



Actividad antioxidante de hidrolizados proteicos de suero de leche usando Proteasa de *Bacillus Sp*

Antioxidant activity of whey protein hydrolysates using *Bacillus Sp* Protease

✉ Viteri-Espinoza, Moisés Alonso^{1*}

✉ Coloma-Hurel, José Luis¹

✉ Otero-Tuárez, Víctor¹

¹Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Manta, Ecuador

Recibido: 06 Ago. 2024 | Aceptado: 17 Oct. 2024 | Publicado: 20 Ene. 2025

Autor de correspondencia*: moises.vitery@pg.uleam.edu.ec

Cómo citar este artículo: Viteri-Espinoza, M. A., Coloma-Hurel, J. L. & Otero-Tuárez, V. (2025). Actividad antioxidante de hidrolizados proteicos de suero de leche usando Proteasa de *Bacillus Sp*. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 5(1), e756.
<https://doi.org/10.51252/raa.v5i1.756>

RESUMEN

En el presente artículo se evaluó la actividad antioxidante de los hidrolizados de sueros lácteos utilizando diferentes concentraciones de suero (0, 1, 2 y 3%) y tiempo de hidrólisis 0 minutos, 30 minutos y 4 horas. Se emplearon enzimas proteasas de *Bacillus sp* para realizar la hidrólisis. La actividad antioxidante se midió mediante el método del radical catiónico ABTS●+. Los resultados mostraron que la actividad antioxidante fue máxima a una concentración del 1% de suero lácteo, tanto a 30 minutos como a 4 horas. Sin embargo, al aumentar la concentración a 2% y 3%, la actividad antioxidante disminuyó, posiblemente debido a la saturación enzimática. Además, se encontró que tanto la concentración del suero lácteo como el tiempo de hidrólisis influyeron significativamente en la actividad antioxidante (<0,0001), con una interacción significativa entre ambos factores. Los hidrolizados proteicos de suero de leche producidos mediante la proteasa de *Bacillus sp*. mostraron un notable potencial como ingredientes funcionales en las propiedades antioxidantes, lo que representa una oportunidad prometedora para la industria alimentaria. La capacidad enzimática para la generación de péptidos bioactivos antioxidantes muestra la eficiencia, aunque se recomienda estudios adicionales para la optimización de la calidad de los hidrolizados.

Palabras clave: actividad enzimática; péptidos bioactivos; radical catiónico ABTS; suero lácteo hidrolizado; tiempo de hidrólisis

ABSTRACT

In the present article, the antioxidant activity of whey hydrolysates was evaluated using different concentrations of whey (0, 1, 2 and 3%) and hydrolysis time 0 minutes, 30 minutes and 4 hours. Protease enzymes from *Bacillus sp* were used to perform hydrolysis. Antioxidant activity was measured using the ABTS●+ cationic radical method. The results showed that antioxidant activity was maximal at a concentration of 1% whey, both at 30 minutes and 4 hours. However, as the concentration increased to 2% and 3%, antioxidant activity decreased, possibly due to enzyme saturation. In addition, it was found that both whey concentration and hydrolysis time significantly influenced antioxidant activity (<0.0001), with a significant interaction between both factors. Whey protein hydrolysates produced by the protease of *Bacillus sp*. They showed remarkable potential as functional ingredients in antioxidant properties, representing a promising opportunity for the food industry. The enzymatic capacity for the generation of antioxidant bioactive peptides shows the efficiency, although further studies are recommended for the optimization of the quality of the hydrolysates.

Keywords: enzymatic activity; bioactive peptides; cationic radical ABTS; hydrolyzed whey; hydrolysis time



1. INTRODUCCIÓN

Las empresas lácteas son uno de los sectores más importantes de la economía de diversos países, representan entre un 10 – 30 % del total de empresas agroalimentarias (Motta Correa & Mosquera M., 2015). En la actualidad se observa un incremento en la población y a su vez del poder adquisitivo, dando como resultado un aumento en la demanda de variedad de alimentos, entre ellos se encuentra la leche y sus derivados, permitiendo conservar y consumir productos frescos altamente perecederos como leche, quesos, yogurt, entre otros (Proveda, 2018).

Uno de los productos más consumidos después de la leche es el queso y en Ecuador los quesos frescos más consumidos son: criollo, mozzarella, cuajadas en general. Como resultado de la producción de diferentes tipos de queso, se obtiene el suero de leche (Badui Dergal, 2006). Este retiene gran parte de los nutrientes de la leche, de ahí que este subproducto posee un elevado poder contaminante y se ha propuesto diversas soluciones desde la biotecnología (Schmidt-Hebbel, 2010). Uno de los usos más atractivos es en la obtención de productos basados en el aislamiento de las proteínas del suero, brindando un concentrado proteico de excelente calidad para el consumo humano y animal (Irazoqui et al., 2024).

El suero de leche, un subproducto líquido resultante de la coagulación de la leche en la producción o elaboración de queso y otros productos lácteos, ha sido históricamente considerado como un desecho. Sin embargo, su riqueza en nutrientes y compuestos bioactivos ha despertado un creciente interés en su valoración como fuente de proteína de calidad (León et al., 2022). Entre las proteínas presentes en el suero se encuentran la beta-lactoglobulina, la alfa-lactoalbúmina, la inmunoglobulina y la proteína de la membrana del glóbulo graso, estas proteínas pueden ser sometidas a procesos de hidrólisis enzimática para liberar péptidos con actividad biológica, incluyendo la actividad enzimática e hidrólisis (Kilara & Panyam, 2003).

La hidrólisis enzimática es una técnica que utiliza enzimas proteolíticas para romper las cadenas polipeptídicas en péptidos más pequeños (Cuesta & Muñoz, 2010). Esta técnica mejora la calidad de digestibilidad de las proteínas, la proteasa *Bacillus sp*, se presenta como una herramienta prometedora debido a su capacidad para producir hidrolizados proteicos de actividad biológica (Calvario et al., 2019). Los antioxidantes son capaces de inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas protegiendo así las células del daño causado por los radicales libres y especies reactivas del oxígeno, este daño oxidativo está implicado en el envejecimiento y en la etiología de diversas enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades neurodigestivas (Kleekayai et al., 2022).

En los últimos años se han desarrollado importantes tendencias tecnológicas para su aprovechamiento óptimo, transformando al lactosuero en un componente de gran potencial, atendiendo así la importancia que desde la industria se les da a los residuos alimenticios. El procesamiento de las proteínas del suero puede producir péptidos bioactivos que pueden desencadenar efectos fisiológicos en el cuerpo humano (Zuluaga Arroyave, 2017). Varios péptidos con diversas funciones biológicas han sido identificados en los hidrolizados enzimáticos de suero de leche, informando actividades de tipo opioide, antioxidante, antimicrobiana, entre otras (Zuluaga Arroyave, 2017). Se lo considera un producto con un excelente potencial de uso como aditivo, ingrediente o alimentos en la industria alimenticia, esto gracias a su valor nutricional y bajo costo de obtención (Mansinbhai et al., 2022).

La industria láctea es considerada uno de los sectores más importantes de la economía de varios países. En Ecuador el 40% de la producción lechera se destina a la industrialización y a la elaboración de queso artesanal. En la producción de queso, el lactosuero es un subproducto generado en este proceso (Cuca G. & Ávila G., 2013). Y aunque es una buena fuente de nutrientes, no es aprovechada de la mejor manera y se desecha, convirtiéndose en un contaminante ambiental. Además de este problema, surge también la pérdida económica debido a que no se da un valor agregado a este subproducto (Kleekayai et al., 2022).

A pesar de que existe una problemática de contaminación, existe un sinnúmero de productos que se logran obtener, dentro de estos se encuentran: bebidas para deportistas, bebidas fermentadas, productos de panadería y concentrados proteicos, cabe destacar que las proteínas del lactosuero tienen propiedades funcionales y esto lo hace útil en el área de los alimentos (Lermen et al., 2023).

En este estudio, se investigó la actividad antioxidante de hidrolizados proteicos de suero de leche obtenidos mediante la hidrólisis con proteasa de *Bacillus sp.* Se evaluó las diferentes condiciones de hidrólisis, tales como el tiempo, la temperatura y la concentración de enzima, para optimizar la producción de péptidos con máxima actividad antioxidante. Los péptidos generados fueron caracterizados y su actividad antioxidante, medida utilizando diversos ensayos in vitro. Este enfoque integral permitió no solo identificar las condiciones óptimas de hidrólisis, sino también comprender los mecanismos subyacentes a la actividad antioxidante de los hidrolizados proteicos de suero de leche.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnología de la Universidad Laica Eloy Alfaro ubicada en Manta, Ecuador, cuyas coordenadas $0^{\circ}57'10''S$ $80^{\circ}44'43''O$ y su Long -0.953379 y Lat -80.745692 , con una temperatura de $30^{\circ}C$, humedad relativa de 80% a 6 metros sobre el nivel del mar.

2.2. Diseño de la investigación

Se utilizó un diseño bifactorial constituido por el factor A; concentración del suero de leche a 1%, 2% y 3% y factor B; tiempos de hidrólisis 30 minutos y 4 horas, cada combinación aseguraron la validez de los resultados. Las combinaciones fueron las siguientes (Tabla 1):

Tabla 1. Factores y niveles de estudios

Factor A		Factor B	
Concentración de suero de leche		Tiempos de hidrólisis	
A1	1%	B1	30 minutos
A2	2%	B2	30 minutos
A3	3%	B3	30 minutos
A1	1%	B1	4 horas
A2	2%	B2	4 horas
A3	3%	B3	4 horas

2.3. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño bifactorial completamente al azar y las variables independientes analizadas fueron tiempo y concentración de suero. Se realizó un análisis de varianza (Tabla 2) ANOVA con significancia al 5% y una prueba de Tukey para la comparación de medias. Los resultados fueron analizados y procesados por el programa informático InfoStat.

Tabla 2. Esquema de análisis de varianza

F. V		G.L.
Tratamientos	(r-1)	5
Factor A	a - 1	2
Factor B	b - 1	1
A x B	a x b	2
Error	(t-1) (r-1)	12
Total	(t*r-1)	17

2.4. Métodos de análisis

Hidrólisis enzimática

El proceso de hidrólisis de tipo enzimática del suero de la leche obtenida a partir de suero aislado fue de acuerdo con el método propuesto por Millan et al. (2022) con modificaciones, para lo cual se empleó la enzima comercial proteasa (de *Bacillus sp*, líquida $\geq 16U/g$, Sigma Aldrich) y se planteó las condiciones para obtención del análisis de los factores que influyen en el proceso hidrolítico enzimático, las condiciones en el proceso hidrolítico fue concentración y tiempo.

Para este proceso se utilizó la enzima proteasa en concentración de 50 ppm (Hernández-Ledesma et al., 2005). Luego se disolvió el suero de leche obtenido en el proceso anterior en soluciones buffer pH=9, el pH óptimo para cada tratamiento, alcalino o ácido, fue alcanzado con adiciones de solución de NaOH al 0,1 N y CH₃COOH 0,1 N, respectivamente. Posteriormente se añadió la enzima, inmediatamente cada muestra de hidrólisis se sometió a temperaturas de 50°C, los tiempos de hidrólisis fueron de 1 hora y 4 horas, las condiciones señaladas para las muestras hidrolizadas fueron de acuerdo con el diseño experimental indicado.

Cabe señalar que el pH inicial de cada muestra se mantuvo constante durante todo el proceso de hidrólisis con la adición de gotas de ácido cítrico 0,1N o hidróxido de sodio 0,1N. Concluido el tiempo, la enzima se inactivo por calentamiento de la mezcla a 90°C durante 10 minutos y centrifugación a 4000 rpm. Durante 15 minutos a 25°C, almacenando el sobrenadante a -20°C, hasta su posterior análisis. En la Tabla 3 se detallan los resultados de la hidrólisis para cada muestra.

Determinación de la actividad antioxidante mediante el método del radical catiónico (ABTS●+)

La propiedad antioxidante de los hidrolizados enzimáticos se determinó mediante in vitro de acuerdo con la metodología propuesta por Re et al. (1999) con ligeras variaciones en adaptación a las muestras.

Esta metodología se justifica en la decoloración del radical catiónico (ABTS●+) y se ajusta a una mayor cantidad de sustancias con actividad antioxidante, debido a que puede ser aplicada para sustancias lipófilas e hidrófilas. Se preparó cantidad suficiente de solución stock del radical ABTS●+, para lo cual 19,4 mg del reactivo (ABTS-Sigma-Aldrich®) se disolvió con 2 mL de agua destilada, protegida de la luz, luego se adicionó a la solución 3,3 mg de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) y agua destilada hasta un volumen total de 5 mL, se dejó reaccionar en reposo a temperatura ambiente por un tiempo de 16 horas en frasco ámbar. Por último, se preparó la solución de trabajo, diluyendo la solución stock con volumen necesario de etanol absoluto hasta obtener una absorbancia estable de 0,700±0,02 (absorbancia inicial), previa calibración del equipo.

Las absorbancias se midieron en el espectrofotómetro (YENWAY, 6320D, Rumania) a una longitud de onda de 734 nm. Los hidrolizados se diluyeron a las concentraciones de 15, 37,5, 75, 150, 225 y 300 µg/mL, posteriormente se realizó el ensayo de la actividad antioxidante de las diluciones por triplicado. Asimismo, se realizó la lectura previa del blanco, midiendo las absorbancias en el espectrofotómetro a 734 nm a partir de los 6 minutos de reposo, de esta manera se logró obtener el porcentaje de captación de radicales libres. Se utilizó como estándar de actividad antioxidante positiva el reactivo Trolox (Sigma-Aldrich®) entre las concentraciones de 2,5 – 25 µMol/L, preparadas en las mismas condiciones que las muestras problema.

Se determinó el porcentaje de inhibición o captación de radicales libres, mediante la ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{[(\text{Abs. inicial}) - (\text{Abs. Blanco})]}{\text{Abs. inicial}} \times 100\%$$

Para el cálculo del (IC50) se procedió a realizar las gráficas de las curvas entre la concentración de las muestras y estándares versus el % de inhibición. Se obtuvo la ecuación general para cada gráfica de las muestras evaluadas:

$$y=mx\pm b$$

Al reemplazar valores se obtuvo $IC50 = \frac{50-b}{m}$

Donde:

m : valor de la pendiente de la curva.

b : valor de intercepto en y.

Los resultados se expresaron en valores TEAC (Capacidad Antioxidante en Equivalentes Trolox), valor correspondiente a la concentración de la solución del estándar trolox (μMol) que tiene la capacidad antioxidante equivalente a la muestra para inhibir los radicales catiónicos (ABTS●+) en un tiempo determinado. Se llevó a cabo el cálculo de la Capacidad Antioxidante en Equivalentes Trolox a un tiempo definido de 6 minutos.

Para expresar los resultados en valores TEAC se emplea la ecuación propuesta por Márquez et al. (2014).

$$TEAC = \frac{IC50 \text{ del estándar (Trolox)}}{IC50 \text{ de la muestra del problema}}$$

Donde:

IC50 del estándar (Trolox) = concentración (mmMoles de trolox/litro de solvente) a la cual, el estándar de actividad antioxidante positiva (trolox), inhibe el 50% de los radicales libres en la solución del radical catiónico (ABTS●+).

IC50 de la muestra problema = concentración del hidrolizado (g de hidrolizado/litro de solvente) a la cual inhibe el 50% de los radicales libres en la solución del radical catiónico (ABTS●+).

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

3.1. Hidrólisis

Los resultados indican que la concentración del suero lácteo y el tiempo de hidrólisis son factores determinantes en el proceso de hidrólisis. Las combinaciones de 1% de suero lácteo con 30 minutos y 4 horas de hidrólisis resultaron ser más eficaces de hidrólisis (1,00 a). En contraste, la ausencia de suero lácteo y tiempos de hidrólisis menores mostraron una menor eficiencia en el proceso. La interacción significativa entre los factores indica que el efecto de uno depende del nivel del otro, destacando la importancia de optimizar ambos parámetros.

Al aumentar la concentración del suero 2% y 3% y mantener el tiempo de hidrólisis en 30 minutos, se obtuvo una disminución del grado de hidrólisis obteniéndose valores de 0,46 y 0,32. Cuando se mantuvo la concentración del suero lácteo al 1% pero se incrementó el tiempo hidrólisis a 4 horas, el grado de hidrólisis fue nuevamente de 1,00, indicando un hidrólisis completa sin embargo con concentraciones de suero lácteo del 2% y 3% y un tiempo de hidrólisis de cuatro horas los grados de hidrólisis disminuyeron a 0,71 y 0,65 (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la modificación en las características fisicoquímicas y propiedades funcionales del almidón de zanahoria blanca

Factores		Variable
Concentración Suero lácteo (%)	Tiempo de hidrólisis	Hidrólisis
0%	0 minutos	0,28 ^f
1%	30 minutos	1,00 ^a
2%	30 minutos	0,46 ^c
3%	30 minutos	0,32 ^d
0%	0 minutos	0,31 ^e
1%	4 horas	1,00 ^a
2%	4 horas	0,71 ^b
3%	4 horas	0,65 ^b
Probabilidad	Concentración Suero lácteo (%)	<0,0001*
	Tiempo de hidrólisis	<0,0001*
	Concentración Suero lácteo (%) *Tiempo de hidrólisis	<0,0001*
	CV	4,99
	EEM ±	0,01

* Los promedios con letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

*CV= Coeficiente de variación

EEM= Error estándar de la media

El suero lácteo es conocido por su alta concentración de proteínas y capacidad para influir en los procesos biológicos y químicos. Según Arcan & Yemenicioğlu (2011), el suero lácteo mejora la hidrólisis de la proteína debido a su contenido en lactosa y minerales, que pueden actuar como catalizadores en las reacciones enzimáticas. En nuestro estudio las concentraciones de 1% y 2% mostraron una mayor eficacia en el proceso de hidrólisis, lo cual concuerda con las observaciones de Gagnaire et al. (2009), que indican que una concentración moderada de suero lácteo optimiza las actividades enzimáticas.

El tiempo de hidrólisis también juega un papel crucial en la eficiencia del proceso, el estudio realizado por los autores Irazoqui et al. (2024), en el estudio de enzimas para la producción de hidrolizados de proteínas de suero han mostrado que tiempos de hidrólisis más largos generalmente resulta en una mayor degradación de la proteína, mejorando la disponibilidad de aminoácidos y péptidos (Motta Correa & Mosquera M., 2015). En nuestro estudio, el tiempo de cuatro horas fue más efectivo que el de 30 minutos, especialmente a concentraciones de suero lácteo del 1 y 2%, resulta consistente y guardan relación con los resultados de Hernández-Ledesma et al. (2005) quienes encontraron que extender el tiempo de hidrólisis permite una degradación más completa de las proteínas.

La saturación enzimática ocurre cuando hay una cantidad excesiva del sustrato (en este caso, proteínas del suero lácteo) en relación con la cantidad de enzima disponible para la canalización de la reacción. Este fenómeno es bien documentado en la literatura científica, donde se ha demostrado que altas concentraciones de proteína puede llevar a una inhibición parcial de actividades enzimáticas debido a los efectos de retroalimentación negativa y limitaciones en la disponibilidad de los sitios activos de la enzima. En la figura 1, se puede observar cómo la concentración del suero lácteo influye en el tiempo de la hidrólisis ya que afecta el grado de hidrólisis. Los resultados muestran que la hidrólisis es máxima a una concentración del 1% del suero lácteo, tanto a 30 minutos como a cuatro horas. sin embargo, al aumentar la concentración al 2% de 3% el grado de hidrólisis disminuye, por lo cual puede ser atribuido a la saturación enzimática. Esta representación visual facilita la comprensión de la interacción entre los factores cómo fluyen en el proceso de la hidrólisis.

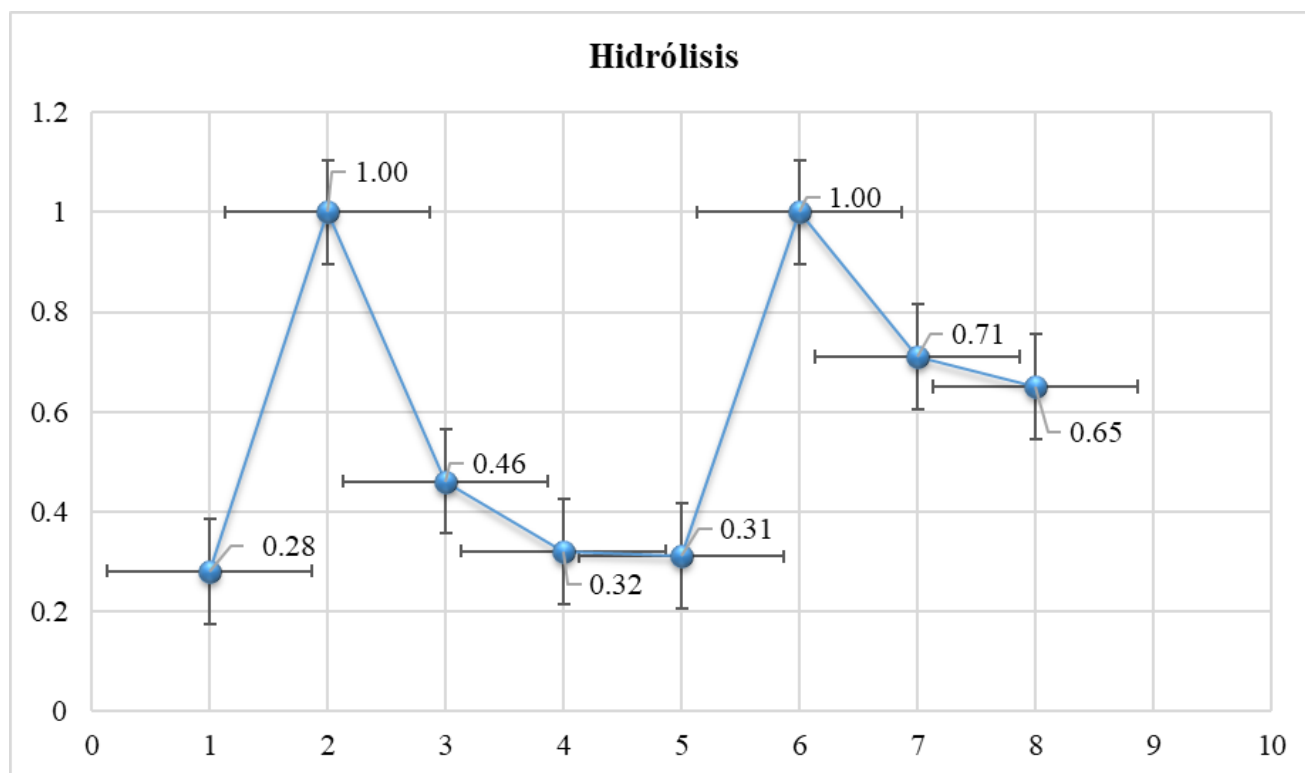


Figura 1. Hidrólisis del suero de leche usando Proteasa de *Bacillus Sp*

Los resultados de la concentración y el tiempo de hidrólisis influyen significativamente en la actividad antioxidante de los hidrolizados del suero lácteo. Se observa que la actividad antioxidante es generalmente más alta a concentraciones más bajas del 1% y disminuye con el aumento de la concentración y el suero lácteo de 2% y 3%. Sin embargo, para el 3% de suero lácteo la actividad antioxidante es ligeramente mayor que para el 2% específicamente a 30% de hidrólisis.

Además, el tiempo de hidrólisis de 4 horas no siempre resulta en mayor actividad antioxidantes en comparación con el tiempo más corto de 30 minutos, lo cual puede ser debido a la posible degradación de los péptidos antioxidantes activos en productos menos activos. La tabla #4 indica un análisis detallado de la actividad antioxidante (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antioxidante del suero de leche usando Proteasa de *Bacillus Sp*

Factores		Variable
Concentración Suero lácteo (%)	Tiempo de hidrólisis	Actividad antioxidante
0%	0 minutos	0,78 ^a
1%	30 minutos	0,7 ^{ab}
2%	30 minutos	0,6 ^c
3%	30 minutos	0,71 ^a
0%	0 minutos	0,81 ^a
1%	4 horas	0,67 ^b
2%	4 horas	0,61 ^c
3%	4 horas	0,68 ^{ab}
Probabilidad	Concentración Suero lácteo (%)	0,0215
	Tiempo de hidrólisis	<0,0001*
	Concentración Suero lácteo (%)*Tiempo de hidrólisis	0,0572
	CV	1,88
	EEM ±	4,10

* Los promedios con letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí, según la prueba de Tukey (P≤0.05)

*CV= Coeficiente de variación

EEM= Error estándar de la media.

La concentración del suero lácteo es un factor determinante en la eficiencia de la hidrólisis enzimática para producir péptidos antioxidantes (Proveda, 2018). Estudios recientes han mostrado que a una mayor concentración de proteínas pueden inhibir la actividad enzimática debido a los efectos de saturación y retroalimentación negativa, lo que disminuye la eficiencia del proceso (Arranz et al., 2019). Además, el tiempo de hidrólisis influye en la generación de péptidos antioxidantes, con una tendencia a la disminución de la actividad antioxidante en tiempos prolongados debido a la degradación de los péptidos.

En la Figura 2, se puede evidenciar que la interacción entre la concentración del suero lácteo y el tiempo de hidrólisis es compleja. A bajas concentraciones, la enzima actúa de manera más eficiente, logrando una hidrólisis casi completa incluso a tiempos más cortos. Sin embargo, en concentraciones más altas es necesario un tiempo adicional para compensar la saturación enzimática y alcanzar los niveles significativos de la hidrólisis (Wong & Chai, 2023).

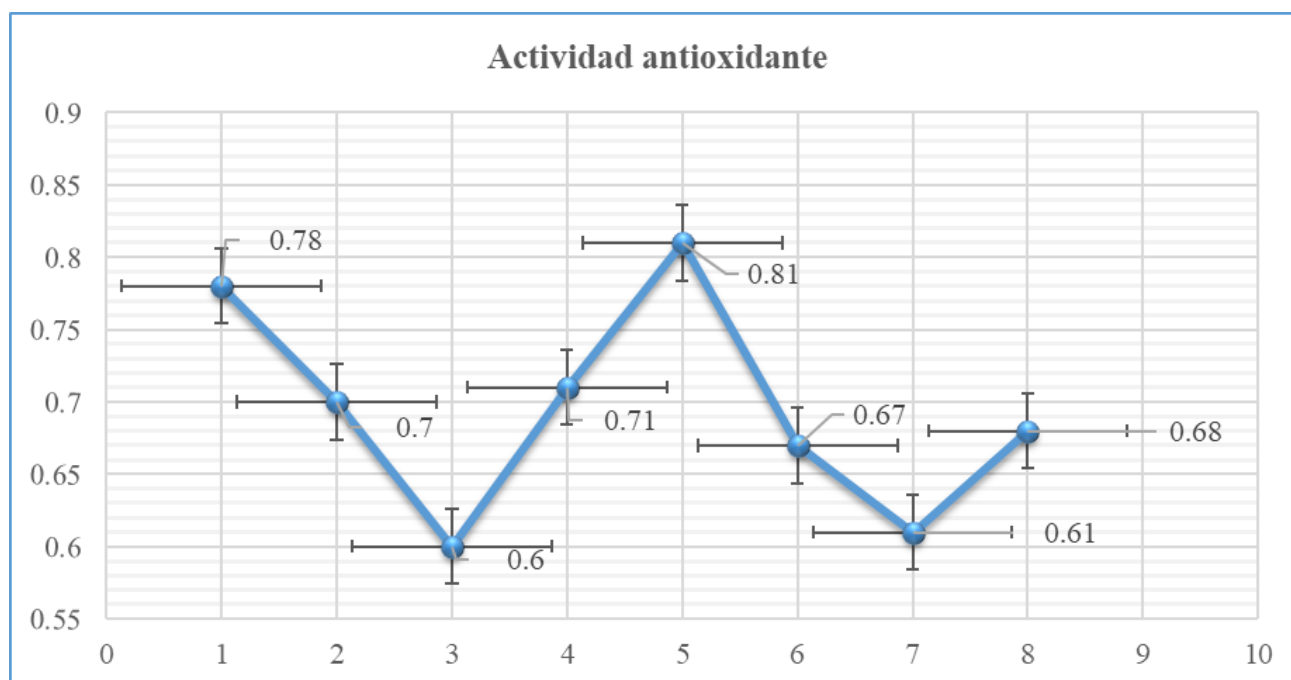


Figura 2. Actividad antioxidante del suero de leche usando Proteasa de *Bacillus Sp*

CONCLUSIONES

Los resultados respaldan el posible potencial de los hidrolizados proteicos de suero de leche como ingredientes funcionales con propiedades antioxidantes. Esta información es relevante para la industria alimentaria, donde la demanda de ingredientes naturales y saludables está en aumento. La aplicación de la proteasa de *Bacillus sp.* en la producción de estos hidrolizados podría ofrecer una alternativa prometedora para desarrollar productos alimenticios funcionales.

La actividad antioxidante observada en los hidrolizados proteicos de suero de leche sugiere que la proteasa derivada de *Bacillus sp.* es capaz de generar péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes. Esto demuestra la eficacia de la enzima en la hidrólisis de las proteínas del suero de leche y la liberación de componentes con capacidad antioxidante.

Se recomienda realizar estudios adicionales para optimizar las condiciones de hidrólisis utilizando la proteasa de *Bacillus sp.* Esto podría implicar la modificación de parámetros como la concentración de enzima, temperatura, pH y tiempo de reacción para maximizar la generación de péptidos antioxidantes. La optimización del proceso ayudaría a mejorar la eficiencia y la calidad de los hidrolizados proteicos resultantes.

FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron patrocinio para llevar a cabo este estudio-artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún tipo de conflicto de interés relacionado con la materia del trabajo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: Viteri-Espinoza, M. A.

Curación de datos: Coloma-Hurel, J. L.

Análisis formal: Otero-Tuárez, V.

Adquisición de fondos: Coloma-Hurel, J. L.

Investigación: Viteri-Espinoza, M. A., Coloma-Hurel, J. L. y Otero-Tuárez, V.

Metodología: Viteri-Espinoza, M. A.

Recursos: Viteri-Espinoza, M. A., Coloma-Hurel, J. L. y Otero-Tuárez, V.

Supervisión: Otero-Tuárez, V.

Validación: Coloma-Hurel, J. L.

Visualización: Viteri-Espinoza, M. A.

Redacción - borrador original: Viteri-Espinoza, M. A., Coloma-Hurel, J. L. y Otero-Tuárez, V.

Redacción - revisión y edición: Viteri-Espinoza, M. A., Coloma-Hurel, J. L. y Otero-Tuárez, V.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arcan, I., & Yemenicioğlu, A. (2011). Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. *Food Research International*, 44(2), 550-556. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.034>
- Arranz, E., Corrochano, A. R., Shanahan, C., Villalva, M., Jaime, L., Santoyo, S., Callanan, M. J., Murphy, E., & Giblin, L. (2019). Antioxidant activity and characterization of whey protein-based beverages: Effect of shelf life and gastrointestinal transit on bioactivity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102209. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102209>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (4.ª ed.). Pearson Educación.
- Calvario, Á., Cruz, J., & Barroso, L. (2019). Caracterización nutrimental y sensorial de una bebida elaborada a base de amaranto, muicle y berries nutritional and sensory characterization of a muicle based beverage that combines amaranto and berries. *Revista Espam Ciencia*, 10(2), 1390-8103.
- Cuca G., M., & Ávila G., E. (2013). *Fuentes de energía y proteínas para la alimentación de las aves* [Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias]. <https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol2/CVv2c12.pdf>
- Cuesta, M., & Muñoz, R. (2010). Extracción de pectina a partir de la corteza de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* degener). *Revista Politécnica*, 31(1), 91-96. https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/195
- Gagnaire, V., Jardin, J., Jan, G., & Lortal, S. (2009). Invited review: Proteomics of milk and bacteria used in fermented dairy products: From qualitative to quantitative advances. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 811-825. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1476>
- Hernández-Ledesma, B., Dávalos, A., Bartolomé, B., & Amigo, L. (2005). Preparation of Antioxidant Enzymatic Hydrolysates from α -Lactalbumin and β -Lactoglobulin. Identification of Active Peptides

- by HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 588-593.
<https://doi.org/10.1021/jf048626m>
- Iraozqui, J. M., Santiago, G. M., Mainez, M. E., Amadio, A. F., & Eberhardt, M. F. (2024). Enzymes for production of whey protein hydrolysates and other value-added products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 354. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13117-2>
- Kilara, A., & Panyam, D. (2003). Peptides From Milk Proteins and Their Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(6), 607-633. <https://doi.org/10.1080/10408690390251138>
- Kleekayai, T., O'Neill, A., Clarke, S., Holmes, N., O'Sullivan, B., & FitzGerald, R. J. (2022). Contribution of Hydrolysis and Drying Conditions to Whey Protein Hydrolysate Characteristics and In Vitro Antioxidative Properties. *Antioxidants*, 11(2), 399. <https://doi.org/10.3390/antiox11020399>
- León, A., Rosati, V. Tonetti, G. (2022). Evaluación de la capacidad antioxidante de diferentes extractos de Cannabis sativa. *Sociedad Española de Fitoterapia*. <https://www.sefit.es/actividad-antioxidante-semilla-canamo-cannabis-sativa/>
- Lermen, A. M., Clerici, N. J., Borchardt Maciel, D., & Daroit, D. J. (2023). Characterization and application of a crude bacterial protease to produce antioxidant hydrolysates from whey protein. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 53(1), 12-21. <https://doi.org/10.1080/10826068.2022.2033997>
- Mansinbhahi, C. H., Sakure, A., Maurya, R., Bishnoi, M., Kondepudi, K. K., Das, S., & Hati, S. (2022). Significance of whey protein hydrolysate on anti-oxidative, ACE-inhibitory and anti-inflammatory activities and release of peptides with biofunctionality: an in vitro and in silico approach. *Journal of Food Science and Technology*, 59(7), 2629-2642. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05282-3>
- Márquez, C., Otero, C., Rojano, B., & Osorio, J. (2014). Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (Cyphomandra betacea s.) en poscosecha. *Temas Agrarios*, 19(2), 173-184. <https://doi.org/10.21897/rta.v19i2.732>
- Millan, G. C. L., Veras, F. F., Stincone, P., Paillè-Jiménez, M. E., & Brandelli, A. (2022). Biological activities of whey protein hydrolysate produced by protease from the Antarctic bacterium *Lysobacter* sp. A03. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43, 102415. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102415>
- Motta Correa, Y. O., & Mosquera M., W. J. (2015). Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 13(1), 81-91. <https://ojs.unipamplona.edu.co/index.php/alimen/article/view/1599>
- Proveda, E. (2018). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(4), 397-403. <https://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v40n4/art11.pdf>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Schmidt-Hebbel, H. (2010). *Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos* (1.ª ed.). Aplicaciones y Comentarios de Orden Químico y Tecnológico.
- Wong, F.-C., & Chai, T.-T. (2023). Bioactive Peptides and Protein Hydrolysates as Lipoygenase Inhibitors. *Biology*, 12(7), 917. <https://doi.org/10.3390/biology12070917>
- Zuluaga Arroyave, N. (2017). *El análisis sensorial de alimentos como herramienta para la caracterización y control de calidad de derivados lácteos* [Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/62784>