionales que exponen a los grupos sulfhidrilo (SH) libres, altamente reactivos [24].

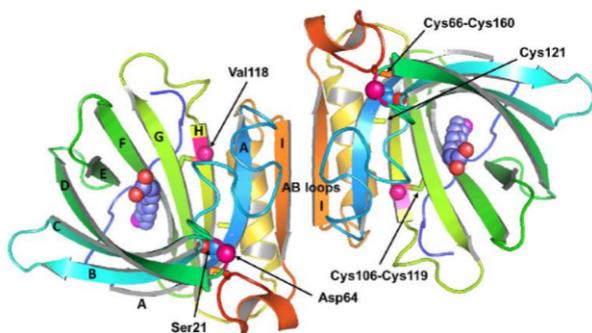


Figura 2. Diagrama de la estructura dimérica de β -Lg mirando hacia abajo en el doble eje [25].

La α -lactoalbúmina (α -La): Es la segunda proteína más abundante en el lactosuero [26], representa aproximadamente el 20% de sus proteínas y está conformada por 123 residuos de aminoácidos, posee un peso molecular aproximado de 14 kDa. Todos sus residuos de cisteína se hallan en forma de puentes disulfuro intramoleculares (4) originando una forma globular compacta [23]. Esta proteína se desnaturaliza a 65.2°C y a un pH de 6.7, y por posterior enfriamiento, se puede renaturalizar entre un 80 y 90%. Cuenta con una particular afinidad por el calcio (Fig. 3) la cual decrece cuando el pH está cerca de su PI (4.2-4.5), perdiendo totalmente su afinidad a un pH alrededor de 1.7; cuando el calcio es removido completamente, la α -La tiende a desdoblarse, sin embargo este proceso es reversible [27].

Proteasas-peptonas: Esta fracción proteica es una glucoproteína, con peso molecular aproximadamente de 10 kDa. Estas se producen durante la proteólisis de las β -caseínas. Contienen una baja concentración

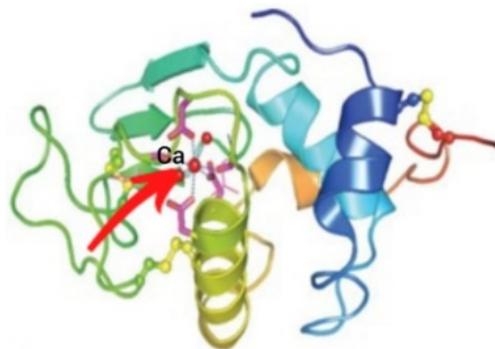


Figura 3. Estructura de la α -La que muestra el sitio de unión con el Ca^{2+} , el cual tiene siete coordenadas [28].

de aminoácidos azufrados, aromáticos y distintas proporciones de glúcidos y ácido siálico. Su acumulación está asociada con la generación de sabores amargos y se diferencian de las demás PL porque no precipitan mediante calentamiento a 95-100°C durante 30 min [23].

Albumina de lactosuero: Es la fracción proteínica más azufrada; representa alrededor del 6-12% del total de las PL. Es conocido que la albúmina de la leche de vaca y de la sangre son estructurales e inmunológicamente idénticas a la seroalbúmina bovina (por sus siglas en inglés, Bovine Serum Albumin, BSA-). Esta proteína contiene 17 puentes disulfuro intramoleculares que estabilizan su estructura y 1 grupo sulfhidrilo libre en la posición 34 [14]. Tiene la capacidad de reaccionar con la β -Lg debido a la abundancia en puentes disulfuro y por poseer sitios de unión específicos para moléculas hidrofóbicas [29].

Inmunoglobulinas (Ig): Constituyen una familia heterogénea y compleja de glicoproteínas que tienen en común actividad de anticuerpos producidos por los linfocitos B; contribuyen de manera significativa al contenido de las PL y ejercen una función inmunológica importante (especialmente en el calostro). Existen 5 clases de inmunoglobulinas: IgG1, IgG2, IgA, IgM e IgE. Todas se hallan en la leche y provienen de la sangre [23]. En términos de estructura cuaternaria, la IG es una molécula de cuatro cadenas polipeptídicas, dos de ellas ligeras (~25 kDa) y dos pesadas (~50-70 kDa) [2].

Lactoferrina: Es una glicoproteína monomérica, globular que pertenece a la familia de las proteínas transportadoras de hierro, también denominadas transferrinas, tiene un punto isoeléctrico entre 8.0 y 8.5 [14]. La única cadena polipeptídica (600 a 700 aminoácidos) contiene un 5 % de cisteína y 7.2 % de glúcidos, lo que le confiere una gran solubilidad en agua. Además de su función biológica de incorporar hierro de la sangre en la leche, posee propiedades bacteriostáticas, bactericidas, anticancerígenas e inmunológicas [30].

Existen otras proteínas que se encuentran en menor proporción en el lactosuero, conocidas como proteínas menores del suero y obedecen a fragmentos de β -caseínas, fosfolipoproteínas, lactoporinas, lactoperoxidasa y lisozima. Proteínas ricas en calcio que presentan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, entre otras [23].

De las PL antes descritas actualmente sólo la α -La y la β -Lg son las que adquieren mayor importancia en la manufactura de los distintos derivados del lactosuero disponibles en el mercado. Entre las bondades para la salud que aportan las PL, se encuentra que puede aumentar la secreción de insulina, producir un efecto de incretina, retrasar el vaciado gástrico y regular el apetito, lo que mejora el control glucémico. Así la suplementación antes de las comidas con las PL mejora la glucemia posprandial en personas con diabetes mellitus tipo 2 (T2DM), sin embargo, es importante determinar la dosis y estudiar los efectos a largo plazo [31].

2.2 Derivados de proteínas del lactosuero

Dentro de los productos derivados de PL comercialmente más importantes se encuentran, (a) los concentrados proteicos de lactosuero (CPL) o WPC (por sus siglas en inglés, Whey Protein Concentrates), con una concentración de proteína $\sim 85\%$ y, (b) los aislados de proteína de lactosuero (APL) o WPI (por sus siglas en inglés, Whey Protein Isolates) que contienen $\sim 95\%$ de proteína [32]. Adicionalmente, se encuentran fracciones o derivados de estos concentrados denominados hidrolizados de proteínas de lactosuero, WPH (por sus siglas en inglés, Whey Protein Hydrolysates) [4].

2.2.1 Concentrados proteicos de lactosuero.

El WPC es definido como la sustancia obtenida por la alta eliminación de constituyente no proteico a partir de lactosuero para que el producto seco final contenga un elevado porcentaje de proteína [4]. La mayoría de estos productos contienen entre 35 y un 90 % de proteína y están elaborados a base de sueros dulces y ácidos [33]. Los WPC con 35-55 % de proteína son utilizados en la fabricación de alimentos para animales [23], mientras que aquellos productos que contienen $>70\%$ de proteínas se utilizan ampliamente como ingredientes funcionales y nutricionales en productos médicos, farmacéuticos y de alimentos base para fórmulas infantiles, bebidas saludables y alimentos congelados, de igual manera, son reconocidas sus propiedades gelificantes, emulsificantes y espumantes [34]. La alta solubilidad y capacidad de absorción de agua y de viscosidad de los WPC ha generado bastante interés en la industria alimentaria, en especial su capacidad para formar geles visco-elásticos inducidos por calor idóneos para inmovilizar grandes cantidades de agua y otros componentes alimentarios [35].

La composición y funcionalidad de estos productos varía según la composición de la leche y las condiciones de proceso utilizadas tanto en la fabricación de queso o caseína como de los propios WPC. En este sentido es importante tener en cuenta que las PL son sensibles a los tratamientos térmicos y sufren desnaturalización y agregación al calentarse a temperaturas superiores a los 70°C ; estas variaciones en los grados de desnaturalización y agregación de las proteínas se ven reflejadas en el producto final ya que puede presentar diferentes propiedades fisicoquímicas y funcionales [36]. También se ha demostrado que el tratamiento térmico, la variación de la concentración de proteína y la proporción caseína/proteína de lactosuero afectan las propiedades reológicas de los WPC [37].

La fabricación de WPC implica diversos procesos de membrana, como: a) la ultrafiltración (UF) que da lugar a dos productos; el retenido que constituye propiamente los WPC, y el permeado. Por lo general, el retenido se concentra más por evaporación antes de llevar a cabo el secado por aspersión para obtener el producto en forma de pulverizado minimizando

el costo de remoción y mejorando sus propiedades físicas; y b) la diafiltración (DF) proceso membranario realizado al permeado y que elimina de manera efectiva la mayor parte de lactosa, minerales y otros componentes de bajo peso molecular [26].

2.2.2 Aislados proteicos de lactosuero

Los WPI se caracterizan por tener un alto contenido proteico, 90-95 % [4], alcanzado con la disminución del contenido graso y mineral, mediante etapas posteriores a la ultrafiltración, en su orden microfiltración (MF) y DF [38]. Otra forma de obtención de los WPI es a través del uso de resinas de intercambio iónico que se unen selectivamente a las proteínas y permiten que la lactosa y los minerales pasen a través de la membrana [39].

Por su composición, las propiedades funcionales del WPI son superiores a las del WPC y éste puede ser incluido en productos como: alimentos bajos en grasa, deslactosados, fórmulas médicas para infantes y deportistas. Al igual que los WPC son utilizados como ingredientes alimentarios debido a sus propiedades funcionales de importancia comercial como solubilidad, viscosidad, capacidad de retención de agua, gelificación, adhesión, emulsificación y formación de espuma [40]. Se destaca las propiedades de gelificación, siendo muy estudiada en la última década para la obtención de productos con características organolépticas y de estabilidad deseables. Los WPI pueden formar geles a pH cercanos al PI de las principales proteínas que lo conforman, previa desnaturalización térmica de las mismas en un proceso denominado “gelación fría”[41].

2.3 Propiedades no-funcionales de las proteínas del lactosuero

Las PL son suplementos nutricionales únicos e ingredientes alimenticios funcionalmente valiosos desde el punto de vista biológico, físico y químico [42]. Según Yamul (2018) [24] las propiedades tecnofuncionales de las proteínas se definen como aquellas propiedades fisicoquímicas que influyen en la estructura, apariencia, textura, viscosidad y retención del aroma y sabor del producto. Estas propiedades dependen de las condiciones de obtención del lactosuero. Una misma materia prima inicial puede

dar origen a toda una gama de propiedades tecnofuncionales modificando ligeramente las condiciones de procesamiento. Entre las propiedades tecnofuncionales de las PL que les permite ser valoradas en la formulación de alimentos [17], se destacan:

Alta solubilidad: Esta propiedad depende de muchos factores, como el estado natural o desnaturalizado de la proteína y los factores ambientales como la temperatura y el pH [43]. Las PL no desnaturalizadas poseen una excelente solubilidad en un amplio rango de pH especialmente ácido, lo cual es muy importante en la elaboración de bebidas ácidas y aderezos para ensaladas.

Poder emulsificante: Las PL tienen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas que le permiten actuar como emulsificantes. Se ha demostrado que la emulsión generalmente disminuye con la hidrólisis para todas las proteínas de la leche, es decir, una longitud mínima de péptidos genera mejores propiedades de emulsión [44].

Espumado: La formación de una espuma es análoga a la formación de una emulsión, pero en este caso la interfase es agua/aire. La capacidad espumante de PL se utiliza en la elaboración de postres, helados aireados, batidos de postres, malteadas y merengues. Para obtener características óptimas de formación de espuma y emulsión, la proteína debe ser sustancialmente soluble, difundirse a la interfaz recién formada, desplegarse y reorientarse de manera que disminuya la tensión interfacial y formar películas cohesivas y visco-elásticas por polimerización principalmente a través de enlaces disulfuro e interacciones hidrofóbicas [45]. El número de grupos sulfhidrilo, la flexibilidad molecular, la hidrofobicidad y la actividad superficial determinan la capacidad de las PL para formar espumas y emulsiones estables. Aunque la funcionalidad normal de PL depende principalmente del comportamiento de la proteína más abundante en el suero, la β -Lg [42]. La calidad sensorial de productos lácteos cubiertos de una capa espumosa (bebidas tipo capuchino) está determinada por la espumabilidad (aparición y textura de la espuma), la sensación en la boca y tasa de liberación del aroma de café y la aceptación del consumidor [46].

Capacidad de retención de agua: Las PL pueden fijar alrededor de 5 gramos de agua por 1 gramo de concentrado proteico, propiedad muy útil en productos cárnicos y embutidos [23].

Viscosidad: Las PL aportan baja viscosidad comparada con la mayoría de las proteínas, de otro lado el aumento de la temperatura no modifica sustancialmente la viscosidad de las PL. Lo anterior, permite que se utilicen en altas concentraciones, mejorando el valor nutritivo de los productos. [23].

Adhesividad: Las PL poseen buenas propiedades de adhesividad lo que los transforma en ingredientes útiles para adherir miga de pan, masa o pan rallado a carnes o pescados, y también para fijar glaseados a productos de panadería. [23].

Gelificación: Las PL en condiciones adecuadas forman por calentamiento redes tridimensionales irreversibles llamadas geles. En estos geles el agua queda atrapada en los capilares de la matriz, aumentando la capacidad de retención de agua y evita la sinéresis. Los geles mejoran tanto el rendimiento de varios productos alimenticios como el jamón y el surimi como la apariencia, así evitan superficies húmedas en yogures y cremas ácidas. Además, permiten modificar la firmeza, cohesividad y elasticidad de carnes, productos de mar y tortas [24].

La efectividad con que las PL desarrollan sus propiedades funcionales está directamente relacionada con las condiciones del entorno circundante, como pH, fuerza iónica, temperatura y presencia de azúcares, lípidos y de otras proteínas [24].

Dada la gran variedad de propiedades tecno-funcionales de las PL, a continuación, se muestran algunas de sus aplicaciones en diferentes productos alimenticios (Tabla 4).

2.4 Beneficios de las pl en la salud humana

La mayoría de los componentes bioactivos del lactosuero corresponden a la fracción de proteínas séricas, enzimas, inmunoglobulinas y péptidos derivados de su hidrólisis. Se ha reportado que la β -Lg estimula diferentes funciones intestinales (absorción de retinol y ácidos grasos), y presenta propiedades anticarcinogénicas [47], [48] y capacidad para modular

Tabla 4. Aplicación de las proteínas del lactosuero en distintos productos alimenticios según sus propiedades tecno-funcionales[24].

Producto	Tecno-Funciones*	Referencias
Alimentos dietéticos y alimentos para infantes	Ap, alta S y Ep	[43]
Quesos naturales y fundidos	Em, Ep y Gel	[44]
Quesos untables, helados y leche para café	Em y Ep	[45]
Cremas, postres, flanes y yogur	Em, Ep y Gel	[17]
Productos cárnicos (Salchichas, patés y hamburguesas)	Em, Ep, Gel, L, CRA y CRG	[9-24]
Panadería	Ap, CRA, Gel y T	[9]
Pastas	Ap y T	[24]
Confitería y chocolate con leche	Em, Es, Gel y CRA	[46]
Sopas y salsas	Em y Ep.	[17]
Platos cocidos	Em, Ep y CRA	[24]
Bebidas lácteas o frutadas.	S en caliente y/o pH ácido, Ep.	[43]

*Emulsificante: Em; Espumante: Es; Espesante: Ep; Aporte proteico: Ap; Solubilidad: S; Gelificante: Gel; Ligante: L; Capacidad de Retención de Agua: CRA; Capacidad de Retención de Grasa: CRG; Textura: T.

la respuesta inmune; así mismo a la α -La, se ha relacionado su citotoxicidad hacia células tumorales (al formar complejos no covalentes con el ácido oleico) [49]. Otras proteínas en el lactosuero, como BSA, GMP (Guanosina monofosfato), Lactoferrina y Lactoperoxidasa, comparten propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes [50]. Por ejemplo, el GMP, debido a su composición (libre de fenilalanina y altamente glicosilado), es adecuado para formular dietas especiales para infantes con problemas de fenilcetonuria, además de presentar propiedades anticariogénicas. Las inmunoglobulinas (IgG1, IgG2) imparten inmunidad pasiva y otros efectos benéficos en personas inmunocomprometidas [51].

Por otra parte, las PL contienen todos los 20 aminoácidos con concentraciones representativas de los nueve aminoácidos esenciales (Tabla 2); son una fuente rica y equilibrada de aminoácidos azufrados (cisteína, principalmente) que desempeñan un papel fundamental como precursor del potente antioxidante intracelular, glutatión, tripéptido que además tiene

propiedades anticancerígenas y estimulantes del sistema inmunológico [19]. Las PL contienen de tres a cuatro veces más cisteína biodisponible que otras proteínas. De forma simultánea juega un papel clave en la regulación del metabolismo de las proteínas de todo el cuerpo, lo que da lugar a cambios en la composición corporal [52]. La leucina es un factor particularmente importante en el crecimiento y la reparación de tejidos. Se cree que la leucina, isoleucina y valina desempeñan un papel como reguladores metabólicos en la homeostasis de proteínas y glucosa y en el metabolismo de los lípidos, desempeñando un papel en el control del peso [48].

2.5 Aplicaciones a nivel industrial de pl y sus fracciones

2.5.1 Suplemento alimenticio

Las PL han sido uno de los suplementos más usados por los atletas y consumidores de productos de nutrición deportiva para apoyar la hipertrofia muscular y mejorar la condición corporal; estos suplementos se posicionan como fuentes de proteína y aminoácidos de alta calidad y como un medio potencial para mejorar la masa corporal magra junto con el entrenamiento adecuado [53]. Se ha demostrado que estas proteínas estimulan la síntesis de proteínas musculares (MPS) en mayor medida que la caseína y la proteína de soya, tanto en reposo como después del ejercicio, en personas jóvenes y mayores [54]; tras su ingestión, la proteína se digiere rápidamente al estómago por su solubilidad, en estas condiciones ácidas, se hidroliza y sale rápidamente del estómago dando como resultado un aumento pronunciado de aminoácidos en la sangre. Lo anterior, se cree es fundamental para la estimulación de MPS. Adicionalmente, las PL presentan una riqueza completa en todos los aminoácidos esenciales [55], y tiene una alta proporción de leucina de cadena ramificada (BCAA), clave en la estimulación de la MPS [56]. Las PL pueden mejorar el control glicémico a través del aumento de la secreción de insulina, producir un efecto de incretina, retrasar el vaciamiento gástrico y regular el apetito. La suplementación con PL está asociada con la regulación de glicemia posprandial en personas con diabetes mellitus tipo II (T2DM). Lo anterior fue establecido mediante una revisión

sistemática integral y meta-análisis cuantitativo de ensayos controlados aleatorios (RCTs) [31].

2.5.2 Hidrolizados de proteínas del lactosuero (Whey Protein Hydrolysate, WPH)

Los WPH se obtienen una vez la proteína ha sido dividida, es decir, cuando los enlaces peptídicos de la proteína han sido hidrolizados formando péptidos y/o aminoácidos libres, lo cual facilita su asimilación a nivel intestinal [57]. En la Figura 4 se ilustra el proceso hidrolítico que transcurre mediante una serie de etapas, generando diferentes especies intermediarias cuya solubilidad, tamaño molecular y relación de nitrógeno amino/nitrógeno total (NA/NT), caracteriza a cada especie [58]:

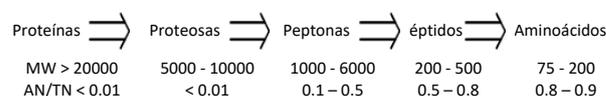


Figura 4. Especies generadas durante el proceso hidrolítico.

Existen diversas maneras de obtener los WPH entre las cuales se encuentra la hidrólisis química (ácida y alcalina), la hidrólisis enzimática y los procesos de fermentación. En el caso de la hidrólisis enzimática, varios factores definen el grado de hidrólisis (GH) o el peso molecular del péptido que se desea obtener, la elección de la enzima, las condiciones del proceso, relación enzima/sustrato, temperatura y tiempo de hidrólisis [59].

La hidrólisis química tiende a ser un proceso difícil de controlar y genera productos con cualidades nutricionales reducidas, además, puede formar sustancias tóxicas como la lisino-alanina. Por el contrario, la hidrólisis enzimática desarrollada en condiciones suaves de pH (6–8) y temperatura (40–60°C) puede conducir al desarrollo de componentes nutricionales biológicamente activos que promueven oportunidades saludables para ser usados como ingredientes funcionales lácteos [59], por ende éste último método presenta indudables ventajas ante los demás, destacando las siguientes: selectividad, condiciones moderadas de temperatura y pH, no se añaden sustancias extrañas, se mantiene el valor nutritivo ya que no se produce degradación de los componentes separados, mientras que, la hidrólisis alcalina

destruye los aminoácidos arginina y cisteína y la hidrólisis ácida elimina el triptófano y desamina a la serina y treonina [57]. La hidrólisis enzimática para la liberación de péptidos y de aminoácidos se ha llevado a cabo utilizando proteasas de diferentes fuentes (Animales- páncreas: tripsina, quimotripsina y pepsina; Plantas: bromelina y papaína; Bacteriana: termolisina, alcalasa; Hongos: penicilopepsina, proteinasa K) [60].

Los WPH han sido ampliamente utilizados en la industria alimentaria debido a sus propiedades funcionales de importancia tecnológica, tales como baja viscosidad, mayor capacidad de agitación, dispersión, alta solubilidad, formación de espuma, gelificación y emulsión que les concede ciertas ventajas en relación con las proteínas originales [43]. La introducción dentro de la dieta de hidrolizados enzimáticos ricos en péptidos, especialmente di y tripéptidos, presentan una manera de mejorar la utilización de la proteína [4].

Los cambios presentados en las propiedades funcionales de las PL están relacionados con la producción de péptidos durante la hidrólisis enzimática, que se caracterizan principalmente por tener un menor peso molecular (Tabla 5), exposición de grupos hidrófobos y por un mayor número de grupos iónicos.

Tabla 5. Masa molecular promedio y longitud media de la cadena de los péptidos presentes en los hidrolizados de diferente grado de hidrólisis [61].

Grado de hidrólisis (GH%)	Masa molecular promedio (Da)	No. de residuos promedio de la cadena
6	2330	16.6
10	1411	10.1
13	1161	7.7
16	840	6.3
19	744	5.3
22	625	4.5

Por otra parte, las propiedades fisicoquímicas de los WPH están relacionados con diversos parámetros como: 1) la pureza del sustrato proteico; 2) el pretratamiento del sustrato proteico; 3) la especificidad de la enzima utilizada para la proteólisis; 4) las condiciones fisicoquímicas utilizadas durante la hidrólisis (pH, temperatura, fuerza iónica, entre otros); 5) el grado de hidrólisis; 6) la técnica usada para la

activación enzimática; y 7) el uso de tratamientos post-hidrólisis [62].

Los péptidos que se encuentran encriptados en las secuencias primarias de aminoácidos de las proteínas y que se liberan durante la digestión son reconocidos como metabolitos de proteínas biológicamente activos que pueden tener efectos beneficiosos en la salud de los seres humanos [1].

Una de las posibles aplicaciones de los WPH es su utilización como fuente de nitrógeno en procesos fermentativos [63], o en la formulación de dietas enterales destinadas a la alimentación infantil y/o de adultos enfermos. Estas dietas entéricas se diseñan para ser absorbidas en el intestino sin una digestión previa en el estómago y son esenciales en el tratamiento de pacientes con desórdenes estomacales o problemas de la mucosa intestinal, así como en lactantes con síndromes de malabsorción-malnutrición, con cuadros alérgicos en la mayoría de los casos [57]. Se ha demostrado también que la hidrólisis enzimática de las PL reduce la antigenicidad y aumenta la actividad biológica mediante la liberación de péptidos inmunomoduladores, opioides y antihipertensivos [64]. Adicionalmente, algunos pequeños péptidos presentes en los hidrolizados tienen la capacidad de ser absorbidos con mayor rapidez en el intestino comparada con los aminoácidos libres o las proteínas intactas.

Este proceso de hidrólisis de proteínas también presenta algunas desventajas relacionadas principalmente con la liberación de péptidos de sabor amargo, lo cual, limita su uso potencial, ya que los hidrolizados amargos solo pueden incorporarse a los alimentos en concentraciones bajas sin producir un sabor inaceptable [65]. Se han encontrado diferentes parámetros que afectan la intensidad del sabor amargo en un péptido, desde la propia secuencia de aminoácidos en la proteína original, los péptidos producto de hidrólisis, el procesamiento térmico y el tratamiento enzimático. Específicamente en el amargor de los péptidos influye el grado de hidrólisis (GH), la concentración y ubicación de los aminoácidos, el número de carbonos, ramificaciones del grupo R de los aminoácidos y la conformación de los aminoácidos [66].

En la actualidad se han desarrollado diversos procesos de hidrólisis enzimática de WPC, utilizando proteinasas como alcalasa y quimotripsina a pH 8.0, una temperatura de 85°C y una relación enzima-sustrato 1/20 (%p/p), se obtuvieron péptidos de diferentes tamaños secuenciados por HPLC-ESI-MS/MS que demostraron tener actividades antioxidantes e inhibidoras de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Sin embargo, los péptidos obtenidos por hidrólisis con alcalasa fueron más resistentes al proceso de digestión y por ende aún están en la capacidad de ejercer funciones bioactivas en el organismo [67]. Estas diferencias encontradas se presentaron debido a la especificidad de cada enzima, produciendo hidrolizados de composición diferente y por tanto propiedades bioactivas distintas [67].

El estudio realizado por Landim (2021) [68] muestra el uso de proteasas comerciales alternativas Novo Pro-D® (NPD) y Ficin (FC) para la producción de BAPs con alergenicidad reducida de los WPC; los tratamientos con NPD generaron un hidrolizado con una reducción del 98% de proteínas solubles, mayor capacidad antioxidante *in vitro* y menor inmuno-reactividad (InR) en comparación con los FC, así mismo se observó una tendencia similar para la capacidad antioxidante y alergenicidad, en la cual los hidrolizados producidos por el uso de NPD mostraron un mayor valor de ORAC y una menor cantidad de InR a β -Lg. Los cambios provocados por el pretratamiento de las proteínas con la aplicación de 400 MPa aumentaron la accesibilidad de los puntos de escisión de las proteínas a la CF, que contribuyó a una mayor reducción de las proteínas solubles y la liberación de la InR β -Lg, de la de aminoácidos aromáticos, así mismo proporcionó una mayor capacidad antioxidante. Por otra parte en el estudio de Duarte (2019) [69] emplearon la enzima *Gelzyme L500*® para desarrollar WPH con posterior uso como fuente de nitrógeno en los medios cultivo durante la fermentación de la lactosa hacia ácido láctico. Se reportó, que las mejores condiciones de pH y temperatura en la hidrólisis fueron 10 y 60°C respectivamente para alcanzar un GH máximo del 22%.

Enzimas que comúnmente han sido empleadas en la hidrólisis de leche de camello arábigo o dromedario (CM), de caseína y de proteínas del lactosuero, se encuentran tripsina, quimotripsina, pepsina, alcalasa, bromelina, papaína y proteinasa K. La obtención de BAPs por procesos fermentativos han usado *L. lactis* spp. *cremoris*, *L. lactis* spp. *lactis*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* sp. *Bulgaricus* [21]. También se han empleado extractos crudos de plantas en la hidrólisis de PL: extractos de flores de *Citrus aurantium*, bayas de trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) y del fruto, melón (*Cucumis melo*) [6].

Así mismo los oxidantes exógenos y endógenos dan lugar a las especies reactivas de oxígeno-EROs, que pueden dañar los lípidos de las membranas, las proteínas y el ADN [70]. Los ingredientes dietéticos con propiedades antioxidantes pueden limitar el daño oxidativo o desempeñar un papel protector en estados de enfermedad donde prevalece el daño oxidativo (cáncer, diabetes, enfermedad cardiovascular (ECV)). Los BAPs antioxidantes juegan un papel importante limitando el daño oxidativo. Pueden reducir la toxicidad del peróxido de hidrógeno, proteger las células de fibroplastos pulmonares y las células de línea de feocromocitoma de rata (PC 12). Además, para la industria alimentaria, la peroxidación de lípidos es un problema que preocupa a fabricantes debido a que los lípidos oxidados y productos secundarios alteran la calidad de los alimentos. Es sabido que los metales pesados catalizan las reacciones de oxidación, sin embargo, los BAPs pueden combinarse con estos metales y retrasar la peroxidación. La actividad antioxidante de las PL puede mejorar mediante tratamientos tecnológicos principalmente térmicos. Así, los productos obtenidos de la reacción de Maillard derivados de PL y azúcares reductores demostraron un poder reductor sustancial en la baja actividad eliminadora de radicales DPPH mientras que los conjugados de glucosa-PL mostraron un aumento en el poder reductor de ABTS [17].

Finalmente se puede indicar que los componentes del lactosuero de leche de vaca, en particular las proteínas presentan valiosas propiedades nutricionales, tecno-funcionales y bioactivas que permiten su aplicación en alimentos y bebidas. Además, existe

creciente evidencia de las funciones promotoras de salud de las proteínas y péptidos de lactosuero, destacando el papel que desempeñan en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades no transmisibles (diabetes, cáncer y ECV), de enfermedades del hígado y sarcopenia y en el beneficio para obtener un sistema inmune saludable, entre otras [17]. En el caso de los BAPs de camello (CM-BAP), los ensayos *in vivo* (aunque limitados) y los ensayos *in vitro* demuestran además actividades como la antibacteriana, antibiopelícula, antiinflamatoria, antihemolítica y antihiperpigmentación [21].

2.6 Perspectivas de aprovechamiento de los PL y sus derivados

Los diferentes tratamientos aplicados a los PL brindan una oportunidad para futuras investigaciones encausadas a modificar sus propiedades texturales y estructurales que permitan mejorar la tecnofuncionalidad y obtener hidrolizados proteicos de bajo peso molecular mediante tratamientos enzimáticos, fermentativos, tecnologías emergentes como ultrasonido, alta presión y procesos térmicos. Los estudios *in vivo* y en sistemas animales son limitados para ratificar los beneficios y afirmaciones que se han planteado para la salud. Así que los científicos todavía enfrentan retos en un futuro cercano en la implementación de ensayos clínicos en humanos. La comercialización de los polímeros naturales deberá cumplir con normas sanitarias las cuáles son diferentes para cada región. Finalmente, la selección de nuevas enzimas con especificidad conocida podría ofrecer nueva funcionalidad y aplicaciones a los PL y sus derivados, a saber, campos de respuesta antigénica, mantenimiento de la salud y curación [6].

3 Conclusiones

Dentro de los componentes presentes en el lactosuero, las proteínas y principalmente α -La y β -Lg, se destacan no sólo por su contenido nutricional sino también por sus propiedades químicas y tecnofuncionales, permitiendo una mayor aplicabilidad en industrias farmacéutica, cosmética, agrícola y en especial en la industria de alimentos para la obtención de diferentes productos como: suplementos alimenticios o nutricionales, bebidas fermentadas, fórmulas

infantiles, mermeladas, productos de panadería, gomas, productos cárnicos, dietéticos y nutracéuticos, producción de etanol, entre otros, a partir de las PL y derivados, WPC, WPI o WPH. Las proteínas de bajo peso molecular y péptidos obtenidos mediante tratamientos térmicos y procesos combinados hidrólisis-separación por membranas dan lugar a péptidos bioactivos (BAPs) que pueden ser utilizados con fines médicos en la prevención y tratamiento de enfermedades no transmisibles, para el buen funcionamiento del sistema inmune y se destaca también el papel como antioxidantes de lípidos. Estos últimos beneficios han sido comprobados científicamente principalmente a través de ensayos de modelos *in vitro*, por lo que crea oportunidades para la producción de alimentos funcionales, nutracéuticos, formulaciones clínicas dirigidas a la gestión de estilos de vida saludable y relacionados con enfermedades de la edad.

Referencias

- [1] N. Auestad and D. K. Layman, "Dairy bioactive proteins and peptides: A narrative review", *Nutr. Rev.*, vol. 79, pp. 36-47, 2021. 10.1093/nutrit/nuab097.
- [2] A. R. Madureira, C. I. Pereira, A. M. P. Gomes, M. E. Pintado, and F. Xavier Malcata, "Bovine whey proteins - Overview on their main biological properties", *Food Res. Int.*, vol. 40, no. 10, pp. 1197-1211, 2007. 10.1016/j.foodres.2007.07.005.
- [3] K. Marshall, "Therapeutic Applications of Whey Protein", *J. Clin. Ther.*, vol. 9, no. 2, 2004.
- [4] R. A. Parra Huertas, "Lactosuero: importancia en la industria de alimentos.", *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*, vol. 62, no. 1, pp. 4967-4982, 2009. 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.011.
- [5] T. Zotta, L. Solieri, L. Iacumin, C. Picozzi, and M. Gullo, "Valorization of cheese whey using microbial fermentations", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 104, no. 7, pp. 2749-2764, 2020. 10.1007/s00253-020-10408-2.

- [6] A. León-López *et al.*, “Milk Whey Hydrolysates as High Value-Added Natural Polymers: Functional Properties and Applications”, *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 6, 2022. 10.3390/polym14061258.
- [7] G. W. Smithers, “Whey and whey proteins-From ‘gutter-to-gold,’ *Int. Dairy J.*, vol. 18, no. 7, pp. 695-704, 2008. 10.1016/j.idairyj.2008.03.008.
- [8] A. Plata, S. Ramírez, C. Elías, and R. Luna, “Valor agregado para el lacto suero de caprino proveniente de agroindustrias Lácteas: ácido láctico como alternativa de descontaminación”, *SciELO*, vol. 11, pp. 33-39, 2013. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v11n19/v11n19a03.pdf>
- [9] J. M. Rocha and A. Guerra, “On the valorization of lactose and its derivatives from cheese whey as a dairy industry by-product: an overview”, *European Food Research and Technology*, vol. 246, no. 11, Springer Berlin Heidelberg, pp. 2161-2174, 2020. 10.1007/s00217-020-03580-2.
- [10] P. Guel García, J. L. Hernández Mendoza, and G. Rodríguez Castillejos, “Use of bacteria obtained from whey and its potential use as probiotics in the food industry. A short review”, *Rev. Boliv. Química*, vol. 35, no. 1, pp. 40-45, 2018. http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v35n1/v35n1_a05.pdf
- [11] S. M. Fitzsimons, D. M. Mulvihill, and E. R. Morris, “Denaturation and aggregation processes in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry”, *Food Hydrocoll.*, vol. 21, no. 4, pp. 638-644, 2007. 10.1016/j.foodhyd.2006.07.007.
- [12] K. Singh, K. Singh, B. Wan, S. Franzblau, K. Chibale, and J. Balzarini, “Facile transformation of Biginelli pyrimidin-2(1H)-ones to pyrimidines. In vitro evaluation as inhibitors of Mycobacterium tuberculosis and modulators of cytostatic activity”, *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 46, no. 6, pp. 2290-2294, 2011. 10.1016/j.ejmech.2011.03.010.
- [13] A. L. Kelly and C. M. Delahunty, “Sensory Characteristics and Related Volatile Flavor Compound Profiles of Different Types of Whey”, *J. Dairy Sci.*, vol. 88, no. 8, pp. 2689-2699, 2005. 10.3168/jds.S0022-0302(05)72947-7.
- [14] H. Peralta, “Recuperación de las proteínas del suero de leche utilizando quitosán”, Universidad Nacional Autónoma de México, 2018.
- [15] S. R. Macwan, B. K. Dabhi, S. C. Parmar, and K. D. Aparnathi, “Whey and its Utilization”, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 5, no. 8, pp. 134-155, 2016. 10.20546/ijcmas.2016.508.016.
- [16] K. Mangano, Y. Bao, and C. Zhao, “Nutritional properties of whey proteins”, *Whey protein Prod. Chem. Funct. Appl.*, pp. 103-140, 2019.
- [17] C. Zhao, N. Chen, and T. J. Ashaolu, “Whey proteins and peptides in health-promoting functions - A review”, *Int. Dairy J.*, vol. 126, p. 105269, 2022. 10.1016/j.idairyj.2021.105269.
- [18] J. L. Brennan *et al.*, “Differential responses of blood essential amino acid levels following ingestion of high-quality plant-based protein blends compared to whey protein—a double-blind randomized, cross-over, clinical trial”, *Nutrients*, vol. 11, no. 12, pp. 1-11, 2019. 10.3390/nu11122987.
- [19] R. Riofrío, “Caracterización de lactosuero proveniente de cuatro producciones de diferentes tipos de queso”, Universidad San Francisco de Quito, 2014.
- [20] D. Lozano, E. Molina, and R. Lopez, “Immunological and allergenic properties of whey proteins hydrolyzed under high hydrostatic pressure in a BALB/c model of milk allergy”, *Allergy*, vol. 70, pp. 17-18, 2015.
- [21] A. Ali Redha, H. Valizadenia, S. A. Siddiqui, and S. Maqsood, “A state-of-art review on camel milk proteins as an emerging source of bioactive peptides

- with diverse nutraceutical properties”, *Food Chem.*, vol. 373, no. PA, p. 131444, 2022. 10.1016/j.foodchem.2021.131444.
- [22] L. Guevara, D. Cuartas, and F. LLano, “Kappa caseína de la leche: aspectos bioquímicos, moleculares, productivos y nutricionales”, *Rev. Médica Risaralda*, vol. 20, no. 1, pp. 20-23, 2014. 10.22517/25395203.8531.
- [23] C. V. Morr and E. Y. W. Ha, “Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, no. September 2013, pp. 37-41, 2009. 10.1080/10408399309527643.
- [24] D. Karim-Yamul, “Propiedades de geles de concentrado de proteínas de lactosuero, miel y harina”, Universidad Nacional de la Plata, 2008.
- [25] J. A. Lucey, *Mixed gels made with rennet and acid*, 1st ed. Lincoln: Elsevier, 2009.
- [26] A. Kilara and M. N. Vaghela, *Whey proteins*. Woodhead Publishing Limited, 2004.
- [27] M. Eugenia Lucena, S. Alvarez, C. Menéndez, F. A. Riera, and R. Alvarez, “ α -Lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates”, *Sep. Purif. Technol.*, vol. 52, no. 3, pp. 446-453, 2007. 10.1016/j.seppur.2006.05.024.
- [28] H. Singh, M. Boland, and A. Thompson, *Milk Proteins: From Expression to Food*, 2nd ed. Palmerston North: Food Science and Technology International Series, 2015.
- [29] M. Boland and N. Zealand, *Whey proteins*. Woodhead Publishing Limited, 2011.
- [30] M. C. Candiotti, “Respuesta de las proteínas del suero de la leche bovina a la acción de diversas enzimas proteolíticas de uso industrial”, pp. 33-35, 1998.
- [31] S. W. Chiang *et al.*, “Whey protein supplementation improves postprandial glycemia in persons with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials”, *Nutr. Res.*, vol. 104, no. 291, pp. 44-54, 2022. 10.1016/j.nutres.2022.04.002.
- [32] B. E. Meza, R. A. Verdini, and A. C. Rubiolo, “Food Hydrocolloids Viscoelastic behaviour of heat-treated whey protein concentrate suspensions”, *Food Hydrocoll.*, vol. 23, no. 3, pp. 661-666, 2009. 10.1016/j.foodhyd.2008.03.015.
- [33] X. Shen, S. Shao, and M. Guo, “Ultrasound-induced changes in physical and functional properties of whey proteins”, *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, pp. 381-388, 2016. 10.1111/ijfs.13292.
- [34] M. A. de la Fuente, Y. Hemar, M. Tamehana, P. A. Munro, and H. Singh, “Process-induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates”, *Int. Dairy J.*, vol. 12, no. 4, pp. 361-369, 2002. 10.1016/S0958-6946(2)00031-6.
- [35] C. Sun *et al.*, “Reduction of particle size based on super fine grinding: Effects on structure, rheological and gelling properties of whey protein concentrate”, *J. Food Eng.*, vol. 186, pp. 69-76, 2016. 10.1016/j.jfoodeng.2016.03.002.
- [36] A. Moro, C. Gatti, and N. Delorenzi, “Hydrophobicity of whey protein concentrates measured by fluorescence quenching and its relation with surface functional properties”, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, no. 10, pp. 4784-4789, 2001. 10.1021/jf001132e.
- [37] M. Warncke, I. Kieferle, T. M. Nguyen, and U. Kulozik, “Impact of heat treatment, casein/whey protein ratio and protein concentration on rheological properties of milk protein concentrates used for cheese production”, *J. Food Eng.*, vol. 312, no. March 2021. p. 110745, 2022. 10.1016/j.jfoodeng.2021.110745.

- [38] K. Posada, D. M. Terán, and J. S. Ramírez-Navas, "Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboración de postres y productos de confitería", *La Aliment. Latinoam*, vol. 292, no. 1, pp. 66-76, 2011.
- [39] Ó. L. Ramos *et al.*, "Effect of composition of commercial whey protein preparations upon gelation at various pH values", *Food Res. Int.*, vol. 48, no. 2, pp. 681-689, 2012. 10.1016/j.foodres.2012.06.004.
- [40] G. Kresic, V. Lelas, Z. Herceg, and A. Rezek, "Effects of high pressure on functionality of whey protein concentrate and whey protein isolate", *EDP Sci*, pp. 303-315, 2006. 10.1051/lait:2006012.
- [41] R. Ingrassia, P. Sobral, J. Wagner, and P. Risso, "Evaluación de geles ácidos de aislados proteicos de lactosuero y de soja", *1° Congr. Argentino Biorreología*, vol. 1, 2012. <http://rehip.unr.edu.ar/bitstream/handle/2133/10531/Ingrassia2013PR.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- [42] M. Dissanayake and T. Vasiljevic, "Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high-pressure shearing", *J. Dairy Sci.*, vol. 92, no. 4, pp. 1387-1397, 2009. 10.3168/jds.2008-1791.
- [43] D. H. G. Pelegrine and C. A. Gasparetto, "Whey proteins solubility as function of temperature and pH", *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 38, no. 1, pp. 77-80, 2005. 10.1016/j.lwt.2004.03.013.
- [44] C. Van Der Ven, H. Gruppen, D. B. A. De Bont, and A. G. J. Voragen, "Emulsion Properties of Casein and Whey Protein Hydrolysates and the Relation with Other Hydrolysate Characteristics", *J. Agric. Food Chem.*, pp. 5005-5012, 2001. 10.1021/jf010144c.
- [45] H. Bouaouina, A. Desrumaux, C. Loisel, and J. Legrand, "Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high-pressure treatment", *Int. Dairy J.*, vol. 16, pp. 275-284, 2006. 10.1016/j.idairyj.2005.05.004.
- [46] T. M. Ho, B. R. Bhandari, and N. Bansal, "Functionality of bovine milk proteins and other factors in foaming properties of milk: a review", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 62, no. 17, pp. 4800-4820, 2022. 10.1080/10408398.2021.1879002.
- [47] R. Tsutsumi and Y. M. Tsutsumi, "Peptides and Proteins in Whey and Their Benefits for Human Health", *Austin J. Nutr. Food Sci.*, vol. 1, no. 1, 2014. <https://www.essentialnutrition.com.br/media/artigos/hiwhey/4.pdf>
- [48] B. S. Birsén and N. Akin, "Health Benefits of Whey Protein: A Review", *J. Food Sci. Eng.*, no. March, 2012. 10.17265/2159-5828/2012.03.001.
- [49] P. Rammer *et al.*, "BAMLET Activates a Lysosomal Cell Death Program in Cancer Cells", *Mol. Cancer Ther.*, vol. 9, no. 1, pp. 24-33, 2010. 10.1158/1535-7163.MCT-09-0559.
- [50] B. Hernández-Ledesma, M. Ramos, and J. Á. Gómez-Ruiz, "Bioactive components of ovine and caprine cheese whey", *Small Ruminant Research*, vol. 101, no. 1-3, pp. 196-204, 2011. 10.1016/j.smallrumres.2011.09.040.
- [51] M. Á. Mazorra-manzano and J. M. Moreno-hernández, "Propiedades y opciones para valorizar el lactosuero de la quesería artesanal", *Biotecnol. y ciencias Agropecu.*, vol. 14, no. 1, pp. 133-144, 2019. 10.29059/cienciauat.v14i1.1134.
- [52] R. L. Walzem, C. J. Dillard, and J. B. German, "Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 42, no. 4, pp. 353-375, 2002. 10.1080/10408690290825574.
- [53] E. Ha and M. B. Zemel, "Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (Review)", *J. Nutr. Biochem.*, vol. 14, pp. 251-258, 2003. 10.1016/S0955-2863(03)00030-5.

- [54] J. E. Tang, D. R. Moore, G. W. Kujbida, M. A. Tarnopolsky, and S. M. Phillips, "Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: Effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men", *J. Appl. Physiol.*, vol. 107, no. 3, pp. 987-992, 2009. 10.1152/japplphysiol.00076.2009.
- [55] J. S. Volek et al., "Whey Protein Supplementation During Resistance Training Augments Lean Body Mass Training Augments Lean Body Mass", *J. Am. Collage Nutr.*, pp. 37-41, 2013. 10.1080/07315724.2013.793580.
- [56] M. C. Devries and S. M. Phillips, "Supplemental Protein in Support of Muscle Mass and Health: Advantage Whey", vol. 80, 2015. 10.1111/1750-3841.12802.
- [57] R. Benítez, A. Ibarz, and J. Pagan, "Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones Protein hydrolysates: processes and applications Resumen", *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.*, vol. 42, no. 2, pp. 227-237, 2008. <https://www.redalyc.org/pdf/535/53542208.pdf>
- [58] A. Guadix, "Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas", *Ars Pharm.*, vol. 41, no. 1, pp. 79-89, 2000.
- [59] R. Sinha, C. Radha, J. Prakash, and P. Kaul, "Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation", *Food Chem.*, vol. 101, no. 4, pp. 1484-1491, 2007. 10.1016/j.foodchem.2006.04.021.
- [60] M. Mohammadian and A. Madadlou, "Characterization of fibrillated antioxidant whey protein hydrolysate and comparison with fibrillated protein solution.", *Food Hydrocoll.*, vol. 52, pp. 221-230, 2015. 10.1016/j.foodhyd.2015.06.022.
- [61] A. Perea, U. Ugalde, I. Rodriguez, and J. L. Serra, "Preparation and characterization of whey protein hydrolysates: Applications in industrial whey bioconversion processes", *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 15, no. 5, pp. 418-423, 1993. 10.1016/0141-0229(93)90129-P.
- [62] S. F. Gauthier and Y. Pouliot, "Functional and Biological Properties of Peptides Obtained By Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins", *J. Dairy Sci.*, vol. 86, no. SUPPL. 1, pp. E78-E87, 2003. 10.3168/jds.S0022-0302(03)74041-7.
- [63] J. León, "Métodos de ensayo utilizados en la determinación de amino nitrógeno libre (NFA) en materiales que cursan o están destinados a procesos de fermentación alcohólica", Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD, 2021.
- [64] K. E. Webb, "Intestinal absorption of protein hydrolysis products: a review", *J. Anim. Sci.*, no. March, pp. 3011-3022, 2018. Webb, K. E. (1990). Intestinal absorption of protein hydrolysis products: a review. *Journal of Animal Science*, 68(9), 3011. 10.2527/1990.6893011x.
- [65] D. Spellman, G. O. Cuinn, and R. J. Fitzgerald, "Bitterness in Bacillus protease hydrolysates of whey proteins", *Food Chem.*, vol. 114, no. 2, pp. 440-446, 2009. 10.1016/j.foodchem.2008.09.067.
- [66] P. Leksrisonpong, P. Gerard, K. Lopetcharat, and M. Drake, "Bitter Taste Inhibiting Agents for Whey Protein Hydrolysate and Whey Protein Hydrolysate Beverages", *J. Food Sci.*, vol. 77, no. 8, 2012. 10.1111/j.1750-3841.2012.02800.x.
- [67] S. Z. Bustamante, J. G. González, S. Sforza, and T. Tedeschi, "Bioactivity and peptide profile of whey protein hydrolysates obtained from Colombian double-cream cheese production and their products after gastrointestinal digestion", *Lwt.*, vol. 145, no. November 2020, 2021. 10.1016/j.lwt.2021.111334.
- [68] A. Landim, N. Matsubara, and J. E. da Silva-Santos, "Application of preliminary high-pressure processing for improving bioactive characteristics and reducing antigenicity of whey protein hydrolysates", *Food Sci. Technol. Int.*, 2021. 10.1177/10820132211022106.

- [69] P. A. Duarte-Manchego, J. C. González-Téllez, and C. J. Muvdi-Nova, "Evaluación de las proteínas hidrolizadas del lactosuero como fuente de nitrógeno en la fermentación láctica de la lactosa", *Rev. ION*, vol. 32, no. 2, pp. 15-27, 2019. 10.18273/revion.v32n2-2019002.
- [70] T. . Ashaolu, "Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: their production, mechanisms and applications", *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 246, pp. 853-865, 2020.