



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

**DESARROLLO DE BEBIDAS PARA DEPORTISTAS A BASE DE
SUERO LÁCTEO MEDIANTE MEMBRANAS DE FILTRACIÓN Y SU
EVALUACIÓN SENSORIAL**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS: PRODUCTOS NATURALES Y ALIMENTOS

PRESENTA

L.N. VIVIANA MAYA SERNAS

DIRECTOR DE TESIS

DRA. PAULA CECILIA GUADARRAMA MENDOZA

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. ROGELIO VALADEZ BLANCO

HUAJUAPAN DE LEÓN, OAXACA. MÉXICO. JULIO DEL 2021

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioprocesos, en el edificio de Productos Naturales y Alimentos en la Universidad Tecnológica de la Mixteca con el apoyo de una beca (No. 939805) para estudiar la Maestría en Ciencias: Productos Naturales y Alimentos, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), así como un apoyo alterno enfocado principalmente a mujeres investigadoras indígenas.

Como parte de la investigación se realizó el análisis de minerales por el método ICP-OES, en el laboratorio de instrumentación en la Universidad de la Sierra Juárez (UNSIJ), Av. Universidad s/n, Ixtlán de Juárez, bajo la supervisión de la Dra. Elizabeth González Terreros.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Tecnológica de la Mixteca por la oportunidad que me dio para crecer como profesionista y aportar los medios necesarios para tener un excelente aprendizaje.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico para realizar los estudios de posgrado, así como de sus programas alternos enfocados principalmente a mujeres investigadoras indígenas.

Agradezco mucho a mi madre Florinda Sernas y mis hermanas por su apoyo incondicional y alentarme para continuar con mi crecimiento a nivel profesional y ser una persona con valores.

A los profesores la Dra. Paula Cecilia, la Dra. Ludmila, la Dra. Thalía y muy especialmente al Dr. Rogelio Valadez por su confianza en mí, por sus consejos y, sobre todo, por guiarme con sus enseñanzas hasta terminar con éxito este proyecto.

De igual manera, a mis compañeros de laboratorio Ernestina, Ángela, José Luis, Ricardo y mi muy querida amiga Alba por sus consejos personales y lo más importante por la amistad brindada.

A la Dra. Elizabeth y la Dra. Aida por su tiempo y su apoyo como evaluador en este proyecto.

Finalmente, a los profesores que formaron y forman parte de la división de estudios de postgrado de la maestría de Productos Naturales y Alimentos, ya que fueron un ejemplo e inspiración para continuar aprendiendo y crecer a nivel profesional.

RESUMEN

Como parte del proyecto Proinnova Conacyt-Procesadora de Lácteos La Nona 2016 No. 233114, se desarrolló una bebida probiótica a partir de proteínas de suero lácteo obtenidas mediante filtración por membranas. En este estudio, se aprovecharon las fracciones ricas en lactosa y proteínas del suero lácteo retenidos en los procesos de microfiltración (MF) y ultrafiltración (UF). Sin embargo, el permeado del proceso de la UF no fue utilizado anteriormente, por lo que fue materia prima para un nuevo proceso de filtración de membranas conocido como ósmosis inversa. El retenido obtenido en este último proceso se utilizó para el desarrollo de una bebida isotónica para deportistas. Se realizaron tres formulaciones variando el tipo de hidrato de carbono y se realizó una evaluación sensorial previa.

El desarrollo de la bebida para deportistas inició con el suministro de suero lácteo por la empresa procesadora de lácteos La Nona S. de P.R. de R. L, el cual fue sometido a procesos previos de microfiltración y ultrafiltración para la retención de grasas y proteínas. Después fue filtrado por ósmosis inversa para obtener un concentrado mineral. Se realizaron análisis proximales del suero inicial, así como a cada fracción obtenida de los procesos de filtración por membranas. Los resultados de la caracterización fisicoquímica del suero, así como de las fracciones retenidas fueron favorables para que se procediera a diseñar 3 formulaciones de bebidas para deportistas variando el tipo de hidrato de carbono. Los hidratos de carbono añadidos en las tres formulaciones desarrolladas fueron glucosa, fructosa, sacarosa, maltodextrina y edulcorante no calórico. Se realizó una evaluación sensorial de nivel de agrado a nivel laboratorio con 16 jueces no entrenados utilizando una escala hedónica de 5 puntos a las bebidas desarrolladas. Los resultados de la evaluación mostraron que no existe una diferencia significativa entre las formulaciones de bebidas para deportistas desarrolladas en comparación con la bebida comercial Gatorade® Performance, por tanto, todas las formulaciones tendrían una buena posibilidad de que la población en general, principalmente por las personas que realizan actividad física lo consuman favorablemente.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES	3
2.1 Bebida para deportistas	3
2.1.1 Definición de bebida para deportista.....	3
2.1.2 Clasificación.....	3
2.1.3 Mecanismos fisiológicos durante la actividad física	4
2.2 Ingredientes de las bebidas para deportistas	8
2.2.1 Electrolitos	8
2.2.2 Hidratos de carbono	8
2.2.3 Otros ingredientes	12
2.3 Formulaciones de bebidas para deportistas y evaluación sensorial	13
2.3.1 Formulaciones de bebidas comerciales para deportistas.....	14
2.3.2 Aspectos sensoriales y su evaluación.....	15
2.3.3 Formulaciones de bebidas para deportistas a partir de productos naturales	18
2.4 Suero lácteo.....	20
2.4.1 Generalidades	20
2.4.2 Composición.....	20
2.4.3 Utilización del suero lácteo en la industria alimentaria	21
2.4.4 Uso del suero lácteo en la elaboración de bebidas	23
2.5 Fundamentos de las tecnologías de membranas de filtración.....	24
2.5.1 Tipos de membranas.....	26
.....	27
2.5.2 Características de los procesos de filtración por membranas.....	27
2.5.3 Uso de tecnologías de membranas para la separación de proteínas y sales minerales a partir de suero lácteo	32
2.5.4 Aplicaciones de ósmosis inversa para el tratamiento del suero lácteo.....	34
2.5.5 Análisis de minerales en muestras biológicas mediante el uso de espectrometría de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES)	35
CAPÍTULO 3. MARCO CONCEPTUAL DE LA TESIS	38
3.1 Justificación	38
3.2. Originalidad	39
3.3. Objetivos	40

3.3.1 Objetivo general.....	40
3.3.2 Objetivos Específicos.....	40
3.4. Metas del trabajo.....	41
CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA.....	42
4.1. Obtención de la materia prima.....	43
4.2 Caracterización fisicoquímica del suero lácteo.....	43
4.2.1 Análisis proximales del suero lácteo.....	43
4.2.2. Cuantificación de azúcares reductores totales.....	46
4.2.3. Medición de lactosa en el suero lácteo.....	46
4.3. Obtención del concentrado de sales minerales y azúcares provenientes del suero lácteo.....	47
4.3.1 Proceso de microfiltración.....	48
4.3.2 Proceso de ultrafiltración.....	49
4.3.3 Proceso de ósmosis inversa (OI).....	50
4.3.4. Análisis fisicoquímicos de las fracciones obtenidas en los procesos de micro y ultrafiltración.....	55
4.3.5. Caracterización fisicoquímica de las fracciones del proceso de ósmosis inversa.....	55
4.4 Elaboración de bebida para deportistas a partir del concentrado de suero lácteo.....	55
4.4.1 Tratamiento del retenido de ósmosis inversa con carbón activado.....	55
4.4.2. Preparación de la solución isotónica base.....	56
4.4.3. Cuantificación de minerales utilizando el método de espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES).....	57
4.4.4. Desarrollo de las distintas formulaciones de bebidas para deportistas variando el tipo de carbohidrato.....	59
4.5 Evaluación Sensorial.....	62
4.6 Análisis Estadístico.....	62
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
5.1 Análisis de la materia prima.....	63
5.2 Proceso de microfiltración y ultrafiltración.....	64
5.2.1 Microfiltración.....	64
5.2.2 Ultrafiltración.....	64
5.3 Análisis de la distribución de los componentes nutrimentales principales en los procesos de micro y ultrafiltración.....	66

5.3.1 Análisis de la distribución de las proteínas	66
5.3.2 Análisis de la distribución de azúcares reductores totales (ART).....	69
5.3.3 Análisis de la distribución de lactosa	71
5.3.4 Análisis de la distribución de las sales minerales	73
5.4 Proceso de ósmosis inversa (OI).....	75
5.4.1. Efecto de la configuración de flujo del proceso de OI en el flux del permeado .	75
5.5 Consideraciones nutricionales de la bebida para deportistas	79
5.6 Formulación de la bebida para deportistas.....	80
5.6.1 Preparación de la solución isotónica	80
5.6.2 Preparación de las formulaciones de la bebida para deportistas, variando el tipo de carbohidratos	82
5.7 Evaluación Sensorial por prueba de nivel de agrado	84
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	87
PERSPECTIVAS.....	89
REFERENCIAS	90
ANEXOS	100

ÍDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de las bebidas para deportistas según el tiempo de ingesta y actividad deportiva (7)	4
Tabla 2. Objetivos buscados en la formulación de bebidas para deportistas y su importancia fisiológica (41).....	13
Tabla 3. Composición de algunas bebidas para deportistas comerciales (4,10,40).....	14
Tabla 4. Ejemplo de escala hedónica de 9 puntos (45).....	18
Tabla 5. Empleo del suero lácteo o de sus componentes como ingrediente funcional en la industria alimentaria (58).....	22
Tabla 6. Comparación de las características y mecanismo de separación de los procesos de filtración por membranas más comunes (71)	28
Tabla 7. Recomendación de la cantidad de azúcares y minerales que debe tener una bebida isotónica para deportistas para su consumo durante la actividad física (8,41).....	56
Tabla 8. Concentración de minerales en el permeado de ultrafiltración reportado por Cuartas-Uribe et al. (92).....	56
Tabla 9. Formulaciones propuestas para la elaboración de las bebidas para deportistas variando el contenido y tipo de azúcares.....	60
Tabla 10. Composición del suero lácteo utilizado en el presente trabajo como materia prima en comparación con el suero ácido de otros trabajos	63
Tabla 11. Análisis proximal del suero lácteo en las diferentes fracciones de los procesos de micro y ultrafiltración.....	65
Tabla 12. Composición química de los componentes principales del suero lácteo en las diferentes fracciones de los procesos de micro y ultrafiltración	66
Tabla 13. Factor de concentración y coeficiente de rechazo de los principales componentes nutrimentales del suero en los procesos de micro y ultrafiltración	67
Tabla 14. Concentración de lactosa en el suero lácteo y en las fracciones obtenidas en los procesos de micro y ultrafiltración	71
Tabla 15. Factor de concentración de los principales componentes nutrimentales en el retenido de ósmosis inversa en la configuración normal.....	76
Tabla 16. Análisis proximal del proceso de filtración del suero lácteo por ósmosis inversa	78

Tabla 17. Comparación de la estimación del contenido de minerales en la fracción de suero lácteo retenida en el proceso de ósmosis inversa con base a los datos de Cuartas-Uribe et al. (92) y la concentración obtenida del análisis ICP-OES	80
Tabla 18. Contenido de azúcares añadidos en las diferentes formulaciones de las bebidas para deportistas	84
Tabla 19. Comparaciones en parejas de Tukey de las formulaciones para deportistas desarrolladas y una bebida comercial Gatorade®	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema que representa el equilibrio hídrico entre los compartimientos principales de líquidos en el organismo (18)	6
Figura 2. Estructura química de los azúcares a) glucosa y b) fructosa.....	10
Figura 3. Estructura química de las maltodextrinas de tipo lineal	11
Figura 4. Esquema del procesamiento de una suspensión biológica usando las diferentes tecnologías por membranas categorizadas según su rango de separación y característica (68)	25
Figura 5. Clasificación de las membranas de acuerdo a su naturaleza sintética (68,75).....	27
Figura 6. Esquema básico de la configuración del proceso de filtración por membranas con flujo normal	29
Figura 7. Esquema básico de la configuración del proceso de filtración por membranas con flujo tangencial (74,112).....	30
Figura 8. Mecanismo de separación en el procesos de membranas de ósmosis inversa (113)34	
Figura 9. Diagrama de los componentes más importantes que conforma el equipo ICP-OES	36
Figura 10. Diagrama de flujo general del proceso de elaboración de la bebida para deportistas seguido en este trabajo. MF, microfiltración; UF, ultrafiltración; OI, ósmosis inversa	42
Figura 11. Procesamientos realizados para la determinación de proteína en el suero lácteo: a) Digestión de la muestra; b) Destilación de la muestra; c) Titulación de la muestra	45
Figura 12. Diagrama de flujo de los procesos de membrana empleados para la obtención del concentrado de sales minerales y azúcares a partir del suero lácteo. Clave: MF, microfiltración; UF, ultrafiltración; OI, ósmosis inversa; prefijos: P, permeado; R, retenido	48
Figura 13. Diagrama de la configuración del proceso de membranas en el modo de concentración con recirculación de la alimentación.....	49
Figura 14. Sistema de microfiltración empleado para el procesamiento inicial del suero lácteo. a) Cartucho de membrana de microfiltración Cassette Durapore Pellicon 2 Mini de 0.45 μm con 0.1 m^2 de área filtrante; b) Procesamiento de microfiltración del suero lácteo	49

Figura 15. Sistema de ultrafiltración usando una membrana Millipore Ultracel Pellicon 2 Mini de 10 kDa con 0.1 m ² de área filtrante.....	50
Figura 16. Diagrama del sistema de ósmosis inversa METcell Cross-Flow System en la configuración de flujo normal	51
Figura 17. Sistema de filtración de ósmosis inversa METcell Cross-Flow System configurado en el modo de flujo normal usando una membrana de OI Trisep®	51
Figura 18. Diagrama del sistema METcell Cross-Flow del proceso de ósmosis inversa en la configuración de flujo tangencial. P, representa la salida del permeado.....	53
Figura 19. Colocación del disco de la membrana en posición a la celda de filtración. a) Membrana de OI Trisep®; b) Posición de la membrana de OI con la capa activa en contacto con la solución; c) Colocación de un soporte de disco de acero inoxidable poroso encima de la membrana de OI para mantenerla en su lugar	53
Figura 20. Equipo de filtración por membranas de ósmosis inversa (METcell Cross-Flow System), usando la configuración de modo de flujo tangencial. P, colección del permeado	54
Figura 21. Balance de proteínas en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo	68
Figura 22. Balance de azúcares reductores en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo.....	70
Figura 23. Balance de lactosa en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo .	72
Figura 24. Balance del contenido de minerales en los procesos de micro y ultrafiltración	74
Figura 25. Ejemplos del comportamiento del flux durante el proceso de filtración por ósmosis inversa usando las configuraciones del flujo normal y flujo tangencial.....	77
Figura 26. Porcentaje del nivel de agrado según la escala hedónica de las tres formulaciones de bebidas para deportistas y la bebida comercial Gatorade® por evaluadores no entrenados	85

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Durante el ejercicio, un aspecto relevante para optimizar el rendimiento deportivo es la correcta hidratación del cuerpo. En este sentido, aunque el agua simple es el sustituto de fluidos más común, existen bebidas para deportistas (bebidas isotónicas y bebidas de recuperación) que además de ser sustituto de líquidos, son diseñadas para proporcionar al atleta un balance de minerales que se pierden a través del sudor. Adicionalmente estas bebidas están adicionadas con una fuente adecuada de hidratos de carbono que sirven como suministro de energía para una mayor resistencia y rendimiento físico del deportista.

Durante la actividad física, los hidratos de carbono, especialmente la glucosa, son los principales sustratos energéticos utilizados por el organismo para la contracción muscular y su importancia se ve incrementada a medida que se aumenta la intensidad del ejercicio. Asimismo, la reserva y utilización de glucosa dependen de la velocidad en la que la glucosa es formada y llevada a la circulación sanguínea. Debido a esto, las bebidas para deportistas comerciales que los atletas ingieren antes, durante o después del entrenamiento, regularmente contienen azúcares y electrolitos agregados.

Por otra parte, se ha investigado en la literatura el efecto del tipo carbohidratos con relación al rendimiento deportivo cuando se ingieren durante la actividad física. Algunos autores sugieren el empleo de una mezcla de glucosa, fructosa, sacarosa y la maltodextrina, producen un menor aumento de osmolalidad, así como un aumento en la oxidación muscular.

De acuerdo a nuestra investigación, la mayoría de las bebidas para deportistas en el mercado están formuladas a partir de ingredientes sintéticos. Existen pocos reportes en la literatura sobre el desarrollo de bebidas para deportistas a partir de fuentes naturales como el suero lácteo, el cual se sabe que es rico en sales minerales. Debido a la alta concentración de sales minerales del suero lácteo, en este trabajo se plantea el uso de este suero para la elaboración de bebidas para deportistas.

El suero lácteo es una excelente fuente de nutrientes. Los principales nutrientes que contiene el suero son algunos péptidos bioactivos definidos como fracciones proteicas, lípidos, carbohidratos, sales minerales y vitaminas del grupo B (tiamina, riboflavina, piridoxina, cobalamina, ácido pantoténico) así como también el ácido ascórbico. A lo largo de los años se han adoptado varias tecnologías para transformar grandes volúmenes de éste para la producción de diversos productos para uso industrial como confitería, panadería,

industria cárnica, entre otros. En la última década, una de las tecnologías con mayor aplicación y rentabilidad para el acondicionamiento de fuentes ricas en sales minerales es la filtración por membranas. El fundamento de la filtración por membranas es la separación basada en el tamaño de partícula y en el peso molecular de las sustancias a separar.

Por todo lo anterior, el siguiente trabajo está enfocado a la formulación de tres bebidas para deportistas variando el tipo de azúcar, utilizando un concentrado mineral de suero lácteo, recuperado a partir de la utilización de tecnologías de membranas de microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa. Adicionalmente en este trabajo se pretende realizar una evaluación sensorial de las bebidas desarrolladas comparándolas con una bebida comercial, para explorar con esto la aceptación de los productos desarrollados para el público en general.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1 Bebida para deportistas

2.1.1 Definición de bebida para deportista

El agotamiento de las reservas de glucógeno, así como la pérdida de electrolitos y agua, son los factores principales que contribuyen al inicio de la fatiga y bajo rendimiento durante el ejercicio y/o el entrenamiento. Para evitar esta condición, se recomienda que el atleta ingiera bebidas antes, durante o después del ejercicio y de esta manera mejore su rendimiento (1). Estas bebidas se denominan en la literatura “bebidas para deportistas” o “bebidas deportivas”. En este trabajo se utilizará el primer término para referirse a este tipo de bebidas. Gran parte del desarrollo de estas bebidas tiene como objetivos hidratar a los atletas aportando los electrolitos perdidos en el sudor así como mejorar el rendimiento deportivo aportando hidratos de carbono (HC) agotados durante el ejercicio (2). El mercado de bebidas para deportistas constituye una gran industria que sigue creciendo continuamente. Las empresas que se dedican a la elaboración de estas bebidas han dirigido sus productos no sólo a los adultos jóvenes, sino también a niños y adolescentes (3).

A pesar de su importancia, actualmente todavía no hay una descripción o criterio universalmente aceptado de las bebidas para deportistas. Sin embargo, en México la definición más aceptada es la que marca la norma oficial mexicana NOM-218-SSA1-2011, en la cual se describe que las “bebidas para deportistas son bebidas saborizadas no alcohólicas elaboradas principalmente a partir de sales minerales, hidratos de carbono, agua y en ocasiones algunos otros nutrientes como vitaminas y antioxidantes, que son consumidas para la realización de deporte o ejercicio con el fin de reponer el agua, energía y electrolitos perdidos por el cuerpo humano” (4–6). En la actualidad, los atletas que participan en actividades deportivas vigorosas y prolongadas generalmente toman bebidas para deportistas para ayudar a aumentar la energía y mejorar el enfoque mental (7).

2.1.2 Clasificación

Durante la actividad física, en deportes con una duración menor a una hora, los organismos reguladores internacionales recomiendan que las bebidas para deportistas no deben pasar la concentración de hidratos de carbono del 6-9% (1,8). El aporte total de

hidratos de carbono en las bebidas para deportistas, va dirigido principalmente a aumentar la energía disponible, y adicionalmente a mejorar la palatabilidad de la bebida (9). Las bebidas para deportistas se pueden clasificar de acuerdo a su contenido de hidratos de carbono como bebidas con baja concentración de carbohidratos (<10%) y bebidas de alta concentración de carbohidratos (>10%) (10).

Por otra parte, diversos estudios han demostrado que las bebidas para deportistas tienen propiedades beneficiosas de reabastecimiento electrolítico durante periodos prolongados de tiempo. De acuerdo al momento de la ingesta de las bebidas para deportistas, éstas pueden ser clasificadas como bebidas hipotónicas, para su consumo antes del ejercicio, bebidas isotónicas para consumo durante el ejercicio y bebidas ligeramente hipertónicas, para su consumo después del ejercicio (Tabla 1). De acuerdo a lo anterior, para que la hidratación sea adecuada durante la realización de la actividad física en competencias, las bebidas para deportistas deben ser isotónicas (200-320 miliosmol (MOSM)/Kg agua) [6, 9].

Tabla 1. Características de las bebidas para deportistas según el tiempo de ingesta y actividad deportiva (7)

Antes del ejercicio	Durante el ejercicio	Después del ejercicio
Isotónica o ligeramente hipotónica	Isotónica	Hipertónica
4-6 % azúcares	6-9% azúcares	9-10% azúcares
0.5 g Na ⁺ /L	0.6-0.9 g Na ⁺ /L	1-1.5g Na ⁺ /L

2.1.3 Mecanismos fisiológicos durante la actividad física

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la actividad física como cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que requiere un gasto de energía. Durante el ejercicio, los movimientos de contracción y relajación del músculo esquelético suponen un consumo de energía por parte de las células musculares. La energía requerida se obtiene por medio del metabolismo celular a partir de sustratos que proceden de las reservas del organismo y que a su vez son suministradas por medio de la ingesta diaria de nutrientes (12).

Los alimentos están compuestos principalmente de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Cuando las moléculas de los alimentos (proteínas, hidratos de carbono, grasas) son hidrolizadas a través del proceso digestivo, éstas liberan energía dentro de las células en forma de trifosfato de adenosina (ATP), una molécula altamente energética. En un estado de reposo, la energía que el cuerpo necesita se obtiene principalmente de la descomposición de hidratos de carbono y de grasas (13). Los hidratos de carbonos aportan aproximadamente 40% de los requerimientos totales de energía del cuerpo. Las reservas de éstos en el hígado y en el músculo esquelético están limitadas a menos de 2000 kcal de energía que es el equivalente a la energía necesaria para correr aproximadamente 32 km (14).

En el ejercicio intenso la glucosa sanguínea se agota rápidamente, por lo tanto, conforme ésta se va utilizando se debe suministrar nuevamente a partir de los depósitos de glucógeno del hígado. Este mecanismo es activado por la adrenalina que es una hormona secretada durante el ejercicio por la glándula suprarrenal. La adrenalina estimula la liberación de glucosa en el hígado y también acelera el uso de glucógeno en el músculo (15). Los ejercicios prolongados de intensidad elevada como la natación, el fútbol o el atletismo de alto nivel de competición pueden reducir las reservas de hidratos de carbono del cuerpo, contribuyendo así al agotamiento físico. Después de una hora y media o dos horas de ejercicio intenso, las reservas de glucógeno se agotan, por lo que se genera la necesidad fisiológica de reabastecer la energía perdida al organismo (13,16). No obstante, la recomendación de la cantidad de azúcares que se debe consumir durante el ejercicio es del 6-8%. Esta concentración es sugerida para las bebidas para deportistas (17).

Por otro lado, de manera fisiológica normal cuando se ingiere agua la circulación sanguínea la absorbe y se promueve un intercambio en dos sentidos, entre la sangre y el líquido intersticial, así como el líquido intersticial y el líquido intracelular. El exceso de líquido intersticial es recogido por el sistema linfático, que lo regresa a la circulación sanguínea (18) (Figura 1). Cada vez que la ingesta de líquidos se ve limitada o se produce una gran pérdida de agua no compensada, se reduce el volumen de plasma y aumenta la concentración de sodio en el organismo. Si tales deficiencias de agua no se reponen inmediatamente, el agua intracelular sale para mantener el equilibrio osmótico. Este fenómeno produce deshidratación intracelular que fisiológicamente se manifiesta en el

organismo como sed, debilidad física y coordinación motora anormal. Para el estudio de estos fenómenos se utiliza el término de osmolalidad¹, que es un parámetro usado en la formulación de bebidas para deportistas que permite conocer la carga de electrolitos de la bebida. De modo que, para la formulación de bebidas para deportistas se debe considerar una osmolalidad adecuada, para que la bebida ayude a lograr la hidratación adecuada del cuerpo evitando el desequilibrio osmótico en el organismo. En este sentido, se ha demostrado que las bebidas para deportistas tienen propiedades beneficiosas de reabastecimiento hidroelectrolítico durante y después de cualquier ejercicio durante periodos prolongados de tiempo (19,20).

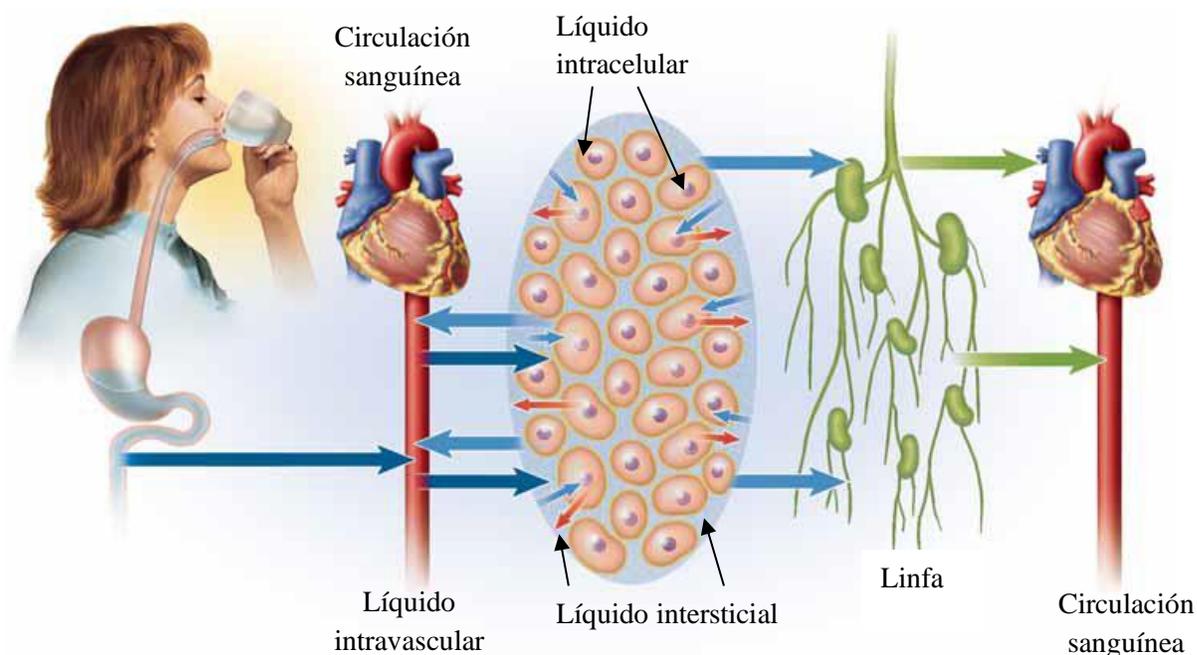


Figura 1. Esquema que representa el equilibrio hídrico entre los compartimientos principales de líquidos en el organismo (18)

De acuerdo con lo anterior, la ingestión de una bebida durante el ejercicio puede ser eficaz para mejorar el rendimiento físico del deportista en la medida en que ésta ayude a

¹ Osmolalidad: Cantidad de osmoles por kilogramo de agua. Un osmol es el número de Avogadro de partículas de soluto. Una prueba de osmolalidad mide la cantidad de partículas disueltas en un líquido, como puede ser sodio, potasio, urea y glucosa en sangre u orina.

reducir o regular los cambios inducidos por el ejercicio en la homeostasis² del cuerpo. Entre estos cambios, los más importantes incluyen la deshidratación y la disminución de la energía muscular disponible. Considerando lo anterior, la ingesta de hidratos de carbono así como la correcta hidratación del cuerpo durante el ejercicio, ayudan a mejorar el rendimiento en ejercicios de resistencia y retrasan la fatiga en eventos que requieren una intensidad de moderada a alta durante más de 45 min (21,22).

2.1.3.1 Regulación del vaciamiento gástrico

El vaciado gástrico es una respuesta fisiológica que se produce en el estómago para una óptima digestión y absorción de los componentes de los alimentos ingeridos. En la actividad física, este proceso es un paso fundamental para la liberación de carbohidratos y fluidos exógenos hacia el músculo activo (23,24). La velocidad del vaciamiento del quimo se ve modificada de acuerdo a las propiedades físicas y químicas del alimento ingerido: los líquidos isotónicos se vacían más rápido que los hipertónicos e hipotónicos. El ritmo con el que se regula el vaciado gástrico se debe a diversos estímulos duodenales. Los factores principales que influyen en el vaciado gástrico son el volumen de los alimentos o bebidas ingeridas y el contenido calórico de éstas, así como la acidez elevada o la presencia de productos de la digestión de las proteínas (aminoácidos o péptidos) (23). Normalmente, para las dietas ricas en carbohidratos el tiempo de absorción es menor a dos horas. Los alimentos ricos en proteínas se absorben entre 2 a 4 horas, y en el caso de las grasas, al ser moléculas de alta densidad energética, el tiempo de absorción se eleva a más de 4 horas (25).

La mayoría de los individuos adultos que mantienen un volumen líquido gástrico de 600 mL con concentraciones de 4 a 8% de carbohidratos, pueden vaciar poco más de 1000 mL/h. Esta velocidad de vaciamiento es deseable en condiciones normales, incluso pudiendo tardar en vaciar un litro entre 1 a 1.5 horas. No obstante, a medida que el volumen va disminuyendo la evacuación se hace más lenta, por lo que para mantener un ritmo de vaciamiento gástrico adecuado se debe reponer las cantidades eliminadas mediante la ingestión repetida de líquidos (26).

² Homeostasis: Conjunto de mecanismos de regulación, relacionados con la capacidad del organismo para adaptarse o evolucionar. Estado de equilibrio entre todos los sistemas del cuerpo.

Se estima que la absorción intestinal óptima del agua es de 600 a 800 mL/h, mientras que la de la glucosa es de 60 g/h (aproximadamente 8% de carbohidratos en 750 mL de solución). Para una correcta rehidratación en los deportistas, es recomendable no ingerir cantidades superiores a 1L de líquido por hora, debido a que los excedentes pueden acumularse en el intestino delgado y el colon lo que podrían producir trastornos gastrointestinales en el deportista disminuyendo su rendimiento (26).

2.2 Ingredientes de las bebidas para deportistas

2.2.1 Electrolitos

Durante la actividad física los músculos generan calor que se disipa hacia el medio ambiente para lograr mantener una temperatura corporal de entre 36 y 36.5 °C. Este proceso fisiológico conduce a una pérdida de líquidos y minerales en el organismo a través de la sudoración, mismos que se deben recuperar para restablecer la homeostasis del organismo (27). Sin embargo, cuando la temperatura interna supera los 40°C, se acelera la sensación de fatiga y la necesidad de la suspensión de la actividad física. Debido a esto, las bebidas para deportistas están formuladas con electrolitos (principalmente sodio y potasio) para mantener una osmolaridad parecida a la sanguínea, ayudando a mantener el equilibrio hídrico del cuerpo (28).

La cantidad de líquidos perdidos a través del sudor varía dependiendo de la intensidad de la actividad física y de la temperatura ambiental. La tasa de sudoración es normalmente de 100 mL/día; sin embargo, en un clima muy cálido o durante un ejercicio intenso, la pérdida de agua en el sudor puede aumentar hasta 1-2 L/h. Durante el ejercicio, el sodio es el electrolito que más se pierde a través del sudor, mientras que el potasio se pierde en menor cantidad. No obstante, el potasio es uno de los cationes más importantes para restablecer de forma importante el volumen intersticial durante la rehidratación (Figura 1) (29).

2.2.2 Hidratos de carbono

En la dieta habitual del ser humano, entre los diferentes hidratos de carbono que consumimos, se pueden destacar los monosacáridos (glucosa, fructosa y galactosa), los disacáridos (maltosa, sacarosa y lactosa) y algunos polímeros de glucosa como las

maltodextrinas y el almidón. Las diferencias en la estructura química de los hidratos de carbono, así como su osmolaridad pueden afectar la palatabilidad, la digestión y la absorción de estos en el organismo. A pesar de que la glucosa, la sacarosa, las maltodextrinas y el almidón no reportan diferencias en cuanto al rendimiento físico del deportista, la utilización exclusiva de fructosa puede provocar alteraciones intestinales y entorpecer la absorción del agua (8). También hay que tener en cuenta que las maltodextrinas, y en menor grado la glucosa, tienen un sabor menos dulce y un dulzor distinto que la sacarosa y la fructosa. Adicionalmente, el tipo de carbohidrato ingerido también tiene un efecto específico en la inducción de la liberación de hormonas (como la insulina) y la disponibilidad de la glucosa para ser oxidada en el músculo. Los hidratos de carbono simples se descomponen de manera más rápida para convertirse en energía, mientras que los carbohidratos complejos, su aporte de energía es gradual lo que favorece un nivel mayor de saciedad (8).

El contenido de hidratos de carbono en las bebidas deportivas y energéticas comerciales varía ampliamente de acuerdo a la marca e incluso al país. Estas bebidas contienen en general de 2 a 19 g/0.24 L de hidratos de carbono principalmente glucosa y fructosa. Varias investigaciones han demostrado que una bebida deportiva compuesta de 4 a 8% (m/v) de hidratos de carbono es vaciada por el estómago de manera más eficiente y absorbida más fácilmente por el intestino delgado. Añadir hidratos de carbono en las bebidas para deportistas permite una absorción más rápida del agua y el sodio, además de que disminuye el consumo de glucógeno muscular [3, 19].

2.2.2.1 Azúcares

El término azúcares, se atribuye generalmente a los hidratos de carbono simples (mono o disacáridos). Es común que los alimentos y bebidas procesadas contengan una combinación de glucosa y fructosa. La glucosa es un monosacárido con seis carbonos unidos en línea. En solución acuosa tiene una estructura cíclica o en anillo, resultado de la reacción del carbono 1 con el oxígeno del grupo OH del carbono 5 (Figura 2a). La glucosa tiene una dulzura relativa equivalente a 0.75 veces que la de sacarosa (equivalente a 1). Esta molécula constituye el único hidrato de carbono que circula por el organismo, y cuya concentración puede medirse en sangre (glucemia). La glucosa es absorbida de manera rápida en el duodeno

y en la parte superior del yeyuno en el intestino delgado para poder llegar al torrente sanguíneo. Su absorción en la sangre es muy importante debido a que la glucosa constituye el principal sustrato energético del organismo y en consecuencia es necesaria para la contracción muscular durante el ejercicio (30).

Por otra parte, la fructosa es un monómero que al igual que la glucosa tiene seis carbonos, pero con un grupo cetona en el segundo carbono (Figura 2b). Tiene una dulzura relativa de 1.73 veces que la sacarosa y se encuentra de manera natural en frutas, verduras y miel principalmente. En comparación con la glucosa, la fructosa se absorbe más lentamente en el intestino delgado a nivel del yeyuno por difusión facilitada por una proteína transportadora denominada GLUT 5. Debido a su modo de absorción, este azúcar no genera una respuesta de la insulina. Sin embargo, estudios en humanos reportan que el consumo excesivo de fructosa (en forma de azúcar libre) produce alteraciones metabólicas como el aumento en el contenido de grasa intrahepática, por lo que se sugiere su consumo de forma moderada (31,32).

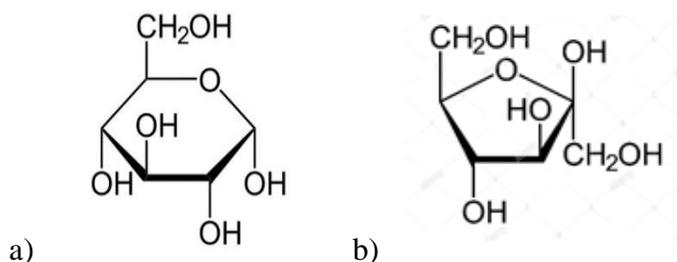


Figura 2. Estructura química de los azúcares a) glucosa y b) fructosa

Actualmente, en México la ingesta calórica provenientes del consumo de bebidas refrescantes comerciales en adolescentes y adultos (incluidas las bebidas para deportistas) representa el 21% de los requerimientos energéticos totales. El consumo de elevadas cantidades de azúcares asociado a la falta de ejercicio está vinculado estrechamente al riesgo de obesidad y diabetes. Debido a esto, para el desarrollo de bebidas para deportistas es importante adicionar la cantidad y el tipo adecuado de hidratos de carbono considerando la actividad física del consumidor al que va dirigido el producto. Considerando lo anterior es importante que los consumidores estén conscientes de que se debe buscar un equilibrio

adecuado entre la energía aportada mediante la ingesta y la consumida durante el ejercicio para reducir el riesgo de obesidad al consumir este tipo de productos (33).

2.2.2.2 Maltodextrinas

Desde la década de los 80's, diversos fabricantes de bebidas para deportistas comenzaron a usar maltodextrinas en sus bebidas de manera adicional a los azúcares simples (10). Las maltodextrinas digeribles son polímeros de sacáridos poco dulces que consisten en unidades de D-glucosa unidas linealmente por enlaces α (1,4) (Figura 3), aunque también pueden tener una estructura ramificada con enlaces α (1,6). Frecuentemente, las maltodextrinas se clasifican por la cantidad de azúcares reductores presentes en relación con el contenido total de hidratos de carbono(10,34,35).

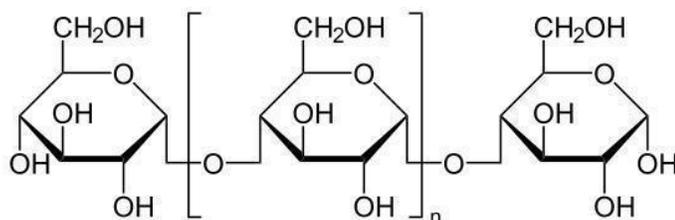


Figura 3. Estructura química de las maltodextrinas de tipo lineal

Las maltodextrinas poseen diversas propiedades fisicoquímicas y tecnológicas por las que han sido ampliamente usadas en la formulación de productos alimenticios. Dentro de las principales propiedades de las maltodextrinas empleadas en soluciones acuosas se encuentran las siguientes: alta capacidad espesante, alta solubilidad, higroscopicidad³, depresión del punto de congelación y baja osmolalidad.

Los hidratos de carbono con baja osmolalidad como las maltodextrinas se han utilizado en la formulación de bebidas para deportistas para promover un incremento en la tasa de vaciado gástrico y reducir el estrés gastrointestinal evitando de este modo el aumento en la osmolalidad causada por altas concentraciones de azúcares. Esto es relevante, ya que la

³ Higroscopicidad: Propiedad de algunas sustancias de absorber y exhalar la humedad según el medio en que se encuentran.

hipertonicidad de las bebidas está relacionada directamente con el estrés gastrointestinal durante el ejercicio. Este estrés puede limitar el rendimiento de los atletas durante los eventos deportivos de alta intensidad, como los maratones y triatlones (34,36).

La maltodextrina se produce en forma de polvo blanco de apariencia similar a la dextrosa; sin embargo, éstas tienen muy poco dulzor, y son prácticamente insípidas. Debido a esta característica sensorial, la mayoría de veces estas moléculas son utilizadas como ingredientes en combinación con otros azúcares con un poder edulcorante mayor para darle sabor y dulzor a las bebidas para deportistas (37).

2.2.3 Otros ingredientes

Las bebidas para deportistas comerciales contienen azúcares y electrolitos agregados normalmente de manera exógena para prevenir la deshidratación, reemplazar los electrolitos perdidos y promover una rehidratación rápida durante el período posterior al ejercicio. Por otra parte, en un estudio en el año 2015 se reportó el efecto del uso de antioxidantes provenientes del extracto de té verde en el rendimiento deportivo de atletas. Entre los resultados más sobresalientes se concluyó que los polifenoles contenidos en el té verde, como por ejemplo la catequina, tienen actividad antioxidante que provoca la eliminación de radicales libres, inhibición de enzimas prooxidantes y estimulación de enzimas antioxidantes (38).

En un estudio similar, Miccheli *et al.*(39) evaluaron el efecto del consumo de una bebida con electrolitos a base de té verde en la fase de recuperación (después del ejercicio físico) de atletas masculinos de un equipo de remo olímpico Italiano. Los autores utilizaron la técnica de espectroscopia de resonancia magnética nuclear unidimensional ($^1\text{H NMR}$) para evaluar los efectos de la bebida a base de extractos de té verde sobre el metabolismo energético de los atletas. Los resultados mostraron un efecto de la bebida deportiva sobre los niveles de glucosa, citrato y lactato en plasma, y sobre 3-hidroxiacetato, así como el aumento de los niveles de ácido hipúrico y cafeína en la orina lo que indicó la absorción de los componentes del extracto de té verde. En el estudio se concluyó que la bebida mostró efectos benéficos en los atletas al aumentar la utilización de lípidos en el organismo mejorando la capacidad de los atletas de realizar ejercicio.

2.3 Formulaciones de bebidas para deportistas y evaluación sensorial

En general las bebidas para deportistas contienen hidratos de carbono en el rango de concentraciones de 5 a 10% (p/v), así como pequeñas cantidades de electrolitos de los cuales los más importantes son el sodio y el potasio (40). Aunque la composición de las bebidas para deportistas ha cambiado con el tiempo, actualmente las bebidas más populares generalmente contienen bajas concentraciones de hidratos de carbono como por ejemplo la formulación comercial de Gatorade® que contiene concentraciones de hidratos de carbono no mayores al 6% (7). Los objetivos que se persiguen de manera general en el desarrollo de formulaciones de las bebidas para deportistas se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Objetivos buscados en la formulación de bebidas para deportistas y su importancia fisiológica (41)

Objetivos de formulación	Cantidades requeridas y su importancia en la actividad deportiva
Aportar hidratos de carbono (HC)	Durante la actividad físico-deportiva se necesita de 30 a 90 g de HC por hora. Las bebidas deportivas con concentraciones de 6 a 8% de HC son adecuadas para conseguir ese objetivo. La combinación de HC que favorece el vaciamiento gástrico, es una mezcla de azúcares de oxidación rápida (40—60 g/h) como la glucosa, la sacarosa, la maltosa, la maltodextrina y los azúcares de oxidación lenta (20-30 g/h), como la fructosa, la galactosa, la isomaltosa y la trihalosa. La mayoría de las formulaciones comerciales usan una mezcla de glucosa:fructosa en proporción 2:1.
Reposición de electrolitos (principalmente sodio)	Para la reposición de electrolitos durante la actividad deportiva se recomienda tomar entre 0.5 y 0.7 g/L de sodio en la bebida isotónica que ayuda a evitar una posible hiponatremia ⁴ . Después de la actividad deportiva se recomienda bebidas ligeramente hipertónicas, con concentraciones de 1 a 1.2 g/L de sodio.

⁴ Hiponatremia: Trastorno hidroelectrolítico que se produce cuando la concentración de sodio en la sangre es anormalmente baja.

Reposición hídrica	Cuando se realiza ejercicio o actividad física intensa, es necesario evitar la deshidratación, principalmente cuando la actividad se realiza a temperaturas mayores a los 25 °C o a altas humedades relativas. Se recomiendan tomas de agua de entre 0.6 a 1 L/h según la modalidad deportiva.
--------------------	--

2.3.1 Formulaciones de bebidas comerciales para deportistas

Las bebidas para deportistas como Gatorade® original y CytoMax Performance Plus contienen 5.8% y 5.4% de hidratos de carbono en su formulación respectivamente. En contraste, los jugos de frutas y los refrescos contienen concentraciones considerablemente más altas de HC, aproximadamente entre un 10 y un 12% (42). En una revisión realizada en este trabajo de diversas páginas oficiales de productos para el deporte que incluían bebidas para deportistas, se encontraron más de 20 productos diferentes de nutrición deportiva. En la Tabla 3 se describen formulaciones de las bebidas para deportistas más populares en la actualidad.

Uno de los ingredientes más comunes que está presente en las bebidas para deportistas comerciales es el ácido cítrico. Este ácido es un aditivo de alimentos de sabor suave, que se encuentra naturalmente en las frutas cítricas, que se adiciona de manera regular a las bebidas para deportistas comerciales con el fin de proporcionar sabor y acidez. Por otro lado, el ácido láctico se produce naturalmente en nuestro cuerpo y se puede encontrar en muchos alimentos. Ni el ácido láctico ni el ácido cítrico en concentraciones de acuerdo a los límites permitidos tienen efectos adversos sobre la salud (7).

Tabla 3. Composición de algunas bebidas para deportistas comerciales (4,10,40)

Contenido	Gatorade	Isosport	Isostar	Powerade
Energía (Kcal/250 mL)	63	42	70	70
Sodio (mg/250 mL)	103	103	110	70
Potasio (mg/250 mL)	30	29	45	30
Osmolalidad (MOSM/kg)	320-360	NS	280	NS

HC % [p/v]	6.0	7.2	6.8	7.6
Fuente de HC	Sac (38%), Glu (34%), Fruc (28%)	Sac (43%), Glu (24%), Fruc (19%), Malt (14%)	Sac (38%), Glu (34%), Fruc (28%), Malt (8%)	Jarabe de maíz con alta fructosa, maltodextrina (% NS)
Otros ingredientes	Acidulante: C ₆ H ₈ O ₇ * Sales minerales: NaCl, Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ * Estabilizantes: E-414* y E- 445*, E-340*. Colorante: Betacaroteno. Agua.			Acidulante: C ₆ H ₈ O ₇ * Sales minerales: Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ * C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ (E- 332)* MgCl ₂ * CaCl ₂ * y E- 340*. Estabilizantes: E-414* y E- 445*. Colorante: E- 104* Agua.
Vitaminas y otros minerales	--	NS	C, E, β- caroteno	Calcio (4 mg), magnesio (1 mg)

NS: Desconocido, MOSM: miliosmoles, Sac: sacarosa, Glu: glucosa, Fruc: fructosa, Malt: maltodextrina. * Aditivos (Anexo C)

2.3.2 Aspectos sensoriales y su evaluación

La Federación Española de Medicina del Deporte en su consenso sobre bebidas para deportistas en el año 2008, especifican que el principal objetivo de estas bebidas es conseguir prevenir la fatiga y la deshidratación. De acuerdo con esto, las formulaciones de estas bebidas deben incluir un aporte de hidratos de carbono y electrolitos. Adicionalmente, las bebidas para deportistas deben tener una buena palatabilidad para que facilite su consumo. Para que esto sea posible, los tipos de hidratos de carbono añadidos en las bebidas contribuyen en gran medida a la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores. En este sentido, la evaluación sensorial es la herramienta aplicada a las bebidas para deportistas desarrolladas en la industria alimentaria para valorar la percepción del consumidor de un producto, como es el caso de la bebida para deportistas (43). A continuación, se describen los aspectos principales sobre la disciplina de la evaluación sensorial de alimentos y bebidas.

2.3.2.1 Definición de evaluación sensorial

En 1981 la División Sensorial del Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT por sus siglas en inglés) definió la evaluación sensorial como una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a las características de los alimentos o materiales que pueden ser percibidos por los cinco sentidos del ser humano (44). De acuerdo a esto, la evaluación sensorial en la industria de alimentos es una herramienta que permite valorar la percepción del consumidor sobre un producto alimenticio, pudiendo ser evaluado un aspecto específico de éste o el producto como un todo. Asimismo, en la industria de alimentos el análisis sensorial también se puede aplicar para la evaluación, el diseño y el control del proceso de fabricación de un producto alimenticio (43).

Por otro lado, una prueba sensorial es el procedimiento que se lleva a cabo para la evaluación sensorial de alimentos o bebidas, mediante la cual se recaba de manera ordenada y sistemática la información relacionada a las observaciones o percepciones de un panel de evaluadores sobre un producto analizado. Para la realización de pruebas sensoriales primeramente se debe elaborar una estrategia que permita establecer parámetros o características del producto que se desea medir; es decir, se deben establecer los objetivos del análisis (45).

2.3.2.2 Tipos de evaluación sensorial en alimentos

Existen varias pruebas de análisis sensorial y cada una responde a objetivos determinados. Se distinguen dos tipos de técnicas empleadas para evaluar el producto y la sensación que produce el alimento al consumirlo. Por un lado las pruebas objetivas orientadas al producto, para describir y evaluar el producto con base a las necesidades de los analistas; y por otro las pruebas hedónicas, que evidencian las preferencias y aversiones de los consumidores en relación a los productos a evaluar (43).

Pruebas orientadas al producto

Para las pruebas orientadas al producto, se emplean pequeños paneles entrenados que funcionan como instrumentos de medición. Por lo general, el número de personal entrenado

consta de 5 a 15 panelistas; sin embargo, esto puede variar según el tipo de prueba. En este tipo de análisis se distinguen dos tipos de pruebas: los análisis discriminativos y los análisis descriptivos (45). Los análisis discriminativos se emplean en la industria alimentaria para conocer si existen diferencias entre dos productos o si por el contrario existe similitud entre ellos. Para estas pruebas, el entrenamiento de los evaluadores es más rápido que en el análisis descriptivos debido a que son pruebas utilizadas y normalizadas por las empresas para el proceso de producción cotidiano (46).

Por otra parte, en los análisis descriptivos conocidos también como análisis del perfil del producto, el ser humano se convierte en un instrumento preciso para realizar mediciones sensoriales. En este tipo de evaluación, se entrena a los evaluadores durante seis a ocho sesiones en las que se elaborará un listado de 10 a 15 adjetivos y nombres con los que se denominan a las sensaciones usadas para evaluar al producto. Los evaluadores son elegidos por sus aptitudes sensoriales, así como por su capacidad de describir y memorizar descriptores sensoriales y sus significados. La etapa posterior de este análisis consiste en la evaluación de los descriptores sensoriales por medio de su cuantificación en escalas de 7, 8 o 10 puntos (44).

Pruebas orientadas al consumidor

Las pruebas orientadas a las preferencias del consumidor son conocidas también como métodos afectivos o de respuesta subjetiva. Estas pruebas incluyen pruebas de preferencia, de aceptabilidad y pruebas hedónicas. En este tipo de pruebas participan personas representativas de la población que evalúan si el producto les agrada o no (en esta prueba no se emplean panelistas entrenados). Por lo general, para este tipo de prueba se hace una consulta a 50 o más individuos para obtener una respuesta estadísticamente válida. Los resultados se utilizan para predecir actitudes o preferencias de una población determinada (47).

Las pruebas hedónicas sirven para evaluar el nivel de satisfacción de los consumidores con respecto a la calidad intrínseca del producto, así como a la apreciación instantánea del mismo. Mediante escalas se puede medir el grado de aceptación o desagrado de un producto y a partir de estos datos calcular estadísticamente las preferencias de los consumidores por el producto evaluado. Las escalas hedónicas pueden ser de diferentes tipos, aquellas en las que

el consumidor expresa simplemente su agrado de satisfacción, y en las que el consumidor realiza un ordenamiento de menor a mayor en función del grado de aceptación de los productos analizados (prueba de ordenación). De acuerdo a la literatura, la escala hedónica verbal de nueve puntos ha sido el método sensorial más utilizado para medir la aceptación de cualquier producto alimenticio (Tabla 4) (45,47).

Tabla 4. Ejemplo de escala hedónica de 9 puntos (45)

	Color	Olor	Sabor	Acidez
Me gusta muchísimo				
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				
Me disgusta muchísimo				

2.3.3 Formulaciones de bebidas para deportistas a partir de productos naturales

Pérez Idarrama y Aragón Vargas (29) reportaron el empleo del agua de coco como bebida para deportistas, debido a que este producto es una bebida naturalmente rica en potasio, calcio, magnesio y un bajo contenido de sodio. Los investigadores afirmaron que esta bebida podría ser efectiva como una bebida para deportistas comercial para lograr la rehidratación del organismo al ser consumida después del ejercicio. Sin embargo, concluyeron que para su uso comercial resultaría difícil controlar la composición de la bebida natural ya que se ha estudiado que el contenido de sodio del agua de coco de algunas zonas tiende a aumentar. Adicionalmente, en el caso de los HC y el potasio las concentraciones pueden disminuir hasta un 40% de acuerdo a la maduración del coco en la palmera. Considerando lo anterior, resulta difícil establecer una recomendación definida del agua de

coco como una bebida para deportistas debido a la variación de la composición de este producto que depende en gran medida del proceso de maduración del coco [22, 35].

Por otra parte, Murillo Calderón (49) reportó la elaboración de una bebida hidratante a base de suero de leche y de agua de coco. En dicho trabajo se realizaron análisis fisicoquímicos a cinco formulaciones con diferentes proporciones de dichos componentes de los cuales se seleccionó la formulación con mayor contenido proteico y menor cantidad de grasa. La formulación de la bebida final estaba compuesta por 75% de suero de leche y 25% de agua de coco. La composición de los componentes más relevantes fue: 10% hidratos de carbono, 0.88% de proteínas, 28.5 mEq/L de sodio y 26.5 mEq/L de potasio. Considerando que las bebidas para deportistas recomendadas durante la actividad física deben ser bebidas isotónicas, la cual tiene un aporte adecuado de carbohidratos, sodio y potasio. La bebida que desarrollaron los autores contiene un aporte mayor al 6% de hidratos de carbono, proteínas y mayor aporte de potasio que lo recomendado por investigadores en materia de nutrición deportiva (50,51). Por lo tanto, no es sugerible que sea consumida durante el ejercicio debido a la cantidad de solutos que contiene la bebida desarrollada, pudiendo evitar un desequilibrio osmótico en el deportista.

En otro estudio, Vaibhavi *et al.*(28) diseñaron una bebida para deportistas utilizando como ingredientes granada (*Punica granatum*), kokum (*Garcinia indica*) y comino (*Cuminum cyminum*), en una mezcla de 50% de jugo de granada y 50% de agua de kokum, a la cual agregaron vitamina C (105.6 mg / 100 mL) y ajustaron a una concentración de carbohidratos de 6.33%. Los autores reportaron que el uso de jugos naturales no solo proporciona carbohidratos, sino también otros electrolitos y compuestos polifenólicos que pueden ayudar a mejorar el rendimiento de los deportistas. Sin embargo, en investigaciones recientes no se ha podido demostrar que la suplementación con vitamina C muestre un efecto positivo sobre el rendimiento físico en los deportistas (41,52). Por lo que no se considera necesario una suplementación con vitaminas, salvo que exista alguna deficiencia. No obstante, la bebida desarrollada por los autores puede ser considerada como una bebida que puede ser consumida por el deportista antes del ejercicio en conjunto con su dieta en general para propiciar una hidratación adecuada.

Con relación a esta revisión, es de llamar la atención que a pesar de que el suero lácteo ha sido utilizado para la elaboración de diversos productos alimenticios y nutracéuticos

debido a sus destacadas propiedades nutricionales, en la literatura científica y comercial existen muy pocos reportes sobre su uso en la formulación de bebidas para deportistas. En la siguiente sección se describe las propiedades nutrimentales del suero lácteo y se considerará el uso de éste para el desarrollo de alimentos y bebidas, principalmente bebida para deportistas.

2.4 Suero lácteo

2.4.1 Generalidades

El suero lácteo o lactosuero es un líquido opalescente amarillo-verdoso de sabor ácido pero agradable. Se define como un líquido obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación del queso. El queso se puede producir mediante el proceso de acidificación de la leche o mediante la adición a ésta de enzimas del tipo del cuajo (renina, enzima digestiva de los rumiantes). El lactosuero contiene partículas suspendidas solubles y no solubles (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales), así como compuestos de importancia biológica-funcional (53,54).

El suero lácteo es un subproducto de la industria quesera que durante mucho tiempo ha sido considerado como un desecho de esta industria. Sin embargo, actualmente ha surgido un gran interés para utilizarlo como aditivo o suplemento alimenticio debido a su alto contenido nutrimental y propiedades funcionales. La utilización del suero lácteo para la preparación de bebidas para consumo humano a través de procesos de fermentación es una opción atractiva para la industria de alimentos (55).

2.4.2 Composición

La composición nutricional del suero lácteo puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche utilizada para la elaboración de queso, el tipo de queso producido y el proceso tecnológico empleado en la elaboración de este producto. A partir de los diferentes procesos de elaboración de queso, ácido o enzimático, se han establecido dos tipos principales de suero lácteo, el ácido y el dulce respectivamente (56,57).

El lactosuero está compuesto fundamentalmente por lactosa, proteínas solubles (lactoalbúminas y lactoglobulinas), un pequeño porcentaje de grasa y además contiene la

mayor parte de las sales minerales de la leche. Entre los minerales del suero lácteo sobresale el potasio, el calcio, el fósforo, el sodio y el magnesio. El suero contiene también vitaminas del grupo B: tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina y cobalamina. Entre las vitaminas presentes en el lactosuero, el ácido pantoténico (B₅) y el ácido ascórbico se encuentra en mayor concentración con 3.4 y 2.2 mg/mL, respectivamente. En comparación con la leche, el lactosuero contiene cerca del 50% de los sólidos totales de la leche, el 25% de las proteínas, el 7% de la grasa, cerca del 95% de la lactosa y del 8 a 10% de sales minerales en base seca (58,59).

2.4.3 Utilización del suero lácteo en la industria alimentaria

En el 2015, la producción mundial de suero de leche era alrededor de 125 millones de toneladas, de la cual alrededor del 64% era producido en países europeos y el 24% en América del Norte (55). En el 2017, la producción de leche bovina a nivel nacional fue de 11 767 556 mil litros de los cuales una parte se utilizó para producir 65 942 toneladas de queso (60). Hasta el momento, no hay datos publicados por las dependencias reguladoras nacionales (SIAP y SAGARPA) en relación a la producción de suero lácteo en Oaxaca; sin embargo, en el estado de Chiapas se producen diariamente un millón de litros de leche y se estima que el 60% de este volumen es utilizado en la elaboración de quesos, en cuyo proceso se generan aproximadamente 510 000 litros diarios de lactosuero (60–62).

A pesar del gran valor nutricional del suero y de que recientemente ha habido un aumento en su aprovechamiento para la producción de otros subproductos, aún en la actualidad gran parte del suero producido a nivel mundial, principalmente en los países en vías de desarrollo, es desechado causando problemas de contaminación en ríos y suelos. Uno de los aspectos principales que contribuye al poco o nulo aprovechamiento del suero se debe al desconocimiento sobre las bondades nutricionales de este subproducto y a la dificultad para acceder a tecnologías apropiadas para su manejo y procesamiento (56,59). En la literatura especializada, se ha reportado una gran variedad de usos del suero lácteo, entre los que se encuentran numerosas formulaciones de productos líquidos a base de suero lácteo, productos proteicos en polvo, suplementos alimenticios o alimentos balanceados.

Actualmente, la transformación de suero para la utilización de sus componentes se realiza mediante varios procesos como la concentración y/o fraccionamiento por membranas,

el secado, la fermentación o hidrólisis, que dan como resultado productos de alto valor agregado tales como lactosa, concentrado de proteína de suero, polvo de suero, lactoalbúmina, lactoglobulina, urea, galactosa, glucosa, jarabes concentrados, bebidas, alcohol, proteínas unicelulares, entre otros (Tabla 5). Particularmente en la actualidad ha habido muchos desarrollos innovadores en el campo del procesamiento de bebidas a base de suero (63). Sin embargo, para que estos desarrollos puedan llegar a su comercialización, los procesos deben adecuarse a las necesidades y posibilidades de los establecimientos queseros y considerar aspectos fundamentales de la producción local como el costo del proceso, la tecnología disponible, el tiempo de producción y la posibilidad de ingresar el producto obtenido en el mercado.

Tabla 5. Empleo del suero lácteo o de sus componentes como ingrediente funcional en la industria alimentaria (58)

Función	Uso en la industria
Formación de enlaces con agua, espesantes y promotores de viscosidad	Sopas y salsas, productos de carne y de panificación, confitados, chocolates, yogur, quesos.
Emulsificantes	Sopas y salsas, helados, productos de carne, crema para café
Espumantes y agentes de batido	Helados, postres, coberturas batidas
Gelificantes	Quesos, yogur, panificación y confitados
Estabilidad térmica	Leche recombinada, sopas, salsas
Desarrollador de color y sabor	Chocolate y confitados

El nivel de aprovechamiento del lactosuero se relaciona con la factibilidad del procesamiento de esta materia prima y la utilización de sus componentes. Diversas tecnologías pueden ser utilizadas para el aprovechamiento del suero lácteo generando una amplia variedad de productos como por ejemplo, los concentrados proteicos, el suero en polvo, queso tipo mysost y bebidas energéticas (59). Entre las tecnologías de mayor uso por las grandes industrias queseras está el uso de tecnologías por membranas para la obtención principalmente de proteínas y lactosa a partir del suero lácteo.

2.4.4 Uso del suero lácteo en la elaboración de bebidas

Debido a las importantes cantidades de lactosa (4.5-5%), proteínas (0.6-0.8%), lípidos (0.4-0.5%) y sales minerales (8-10% en base seca) que contiene el suero de leche, una de las aplicaciones más exitosas es la del aislamiento de las proteínas del suero de leche (53). Esto debido al alto valor biológico de las proteínas del suero y a sus efectos benéficos sobre la salud humana y animal (64). También es posible utilizar los azúcares y proteínas del suero para la formulación de medios de cultivo en fermentaciones de importancia industrial.

En una búsqueda de trabajos sobre bebidas a base de suero, Cuellas y Wagner (65) formularon una bebida energizante a partir de suero de quesería. El desarrollo consistió primeramente en la hidrólisis enzimática de la lactosa proveniente del suero utilizando la enzima β -galactosidasa. A continuación, los determinaron el grado de hidrólisis midiendo la concentración de glucosa liberada por dosaje enzimático mediante un kit de glucemia. Con el suero hidrolizado obtenido se formularon tres bebidas energizantes de sabor naranja, pomelo y frutilla. Con la adición de benzoato de sodio, sacarosa y colorantes artificiales. A las formulaciones desarrolladas se les realizó un análisis sensorial con un panel entrenado de 20 jueces. Como resultados del estudio, los autores reportaron una mejor aceptación de la bebida sabor naranja. Pese a que la bebida fue altamente aceptada por el panel sensorial, los autores concluyen que para la elaboración de este producto se requiere llevar a cabo procesos más eficientes y tecnologías más limpias que puedan lograr una mayor rentabilidad, así como un mejor proceso. Esto es importante, porque en este sentido, las tecnologías como los procesos de filtración por membranas, que incluyen la microfiltración, la ultrafiltración y la ósmosis inversa, podrían ser utilizados en conjunto para el aprovechamiento integral del lactosuero.

Por otro lado, en el grupo de Bioprocesos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, en el año 2017, Hernández-García (66) desarrolló una bebida probiótica a base de suero lácteo usando procesos de microfiltración (membranas con tamaño de poro de $0.45\mu\text{m}$) seguido del proceso de ultrafiltración (membrana con peso molecular de corte de 10 kDa) para la separación de las proteínas del suero lácteo. Una vez que se obtuvieron las fracciones con mayor cantidad de proteínas del lactosuero, se realizó el secado por aspersion del suero concentrado. El objetivo del uso de las tecnologías de membranas fue la obtención de sustratos (azúcares y proteínas) para la fermentación de una bacteria ácido-láctica. El

resultado del trabajo fue la obtención de sustrato proteico concentrado a partir de suero lácteo, el cual se pulverizó para ser utilizada en la formulación del medio de fermentación y finalmente obtener la bebida fermentada por medio de la bacteria probiótica. Este trabajo constituye una contribución importante para el aprovechamiento del suero como residuo de la industria de elaboración del queso.

En este sentido, la aplicación de tecnologías de membranas en dicho proyecto para la concentración selectiva y tratamiento del lactosuero permitió contribuir a la producción de productos de alto valor agregado como suero en polvo, lactosa de grado alimenticio y concentrado proteico de suero. La separación de estos componentes del suero lácteo es posible usando tecnologías de separación por membranas tales como la microfiltración, la ultrafiltración, la nanofiltración y la ósmosis inversa. Adicionalmente, para la obtención de polvos a partir de éstos concentrados se puede usar el proceso de secado por aspersión (67).

Con base en lo anterior, en este proyecto se propone el uso de la tecnología de filtración por membranas de ósmosis inversa para la concentración de sales minerales a partir de la corriente de permeado del procesamiento del suero lácteo realizado en el trabajo de Hernández-García (66), y poder así obtener una base mineral para el desarrollo de una bebida para deportistas. En la siguiente sección se detallan los fundamentos generales del funcionamiento y operación de los procesos de filtración por membranas.

2.5 Fundamentos de las tecnologías de membranas de filtración

La tecnología de filtración por membranas consiste en la separación de partículas o moléculas contenidas en un fluido sea en forma de solución o suspensión. Este proceso se fundamenta en la permeabilidad selectiva de uno o más componentes de la corriente de alimentación a través de la membrana, usando por lo general como fuerza impulsora un gradiente de presión. Por lo tanto, una membrana es una barrera física selectiva que permite la transferencia de determinados componentes a través de ella, evitando o restringiendo al mismo tiempo el paso de otro u otros componentes. Para la industria alimentaria, la importancia del uso de membranas radica en la recuperación o concentración de productos de elevado valor añadido; asimismo, otro uso importante de las membranas en la industria es para purificar concentrados nutricios a partir de una corriente líquida.

Debido a las bondades del procesamiento de filtración por membranas, esta tecnología ha sido ampliamente utilizada en la industria de alimentos. En la práctica industrial, los procesos de membrana son comúnmente utilizados para concentrar o purificar un líquido mediante su separación en dos diferentes fracciones, la fracción permeada y la fracción retenida. De acuerdo al tamaño del poro y/o al peso molecular de corte de la membrana utilizada, los procesos de filtración por membranas más importantes se clasifican en los siguientes: microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI) (Figura 4) (68).

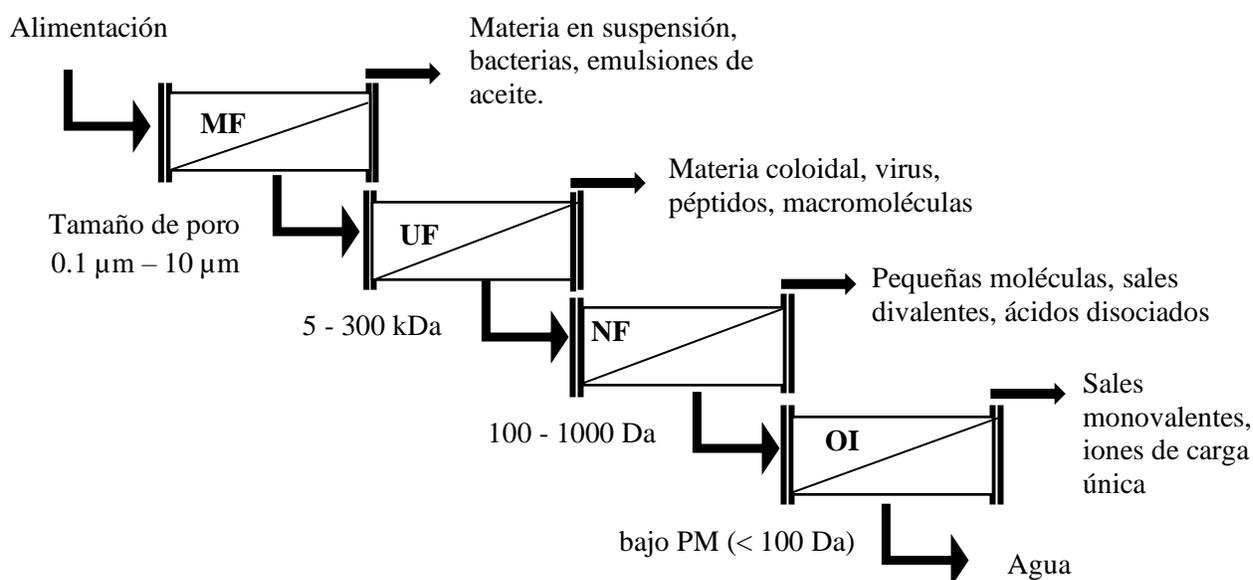


Figura 4. Esquema del procesamiento de una suspensión biológica usando las diferentes tecnologías por membranas categorizadas según su rango de separación y característica (68)

En el proceso de microfiltración (MF), las membranas que se utilizan son porosas y realizan el proceso de filtrado mediante el mecanismo de exclusión, reteniendo partículas en suspensión con un tamaño de partícula en el orden de los micrómetros. Estas membranas tienen tamaños de poro que van de 0.1 a $10 \mu\text{m}$. Por otro lado, en la ultrafiltración (UF), se retienen macromoléculas como las proteínas, azúcares, y en este caso se utiliza el peso molecular de corte como parámetro de índice de rechazo. En el caso de la nanofiltración (NF), se utiliza para separar moléculas orgánicas de bajo peso molecular (100 a 1000 Da),

incluso puede ayudar a la separación de compuestos inorgánicos a nivel molecular. El principio de separación en esta tecnología es el de la solución-difusión de los solutos y solventes a través del material de la membrana. Finalmente, en el proceso de la ósmosis inversa, la separación del soluto ocurre mediante el mismo mecanismo que en la nanofiltración, es posible la separación de partículas pequeñas como la retención del 99.5% de sales (69).

2.5.1 Tipos de membranas

Los materiales que se utilizan en los procesos de membranas pueden ser muy diferentes, por lo que se pueden establecer varias clasificaciones, según las diferentes características de las membranas, tales como su estructura, los materiales de fabricación, tamaño de poro o rango de rechazo y la funcionalidad (70). En cuanto al material de fabricación las membranas se pueden clasificar principalmente en dos: poliméricas y cerámicas. Las membranas poliméricas están hechas de una gran variedad de polímeros como acetato de celulosa (celulósicas), polisulfonas, teflón, propilenos, poliamidas, polisulfuros y polipropilenos. En la Figura 5 se visualiza la clasificación de las membranas con base a su naturaleza.

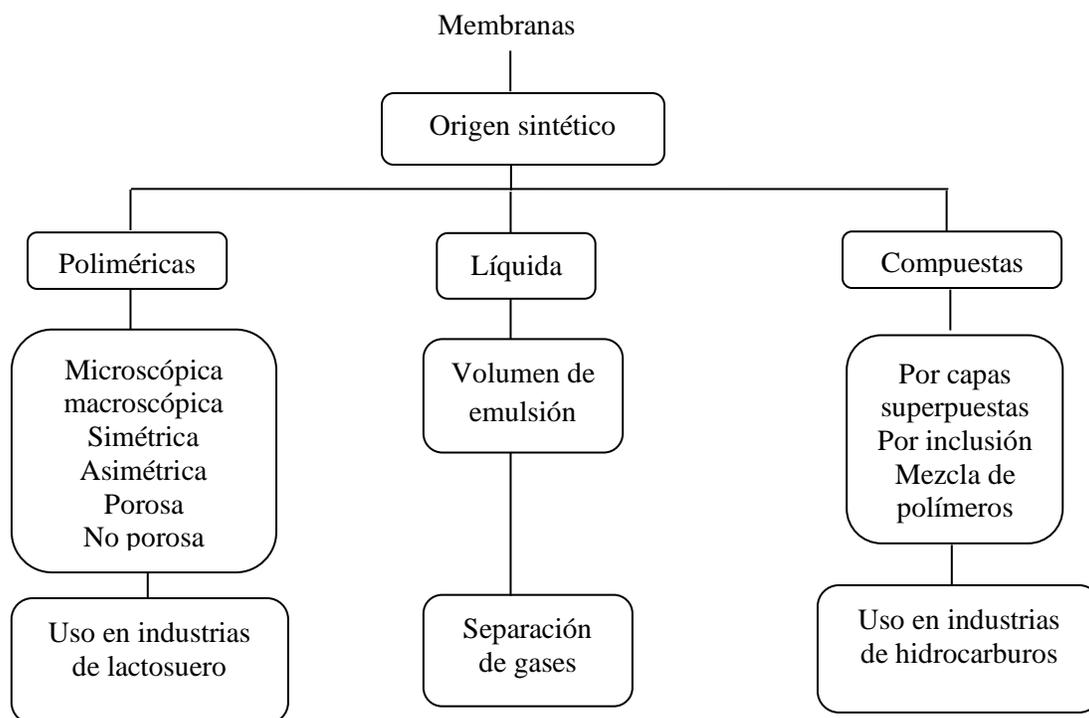


Figura 5. Clasificación de las membranas de acuerdo a su naturaleza sintética (68,75)

2.5.2 Características de los procesos de filtración por membranas

La filtración por membranas tiene como propósito separar las especies químicas o partículas contenidas en una matriz líquida o gaseosa en función de su tamaño de partícula usando generalmente un gradiente de presión como fuerza impulsora. La presión requerida en el proceso depende del tipo de solutos presentes y de su concentración, así como el tamaño de poro o el peso molecular de corte (PMC) de la membrana.

La ultrafiltración concentra grandes moléculas y macromoléculas con un peso molecular entre 5 y 300 kDa. La presión de transmembrana es mayor para la separación de moléculas pequeñas o de bajo peso molecular (Tabla 6), principalmente en los procesos de NF y OI, debido al tamaño de poro de la membrana tan pequeño que se usa en estos procesos. Las moléculas que no atraviesan la membrana se conoce como material retenido o concentrado (70,71).

Tabla 6. Comparación de las características y mecanismo de separación de los procesos de filtración por membranas más comunes (71)

	Ósmosis inversa	Nanofiltración	Ultrafiltración	Microfiltración
Nivel de separación	Sales monovalentes	Sales divalentes	Macromoléculas	Partículas
	Solutos de bajo PM (< 100 Da)	Solutos de bajo PM (100-1000 Da)	(proteínas) PM (5-300 KDa)	(0.1 μm – 1 μm)
	Glucosa, lactosa, sales, iones inorgánicos	Compuestos orgánicos, sales divalentes o iones multivalentes.	Coloides, proteínas, polisacáridos, virus.	Bacterias, levaduras, micropartículas orgánicas, grasas o aceites.
Principio	Diferencias de solubilidad y difusividad	Diferencia de solubilidad y difusividad	Tamaño de partícula	Tamaño de partícula
		Tamaño de partícula y carga		
Mecanismo de transferencia	Dilución – difusión	Disolución-difusión	Capilar	Capilar
		Capilar		
Influencia de la presión osmótica	Alta (2-25 bar)	Moderada - Alta	Despreciable	Despreciable
Presión aplicada (bar)	15-25 (agua dulce)	10-40	2-10	0.2-2
	20-40 (agua de mar)			
Flujo medio (l/m ² h)	5-40	20-80	5-200	>200

PM: Peso molecular; Da: Dalton

Los procesos de MF y UF requieren bajas presiones de operación que van de 2 a 7 bar, en comparación con los procesos de NF y OI que requieren presiones de operación más altas que van desde los 20 a los 80 bar (72). Por otro lado, en los procesos de filtración por membranas, la selectividad de rechazo de los solutos o partículas depende en gran medida del tamaño del poro de la membrana y también de la afinidad entre el material de membrana y los solutos de interés. De acuerdo a esto, para lograr los distintos niveles de separación de

matrices líquidas complejas se requieren procesos de membranas con diferentes intervalos de tamaño de poro (70).

2.5.2.1 Mecanismos de filtración

Los procesos de filtración por membranas se pueden llevar a cabo mediante dos configuraciones de flujo: flujo normal (perpendicular) o flujo tangencial (flujo cruzado). En la filtración normal, las membranas se disponen de forma perpendicular al flujo. Durante este proceso, después de un tiempo las partículas son retenidas principalmente en la superficie de las membranas generando una disminución abrupta en el flujo del permeado hasta que eventualmente el flujo es nulo. Es decir, en esta configuración solo se genera una sola corriente (la solución fluye perpendicularmente hacia la membrana) facilitando que las partículas retenidas después de un tiempo formen una “torta” o “gel” en la superficie de la membrana disminuyendo considerablemente el flujo del permeado (Figura 6). Debido a esto, la configuración normal generalmente se utiliza para evaluar de manera preliminar la selectividad y eficiencia de la membrana, o para separaciones a nivel analítico con soluciones o suspensiones con bajo contenido de sólidos (70,73).

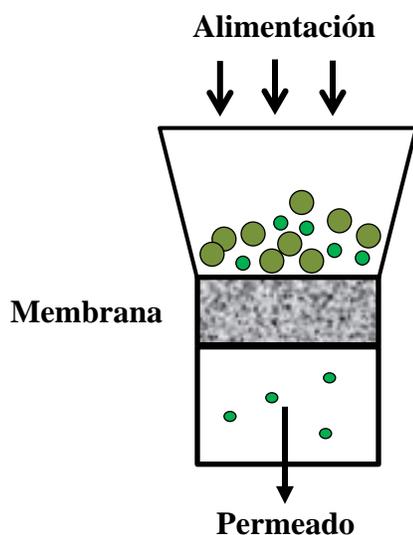


Figura 6. Esquema básico de la configuración del proceso de filtración por membranas con flujo normal

Por otro lado, en la filtración tangencial, el proceso es continuo y tiene una mayor eficiencia en comparación con la filtración normal. Aquí el efluente que se desea tratar (alimentación) se hace circular de forma paralela o tangencial a la superficie de la membrana permitiendo que la mayoría de los solutos depositados sobre la membrana se remuevan continuamente con la corriente de alimentación (Figura 7). En este modo de operación se generan dos corrientes: la fracción rechazada llamado “retenido”, en la que se concentran los solutos o sólidos en suspensión que no atraviesan la membrana; y la fracción no rechazada llamado “permeado”, la cual contiene los solutos que atravesaron la membrana. De manera similar al proceso de filtración normal, durante el proceso en la filtración tangencial también ocurre una disminución constante en el flujo de permeado a medida que ocurre el proceso de filtración. Sin embargo, en la filtración tangencial el flujo de permeado se puede mantener en un nivel aceptable durante la mayor parte del proceso dado que la disminución suele no ser tan drástica como en el proceso de filtración normal. Adicionalmente, con esta configuración de flujo es posible utilizar grandes volúmenes de alimentación con sistemas de flujo de recirculación continua, razón por la cual esta configuración es la que se utiliza en la industria para los procesos de separación y purificación (74,75).

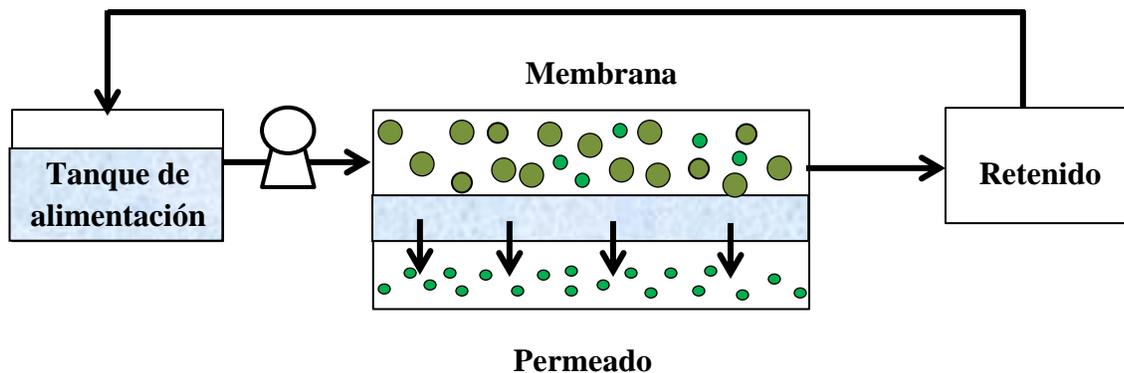


Figura 7. Esquema básico de la configuración del proceso de filtración por membranas con flujo tangencial (74,112)

2.5.2.2 Parámetros del proceso de filtración por membranas

Para caracterizar el desempeño de un sistema de filtración por membranas se calcula el flujo por unidad de área del permeado al que se le denomina flux, mientras que para evaluar la selectividad de una membrana durante el proceso de filtración se calcula el coeficiente de rechazo (R). Otro aspecto importante que se evalúa en los procesos de filtración por membranas es el factor de concentración volumétrico (FCV). Este factor indica las veces en que se reduce el volumen de la alimentación. Se calcula con la siguiente ecuación (76):

$$FCV = \frac{V_i}{V_R} ;$$

donde V_i es el volumen inicial en la alimentación y V_R es el volumen final del retenido.

Durante los procesos de filtración por membranas, la cantidad de solutos aumentan en las fracciones retenidas mientras que se reduce en las fracciones permeadas. Para caracterizar el proceso de separación de los diversos solutos de interés (componentes) en los procesos de MF, UF y OI, se determina el factor de concentración del componente (FC_i). Este factor se calcula con la siguiente ecuación:

$$FC_i = \frac{C_{fi}}{C_{oi}} ;$$

donde C_{fi} es la concentración final y C_{oi} es la concentración inicial del soluto de interés en la muestra respectivamente, e i representa el componente de interés de la corriente filtrada, puede representar a las proteínas, los azúcares, las sales minerales, etc.

Flux del permeado

El flux es una medida del flujo volumétrico de la solución que pasa la membrana por unidad de área de ésta. Teniendo en cuenta el área de la superficie activa de la membrana se calcula utilizando la siguiente ecuación (77):

$$J \equiv \frac{1}{A} \frac{dV}{dt} ;$$

donde J es el flux del permeado (L/m^2h^{-1}), A es el área de la membrana (m^2), V es el volumen del filtrado (L) y t corresponde al tiempo de filtrado (h).

Coefficiente de rechazo

El coeficiente de rechazo es una forma de estimar el grado de separación conseguido por la membrana, también denominado como selectividad de la membrana. Se calcula usando la siguiente ecuación (76,78):

$$R = \left(1 - \frac{C_{pi}}{C_{ri}} \right) \times 100;$$

donde C_p es la concentración de los solutos en el permeado y C_r es la concentración de los solutos en el retenido; e i representa el componente de interés de la corriente filtrada, puede representar a las proteínas, los azúcares, las sales minerales, etc.

2.5.3 Uso de tecnologías de membranas para la separación de proteínas y sales minerales a partir de suero lácteo

En diversos procesos industriales se han utilizado procesos de separación por membranas para separar macromoléculas biológicas como las proteínas del suero de la leche. La tecnología de membranas constituye una forma alternativa para obtener proteínas solubles a partir de un subproducto de la industria quesera, siendo así un proceso de gran valor tecnológico, económico y ambiental (75).

En este sentido, la ultrafiltración ha sido empleada para el fraccionamiento de las proteínas de la leche y del suero lácteo. En dicho proceso, las proteínas y algunas trazas de grasas quedan en el retenido, mientras que la lactosa, algunos minerales y sales pueden pasar fácilmente a través de la membrana. Considerando lo anterior, la ultrafiltración es un proceso que puede usarse para la separación de las proteínas solubles contenidas en el suero lácteo. La aplicación de esta tecnología permite obtener productos con contenidos proteicos superiores a los del suero en polvo (79). En el trabajo de Hernández-García (66), realizado en el grupo de trabajo de Bioprocesos, se utilizaron los procesos de micro y ultrafiltración para filtrar suero lácteo. En la microfiltración se obtuvieron dos fracciones, un retenido y un permeado. La fracción permeada (PMF) se utilizó como alimentación para la UF. Los procesos de MF y UF permitieron alcanzar una concentración de 5.89% de proteína en la fracción retenida de la UF (RUF) empleando un factor de concentración volumétrica de 10. Adicionalmente el concentrado proteico obtenido se procesó en un secador por aspersión para producir polvos concentrados proteicos de suero lácteo, mientras que la fracción

permeada del proceso de UF (PUF) rica en sales minerales azúcares se descartó. Con base a lo anterior, uno de los objetivos del presente estudio es utilizar este permeado y pasarlo por el proceso de ósmosis inversa para la obtención de un concentrado de sales minerales y azúcares para la elaboración de una bebida para deportistas.

Por otra parte, el proceso de ósmosis inversa (OI) es una tecnología de membranas que se utiliza ampliamente en la desalinización del agua, la producción de agua potable y para el tratamiento terciario de aguas residuales (80). Las características del proceso en cuanto al rechazo de los compuestos de bajo peso molecular dependen en gran medida de la naturaleza y la estructura de la membrana. No obstante, hasta la fecha, las membranas poliméricas han dominado la industria de desalinización por ósmosis inversa debido a que son membranas desarrolladas con tecnologías modernas que permite una fabricación de bajo costo, facilidad de manejo de las membranas y sobre todo con características destacadas de selectividad y permeabilidad de las mismas (81).

La OI es un proceso de filtración por membranas, que sigue un mecanismo de disolución- difusión de los solutos a través de una membrana no porosa. Este proceso permite una capacidad de retención de solutos aún mayor que la nanofiltración y la ultrafiltración al caracterizarse por tener coeficientes de rechazo cercanos al 100% para sales monovalentes (Figura 8). Las membranas de OI se clasifican por el porcentaje de rechazo de NaCl en una solución acuosa en determinadas condiciones; por ejemplo, las membranas de acetato de celulosa (Loeb Sourirajan®) que tiene un coeficiente de rechazo de NaCl del 95-98%, y las de polietilamina/tolueno FT-30/SW-30 (Composite®) con un coeficiente de rechazo mayor al 99%. Las presiones de trabajo usadas en este proceso son elevadas (entre 10 y 100 bar), dado que se requiere superar la presión osmótica generada por los solutos disueltos en la alimentación que además se encuentran en concentraciones cada vez más elevadas a medida que ocurre la filtración (74,75).

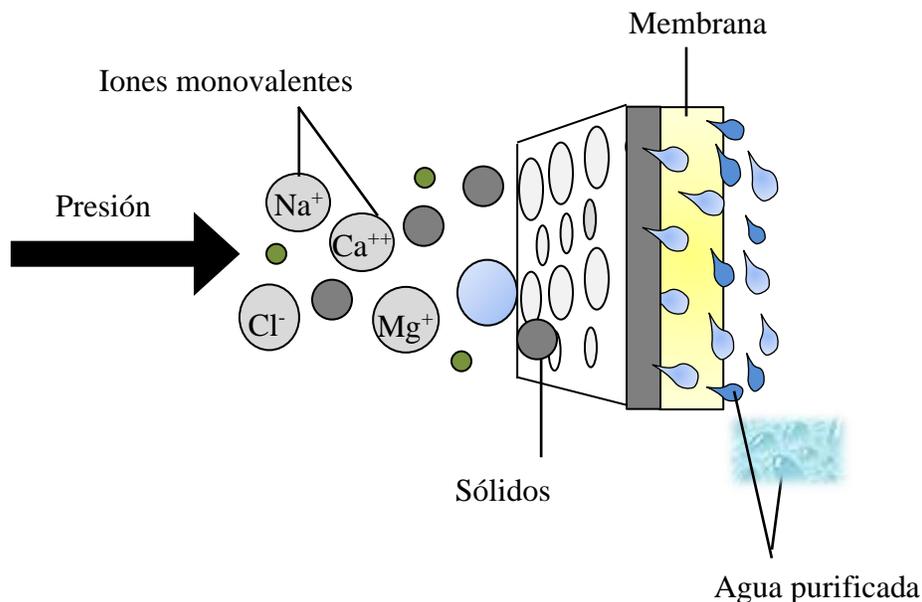


Figura 8. Mecanismo de separación en el procesos de membranas de ósmosis inversa (113)

2.5.4 Aplicaciones de ósmosis inversa para el tratamiento del suero lácteo

En el 2016 Meneses y Flores (82) utilizaron un sistema de filtración por membranas de ultrafiltración y ósmosis inversa para recuperar agua proveniente del suero lácteo, subproducto de la elaboración del queso Chédar. En este estudio, el lactosuero fue filtrado directamente mediante el proceso de UF obteniendo la fracción permeada y la retenida. La membrana de UF utilizada fue de polietersulfona semipermeable (KOCH, Wilmington, MA) con un peso molecular de corte de 10, 000 Da. La concentración de proteínas en el retenido de la UF (RUF) fue de 2.5%. Este retenido se llevó a un proceso de secado por aspersion para la obtención de polvos de concentrado proteicos. La fracción permeada de la UF (PUF) se utilizó como alimentación para el proceso de ósmosis inversa, obteniendo un retenido con 15% de azúcares en el retenido de OI (ROI), y un permeado de agua limpia. Para el proceso de ósmosis inversa se utilizó una membrana espiral de alto rechazo de NaCl (98%) (Filmtec Membranes, Santa Ana, CA). El sistema de filtración se configuró en un modo de flujo tangencial con presión de 3 MPa (30 bar). Los autores concluyeron que la eficiencia de limpieza del agua utilizando un sistema de filtración de UF y OI es comparable a la del agua potable cuando se usa un sistema de limpieza in situ (CIP). Adicionalmente, en el trabajo se

obtuvieron polvos de proteína y lactosa de buena calidad con valor comercial a partir de las corrientes concentradas (RUF y ROI). El trabajo realizado por los autores representa una contribución importante para la reutilización y el reciclaje del agua residual en la elaboración del queso para aplicaciones dentro de la misma industria, además de reducir la contaminación ambiental por el desecho del lactosuero en los suelos o ríos.

2.5.5 Análisis de minerales en muestras biológicas mediante el uso de espectrometría de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES)

Como se ha mencionado anteriormente, el suero lácteo puede contener aproximadamente el 90% de contenido mineral, principalmente sodio, potasio, calcio, magnesio y fósforo, lo cuales son transferidos al suero después de la coagulación de la proteína en la producción del queso (53). Con base a este hecho, algunas industrias que se dedican a la comercialización de suplementos a base de suero lácteo, utilizan diversas técnicas analíticas para la medición todos los nutrimentos, incluyendo los minerales y cumplir así con un informe al consumidor del contenido nutrimental del producto elaborado.

En la actualidad, las técnicas espectrométricas que se basan en plasma son ampliamente utilizadas en el campo del análisis elemental de todo tipo de muestras analíticas. Estas técnicas permiten el análisis de la mayoría de los elementos de la tabla periódica, debido a que, mediante diferentes estrategias los elementos de una muestra compleja, como puede ser el suero lácteo, se transforman en átomos o iones que pueden ser analizados por medio de diferentes detectores. Para medir los distintos elementos minerales contenidos en una muestra biológica compleja se utilizan diferentes técnicas analíticas, entre las que se destacan la espectrometría de absorción atómica con flama (FAAS, por sus siglas en inglés), cromatografía iónica, espectrometría de emisión óptica con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés) y espectrometría de masa con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Estas técnicas requieren en general una preparación previa de la muestra para que ésta pueda introducirse al equipo y el análisis sea confiable (83).

El plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es una fuente de ionización, que junto a un espectrofotómetro de emisión óptico (OES) constituye el equipo ICP-OES. El funcionamiento del equipo ICP-OES se basa en la introducción de una corriente de Argón

(Ar) en un campo de radiofrecuencia donde la energía cinética de los iones Ar^+ puede generar temperaturas de hasta 8000 K, lo que permite que se produzca la ionización y excitación de la muestra. A partir de esta ionización se generan los espectros de emisión atómica de líneas características de los elementos (átomos e iones) que deben ser posteriormente censados por medio de un detector OES (84,85).

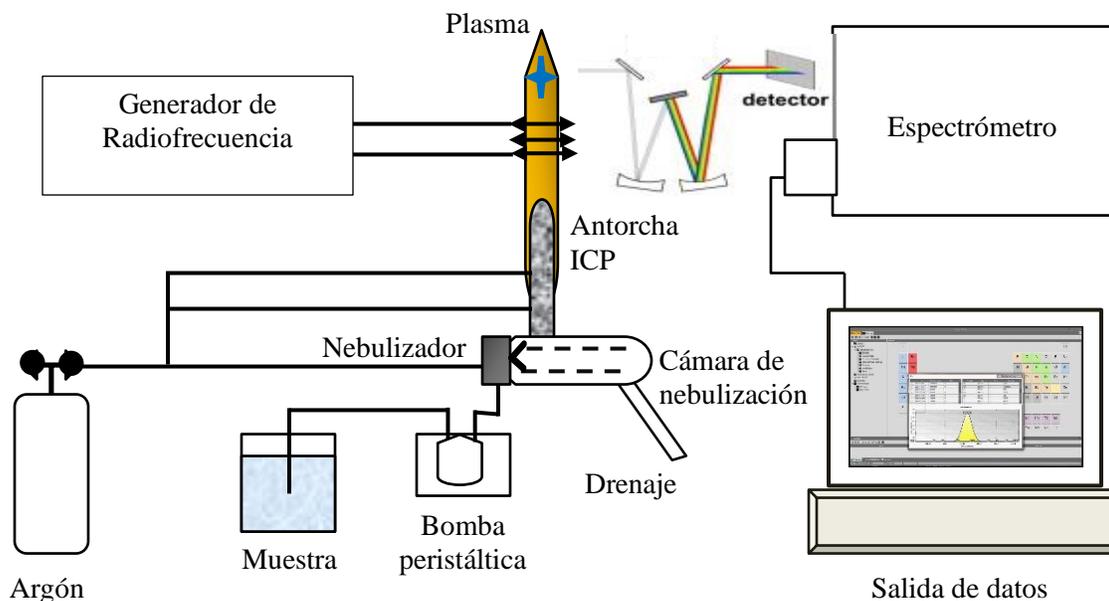


Figura 9. Diagrama de los componentes más importantes que conforma el equipo ICP-OES

Para el análisis en el equipo ICP-OES, la muestra se introduce en solución mediante bombeo con una bomba peristáltica a través de un tubo capilar flexible hacia un nebulizador de tipo concéntrico. En el nebulizador la muestra líquida forma un aerosol fino. El aerosol pasa a una cámara de atomización donde las gotas más finas son transportadas al centro de la antorcha de cuarzo, donde se forma el plasma. En el plasma se distingue una zona designada como “zona de inducción”, que es la región en donde la energía es transferida al plasma por la interacción entre el gas argón y el campo magnético de radiofrecuencia. La temperatura que se logra alcanzar en la zona de inducción es tan alta que la muestra aspirada sufre desolvación⁵, vaporización a nivel molecular y disociación a nivel atómico. Los átomos resultantes pueden llegar a ionizarse y excitarse. Las emisiones de los átomos excitados se

⁵ Desolvación. El líquido disolvente se evapora y la muestra permanece seca.

detectan mediante un sistema óptico basado en un policromador combinado con detectores CCD⁶, obteniendo espectros de emisión para las líneas seleccionadas de cada elemento (Figura 9) (86).

La concentración del elemento analizado se lee directamente en la pantalla del instrumento y está relacionada con la curva de la calibración. Los resultados de las determinaciones de las muestras se expresan de manera convencional en unidades de mg/L para muestras acuosas y en mg/Kg de peso seco para muestras sólidas (87). En muestras diluidas se multiplica la concentración obtenida por el factor de dilución y en el caso de muestras sólidas, la concentración se calcula usando la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración } \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \right) = \frac{C \times V \times D}{W};$$

donde C = concentración en extracto (mg/L o mg/Kg de peso seco), V= volumen del extracto (L), D = factor de dilución (sin diluir = 1), W= Peso de la alícuota de la muestra extraída (g x 0.001 = kg) (88).

El método ICP-OES puede ser aplicable para muestras sólidas o líquidas tras una digestión ácida en el caso de la determinación de los elementos totales. Estos elementos pueden ser sodio, potasio, calcio, magnesio, fósforo, boro, aluminio, antimonio, arsénico, berilio, bismuto, cadmio, cromo, cobalto, cobre, hierro, plomo, litio, manganeso, azufre, molibdeno, níquel, selenio, estroncio, talio, titanio, vanadio, rubidio y zinc (88). Los desarrollos tecnológicos recientes en el equipo instrumental ICP-OES han convertido a esta técnica analítica en una de las herramientas más importantes para el análisis de muestras para la cuantificación de minerales en muestras complejas.

⁶ Detectores CCD. Dispositivo de carga acoplada, por sus siglas en inglés. Se encarga de la conversión de una señal luminosa en una señal eléctrica.

CAPÍTULO 3. MARCO CONCEPTUAL DE LA TESIS

3.1 Justificación

En nuestro país, gran parte del suero generado por los productores de queso es desechado causando problemas de contaminación en ríos y suelos. Debido a esto, resulta importante hacer énfasis sobre el valor nutricional del suero lácteo y realizar propuestas para el aprovechamiento integral de este subproducto de la industria quesera en el sector alimentario.

En este sentido, durante el año 2017 en el Laboratorio de Bioprocesos de la UTM se desarrolló una bebida probiótica a partir de proteínas de suero lácteo obtenidas mediante filtración por membranas, como parte del proyecto Proinnova Conacyt-Procesadora de Lácteos La Nona 2016 No. 233114. En el estudio, el suero lácteo provisto por la empresa la Nona fue sometido a un proceso de micro y ultrafiltración, aprovechando las fracciones retenidas enriquecidas principalmente en proteínas para el desarrollo de una bebida fermentada probiótica a base de suero lácteo.

En el presente trabajo se aprovechó la fracción permeada de la ultrafiltración (rico en minerales y azúcares), que constituye un residuo del proceso de elaboración de la bebida probiótica desarrollada anteriormente, para la formulación de una bebida isotónica para deportistas. Para su elaboración, el permeado de la UF se sometió a un proceso de ósmosis inversa que permitió obtener un concentrado de sales minerales y azúcares. El concentrado obtenido se utilizó posteriormente para desarrollar una formulación de una bebida isotónica para deportistas. Con este proceso se produjo un aprovechamiento integral del suero lácteo original, además, el permeado del proceso de ósmosis inversa sirvió como agua de proceso, incluso podría utilizarse para consumo humano, lo que representa un procesamiento global altamente sustentable y eficiente.

Debido a que en la actualidad existe un bajo desarrollo industrial en el estado de Oaxaca y en general en nuestro país, el presente trabajo está enfocado a la formulación y elaboración de una bebida para deportistas a base de suero lácteo, constituyendo una gran oportunidad de desarrollo tecnológico en la región y en el país. Así mismo, se consideró que las bebidas diseñadas para los deportistas buscan suministrar un aporte correcto de agua y electrolitos perdidos a través de la sudoración, así como de hidratos de carbono que mantenga niveles

adecuados de glucosa en sangre, que no provoque molestias gastrointestinales y sobre todo que aporte un sabor apetecible. Por lo que, en este trabajo se desarrollaron 3 formulaciones de bebidas para deportistas con diferentes hidratos de carbono para lograr establecer una mejor recomendación de la bebida para su consumo en personas que realicen deportes.

Finalmente, con el presente proyecto se promueve una estrategia para aprovechar de manera integral los recursos y minimizar la contaminación del ambiente.

3.2. Originalidad

La recuperación del suero lácteo presenta la posibilidad de producir una amplia gama de productos industriales, principalmente en las industrias de la confitería, la panadería, así como en la industria cárnica. Sin embargo, en la literatura científica e información comercial no se han reportado aplicaciones en la fabricación de bebidas hidratantes para deportistas a base de este residuo de la industria quesera.

Adicionalmente, las tecnologías de filtración por membranas, principalmente la ultrafiltración y la ósmosis inversa han sido utilizadas ampliamente por diferentes industrias para purificar aguas residuales o para la obtención de compuestos de valor agregado, tales como proteínas, enzimas e hidratos de carbono. No obstante, hasta el momento en la literatura no existen estudios que utilicen estos procesos de filtración para el desarrollo de bebidas para deportistas.

Tomando en cuenta lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo hacer uso de diversos procesos de filtración por membranas para obtener un concentrado de sales minerales a partir de suero lácteo. Adicionalmente, en este proyecto se pretende formular una bebida hidratante isotónica para deportistas usando el concentrado salino obtenido. Con base al estado del arte relativo a este campo tecnológico, y considerando el objetivo del trabajo se puede considerar el presente trabajo como un proyecto original.

Por otra parte, en este proyecto también se consideró el uso de diferentes tipos de carbohidratos para la elaboración de la bebida y su aporte energético, con el objetivo de poder dar una mejor orientación al consumidor sobre la ingesta recomendada en función de la actividad física realizada por el deportista. De acuerdo a esto, se desarrollaron tres diferentes formulaciones variando el tipo de hidratos de carbono y se realizó una evaluación sensorial preliminar. Considerando lo anterior, así como la literatura especializada, este desarrollo

también representa un aporte original de este trabajo en el ámbito de la ciencia y tecnología de bebidas.

3.3. Objetivos

3.3.1 Objetivo general

Desarrollar y evaluar sensorialmente formulaciones de bebidas para deportistas con diferentes tipos de carbohidratos a partir de un concentrado de sales minerales obtenido del suero lácteo empleando sistemas de filtración por membranas: microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa.

3.3.2 Objetivos Específicos

1. Realizar el análisis fisicoquímico del suero lácteo.
2. Obtener y caracterizar un concentrado de sales minerales y azúcares a partir del suero lácteo usando membranas de microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa.
3. Desarrollar una solución isotónica base usando el concentrado mineral obtenido en el Objetivo 2.
4. Diseñar formulaciones de bebidas para deportistas variando el tipo de carbohidrato usado como fuente de carbono.
5. Evaluar sensorialmente las formulaciones desarrolladas.

3.4. Metas del trabajo

1. Para el Objetivo específico 1:

- 1.1. Determinación del análisis proximal del suero lácteo usando métodos estándar.
- 1.2. Cuantificación de azúcares reductores totales por el método del ácido fenol-sulfúrico.
- 1.3. Determinación de lactosa utilizando un kit comercial “Lactose Assay Kit”

2. Para el Objetivo específico 2:

- 2.1. Separación de grasas e impurezas presentes en el suero lácteo usando membranas de microfiltración.
- 2.2. Separación de proteínas y polisacáridos del suero lácteo usando membranas de ultrafiltración.
- 2.3. Concentración de sales minerales y azúcares usando filtración por membranas de ósmosis inversa.
- 2.4. Caracterización fisicoquímica de los concentrados de los procesos de microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa.
- 2.5. Estimación de minerales base en el concentrado del proceso de ósmosis inversa.

3. Para el Objetivo específico 3:

- 3.1. Elaboración de una solución isotónica base a partir del concentrado de suero lácteo obtenido en la meta 2.3.
- 3.2. Formulación y desarrollo de bebidas para deportistas empleando diferentes hidratos de carbono para su formulación.

4. Para el Objetivo específico 4:

- 4.1. Evaluación sensorial preliminar de las formulaciones de las bebidas para deportistas desarrolladas de acuerdo a la Meta 3.2.

CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA

Como se describe en la Figura 10, en este proyecto el suero lácteo se sometió de manera general a procesos de filtración por membranas para la obtención de una solución isotónica base para realizar las formulaciones de las bebidas para deportistas. El proceso se inició con el tratamiento de microfiltración (MF) para la retención de grasas y partículas extrañas. El permeado obtenido de este proceso se utilizó como alimentación en el proceso de ultrafiltración (UF). Tanto la MF como la UF se usaron como tratamientos previos para la ósmosis inversa. Este último proceso se llevó a cabo para la obtención de un concentrado mineral para la elaboración de las bebidas para deportistas. Se realizaron análisis proximales al suero lácteo, así como a todas las corrientes de todas las filtraciones por membranas. Una vez conocidas la concentración de las sales minerales en el retenido de ósmosis inversa (ROI) se procedió a la preparación de la solución isotónica base, para después desarrollar formulaciones de bebidas para deportistas empleando diferentes fuentes de hidratos de carbono. Finalmente se evaluaron sensorialmente las bebidas desarrolladas.

En la Figura 10 se presenta el diagrama de flujo general de la metodología seguida para la realización de este trabajo.

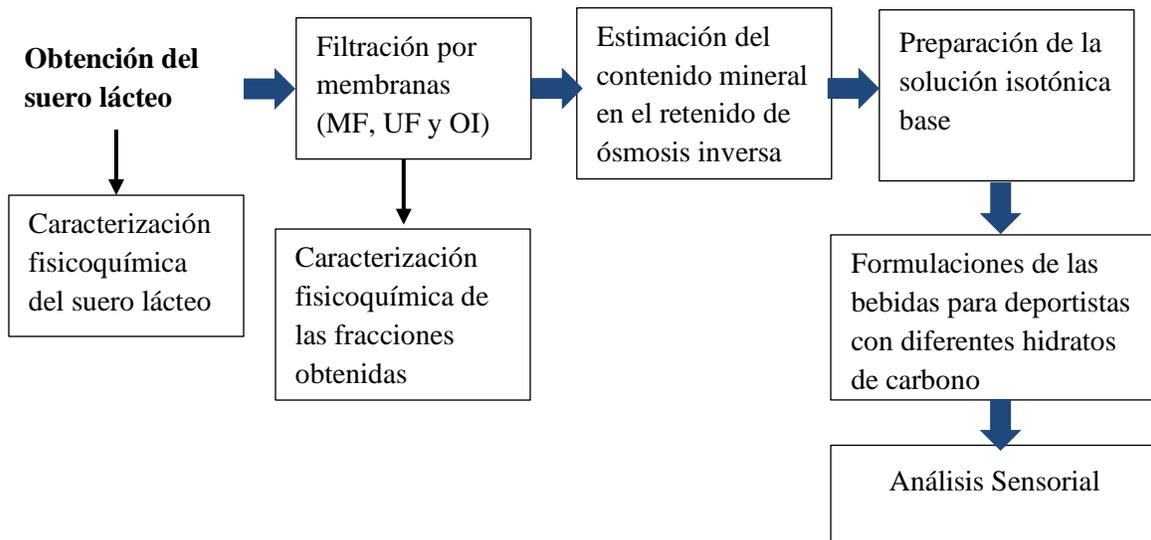


Figura 10. Diagrama de flujo general del proceso de elaboración de la bebida para deportistas seguido en este trabajo. MF, microfiltración; UF, ultrafiltración; OI, ósmosis inversa

4.1. Obtención de la materia prima

El suero lácteo se obtuvo directamente de la empresa “Procesadora de Lácteos la Nona S. de P.R. de R.L” bajo condiciones especificadas en la NOM-112-SSA1-1994. El suero se colocó en contenedores estériles y se transportó a la Universidad Tecnológica de la Mixteca en hieleras. Posteriormente el suero lácteo se conservó a 4°C hasta su utilización.

4.2 Caracterización fisicoquímica del suero lácteo

4.2.1 Análisis proximales del suero lácteo

Se realizaron análisis proximales del suero lácteo utilizando las especificaciones del proyecto de norma mexicana PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Todos los análisis se realizaron por triplicado. Se verificó la calibración de los instrumentos antes de la realización de los análisis.

Determinación de pH

El pH se midió con un potenciómetro OAKTON 1100 de acuerdo a la norma NMX-F-317-S-1978. Se tomó una porción de muestra homogénea y se ajustó su temperatura a 20 ± 0.5 °C. Posteriormente, se realizó la lectura del pH (66).

Determinación de grasas

La materia grasa se determinó por el método de Gerber según la norma NMX-F-387-1982. Para el análisis del lactosuero realizado en este trabajo, se mezcló 10 mL de ácido sulfúrico, 11 mL de muestra y 1 mL de alcohol amílico en un butirómetro de Gerber. Se agitó el butirómetro hasta la obtención de una mezcla homogénea. La mezcla se centrifugó por 5 min a 1000-1200 rpm en una centrífuga Gerber. Posteriormente, el butirómetro se colocó en un baño térmico de agua a 65 °C por 5-10 min, después de lo cual se realizó la lectura de la concentración de grasa (66).

Determinación de proteínas

El contenido de proteína en el suero lácteo se determinó por el método de Kjeldahl según la norma NMX-F-513-1988. Se tomó 1 mL de la muestra y se colocó en el matraz de

digestión con la adición de 2.4 g de sulfato de potasio, 0.2 g de sulfato de cobre y 2.5 mL de ácido sulfúrico. El matraz con la mezcla se colocó en el digestor para realizar la digestión de la muestra (Figura 11a). Posteriormente, una vez enfriada la muestra a temperatura ambiente, a ésta se le adicionó 17 mL de agua, después de lo cual la mezcla se colocó en la unidad de destilación (Figura 11b). Subsecuentemente, se añadió al matraz 11 mL de NaOH al 50%. La muestra destilada se llevó a un matraz con 10 mL de ácido bórico al 4 % y 3 gotas de indicador mixto de rojo de metileno y azul de metileno. El destilado se tituló con HCl 0.1 N (Figura 11c). La estimación del contenido proteico se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times N \times 0.014}{M} \times 100 ;$$

donde:

V = Volumen del ácido clorhídrico empleado en la titulación (mL);

N = Normalidad del ácido clorhídrico;

M = Masa de la muestra (g);

0.014 = Miliequivalentes de nitrógeno;

Para el cálculo de la concentración de proteína en la muestra se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de proteína} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.38;$$

donde el valor de 6.38 es el factor utilizado para obtener la concentración de proteína en productos lácteos (89).

Finalmente, se aplicó la siguiente ecuación para el cálculo de la proteína en unidades de g/L:

$$\text{Proteína} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \% \text{ de proteína} \times 10 \times \text{densidad}.$$

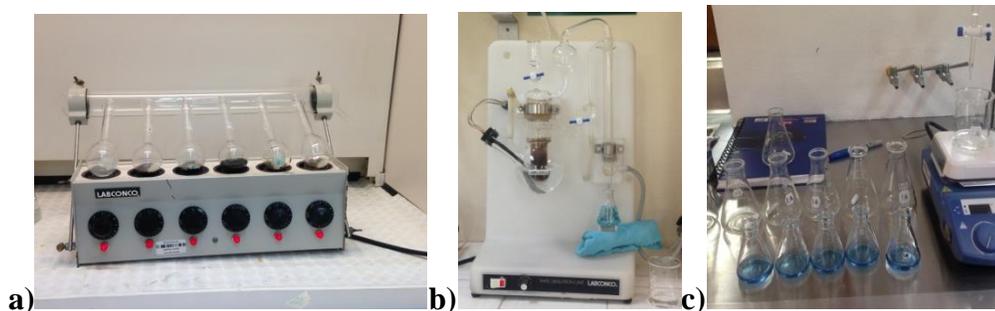


Figura 11. Procesamientos realizados para la determinación de proteína en el suero lácteo: a) Digestión de la muestra; b) Destilación de la muestra; c) Titulación de la muestra

Determinación de la densidad

La densidad se determinó conforme al método del picnómetro. La muestra se homogenizó y se ajustó a una temperatura de 20 °C. Se midió 100 mL de muestra para llenar el picnómetro que previamente había sido llevado a peso constante. El valor de la densidad se obtuvo mediante la aplicación de la siguiente ecuación (66):

$$\rho \left(\frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right) = \frac{\text{peso picnómetro con la muestra} - \text{peso picnómetro sin muestra}}{\text{volumen utilizado}}$$

Determinación de sólidos totales

Para determinar la humedad se pesó 2 mL de muestra y se colocó en una cápsula previamente secada a peso constante. La muestra se colocó en una estufa a 105 °C por 5 horas consecutivas. Posteriormente las cápsulas se colocaron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente; seguido de lo cual, la muestra se pesó. La cantidad de sólidos totales (g/L) se obtuvo utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Sólidos Totales} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{P_2 - P_1}{M} \times 1000 ;$$

donde P_2 es la masa de la cápsula con el residuo después de la evaporación (g), P_1 es la masa de la cápsula vacía a peso constante (g) y M es el volumen de la muestra (mL) (90).

Determinación de cenizas totales

Para la determinación de cenizas, se colocó 2 mL de muestra en crisoles previamente secados a peso constante. Primero se quitó la humedad a la muestra mediante secado en estufa

a 105°C por 5 horas consecutivas; posteriormente, el crisol con la muestra deshidratada se colocó en la mufla para efectuar su calcinación completa a 550 °C durante 24 h. El contenido de cenizas se obtuvo mediante la siguiente ecuación (66):

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{C-A}{B} \times 100 ;$$

donde:

A = Peso del crisol vacío (g);

B = Peso de la muestra (g);

C = Peso del crisol con cenizas (g).

4.2.2. Cuantificación de azúcares reductores totales

Para realizar la determinación de carbohidratos totales, se utilizó el método del fenol-sulfúrico (66,91). Para esta determinación se tomó 1 mL de la muestra diluida en una proporción 1:250 con agua pasada por ósmosis. Posteriormente se colocó 1 ml de la dilución en un tubo de ensaye con la subsecuente adición de 0.5 mL de solución de fenol al 4% (m/v) en agua. Después de esto, se añadió rápidamente 2.5 mL de H₂SO₄ concentrado al tubo de ensaye y se dejó reposar por 10 min. Los tubos se agitaron por 1 min, después de lo cual, se dejaron reposar a 25 °C por 20 min. Pasado ese tiempo, los tubos se agitaron nuevamente y se midió la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 490 nm en un espectrofotómetro UV-vis GENESYS 50 (Thermo Scientific®, EUA). Por otro lado, la curva de calibración se obtuvo empleando un estándar de lactosa monohidratada (Anexo A). Las concentraciones de carbohidratos totales en las muestras (g/L eq. de lactosa) se obtuvieron interpolando las absorbancias en la curva de calibración.

4.2.3. Medición de lactosa en el suero lácteo

La concentración de lactosa se determinó usando para este propósito un kit enzimático comercial Lactose Assay Kit (Sigma-Aldrich®, EUA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El análisis de lactosa por medio de este kit se basa en la hidrólisis de la lactosa para producir galactosa y glucosa por medio de la enzima lactasa. Posteriormente, la

galactosa se oxida dando como resultado un producto colorimétrico proporcional a la lactosa inicialmente presente. El análisis se realizó por duplicado.

El ensayo se inició con la preparación de los estándares. Para esto se diluyó 10 μL del estándar de lactosa (100 nmol/ μL) con 990 μL del buffer Lactose Assay Buffer generando una solución patrón de 1 nmol/ μL . A continuación, se pipetearon 0 (blanco), 2, 4, 6, 8 y 10 μL de la solución patrón por duplicado en una placa de 96 pozos. Cada pozo se completó con el reactivo Lactose Assay Buffer hasta llegar a un volumen de 50 μL .

Para la preparación de la muestra, primero se diluyó 10 μL de suero en 1590 μL de agua destilada. Seguido de esto, se vertió 10 μL de la dilución en cada pozo de la placa por duplicado y se llevó a un volumen final de 50 μL con la adición del reactivo Lactose Assay Buffer. Para las muestras blanco, se realizó la misma preparación, pero en vez de muestra de suero se utilizó el reactivo Lactose Assay Buffer. Para generar la reacción enzimática, se agregó 2 μL de la enzima lactasa a cada uno de los pozos del estándar y de la muestra para hidrolizar la lactosa. Adicionalmente, a las muestras blanco se les añadió 2 μL de Lactose Assay Buffer en lugar de la enzima.

Por otra parte, se preparó la siguiente mezcla de reacción: 2112 μL del buffer Lactose Assay Buffer, 96 μL del reactivo Probe, 96 μL del reactivo Lactose Enzyme Mix y 96 μL de la enzima peroxidasa (HRP, por sus siglas en inglés). De la mezcla de reacción preparada se agregó 50 μL a cada pozo de estándares, muestras y muestras blanco. El volumen de cada pozo se mezcló mediante pipeteo dos veces, y las muestras se incubaron durante 60 min a 37 °C protegiendo la placa de la luz. Finalmente se leyó la absorbancia a 570 nm en un lector multi-modal de microplacas modelo SYNERGY™ (HTX, EUA). Las concentraciones de lactosa en las muestras (p/v) se obtuvieron interpolando las absorbancias en la curva de calibración obtenida a partir de los estándares de lactosa (Anexo B).

4.3. Obtención del concentrado de sales minerales y azúcares provenientes del suero lácteo

En la Figura 12 se muestra un esquema de los procesos de filtración por membranas a los que fue sometido el suero lácteo para la obtención del concentrado mineral, que incluyó las operaciones de microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa. Antes de someter el

suero al proceso de ósmosis inversa, el suero tuvo que ser pretratado para reducir la posibilidad de taponamiento de la membrana. De manera general, el pretratamiento consistió en el procesamiento del suero por membranas de microfiltración, seguido por el proceso de ultrafiltración. Se realizaron análisis proximales a los diferentes retenidos de acuerdo con la Sección 4.2 para conocer los principales constituyentes presentes en la corriente de retenido en cada una de las filtraciones. Las fracciones retenidas ricas en proteínas fueron utilizadas en otro proyecto del grupo de Bioprocesos. El permeado de la ultrafiltración fue procesado en un sistema de ósmosis inversa para obtener un concentrado mineral en la fracción retenida. Finalmente, esta fracción fue utilizada en las secciones posteriores para el desarrollo de formulaciones de bebidas para deportistas.

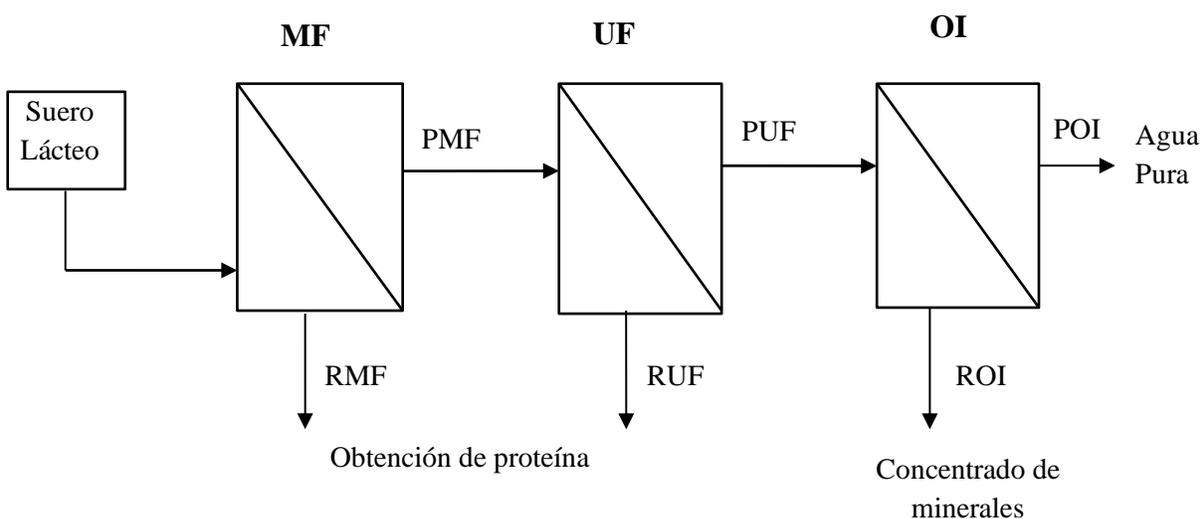


Figura 12. Diagrama de flujo de los procesos de membrana empleados para la obtención del concentrado de sales minerales y azúcares a partir del suero lácteo. Clave: MF, microfiltración; UF, ultrafiltración; OI, ósmosis inversa; prefijos: P, permeado; R, retenido

4.3.1 Proceso de microfiltración

Primeramente, se realizó la limpieza del equipo. Se lavó con detergente cada una de las piezas y mangueras. Una vez limpio el equipo, se instaló el cartucho de microfiltración P2HVMPV01 Cassette Durapore Pellicon 2 Mini (Millipore, EUA) de $0.45\ \mu\text{m}$ con $0.1\ \text{m}^2$ de área filtrante en el módulo de filtración Pellicon 2 Mini (Millipore, EUA). La microfiltración se realizó con una configuración en el modo de concentración con

recirculación de la alimentación (Figura 13), haciendo uso de presiones no mayores a 2 bar, una temperatura constante de 40°C y un flujo de entre 400 y 500 ml/min en la alimentación. Se usó un factor de concentración volumétrico (FCV) de 3.5. Las fracciones obtenidas se recibieron en recipientes estériles de vidrio graduados para el monitoreo del factor de concentración volumétrico (Figura 14). La fracción retenida se utilizó para la obtención de proteína en otro proyecto del grupo de Bioprocesos, y la fracción permeada se almacenó en refrigeración a 4°C hasta su posterior procesamiento por membranas de ultrafiltración.

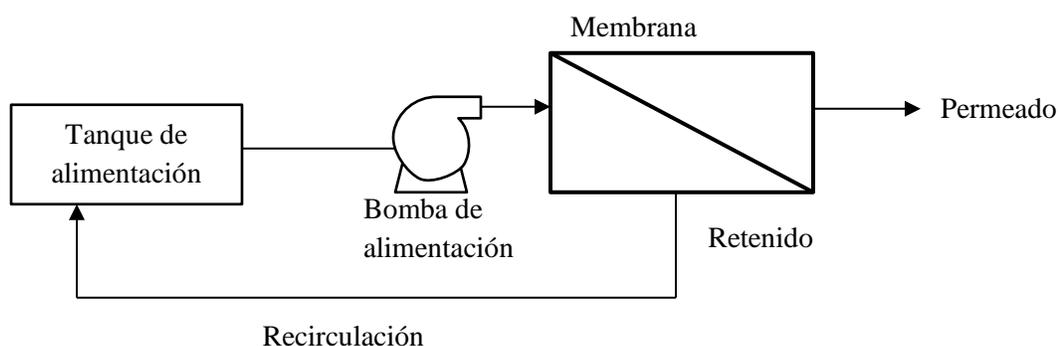


Figura 13. Diagrama de la configuración del proceso de membranas en el modo de concentración con recirculación de la alimentación

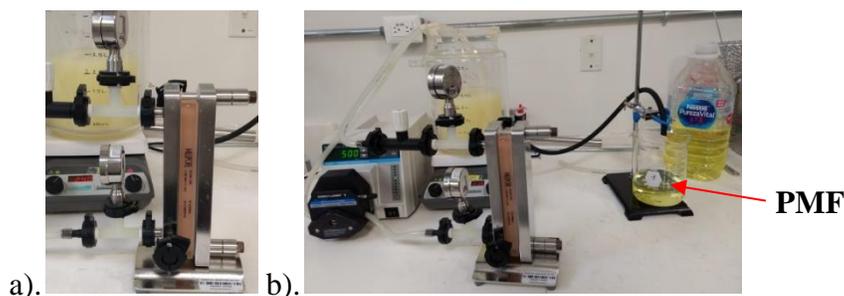


Figura 14. Sistema de microfiltración empleado para el procesamiento inicial del suero lácteo. a) Cartucho de membrana de microfiltración Cassette Durapore Pellicon 2 Mini de 0.45 μm con 0.1 m^2 de área filtrante; b) Procesamiento de microfiltración del suero lácteo

4.3.2 Proceso de ultrafiltración

En esta etapa se utilizaron las mismas condiciones y montado del equipo empleadas en el proceso de microfiltración. En este caso, como corriente de alimentación, se usó el

permeado de la microfiltración (PMF, Figura 13). Para realizar la ultrafiltración se utilizó una membrana P2C010C01 Ultracel Pellicon 2 Mini (Millipore, EUA) de 10 kDa con un área filtrante de 0.1 m², usando el mismo módulo de la membrana y la misma configuración de recirculación de la alimentación que en el proceso de la MF (Figura 13). La filtración se llevó a cabo con un factor de concentración volumétrico igual al de la microfiltración (FCV =3.5) y con un flujo aproximado de entre 400 y 500 mL/min en la alimentación (Figura 15). La fracción retenida fue utilizada como concentrado de proteína para otro proyecto del grupo de Bioprocesos, y la fracción permeada fue colectada y almacenada de la misma manera que fue descrita para el caso de la microfiltración, hasta su uso posterior como material de alimentación para el proceso de ósmosis inversa.

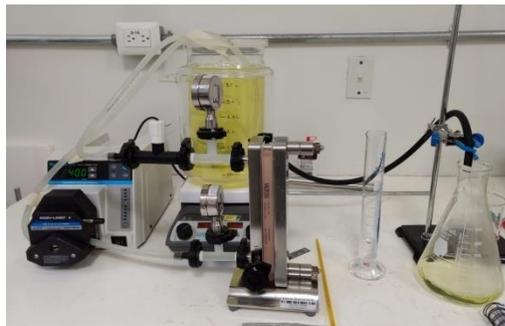


Figura 15. Sistema de ultrafiltración usando una membrana Millipore Ultracel Pellicon 2 Mini de 10 kDa con 0.1 m² de área filtrante

4.3.3 Proceso de ósmosis inversa (OI)

Para el proceso de ósmosis inversa, se utilizó el sistema METcell Cross-Flow System (Evonik, Reino Unido). El equipo se usó con dos diferentes configuraciones: filtración normal y filtración tangencial.

Filtración de OI en modo de flujo normal

Primeramente, se instaló el equipo de ósmosis inversa con la configuración de modo de filtración normal (Figura 16). El principal objetivo del uso de esta configuración fue evaluar de manera preliminar la eficiencia de la membrana. Para el armado del equipo, el tanque METcell se conectó al panel de regulación de gas de nitrógeno. Se verificó que ambas

partes del acoplamiento estuvieran limpias y libres de impurezas. Para este proceso, se utilizó una membrana de hoja plana Trisep® (Sterlitech, EUA) de material de acetato de celulosa con una retención nominal de sales del 99% y un área filtrante de 52.81 cm². Siguiendo las instrucciones del proveedor del equipo de OI, la membrana se insertó con la capa activa hacia abajo, de modo que éste estuviera en contacto con la solución de alimentación (Figura 17). El sistema de filtración se ajustó a una presión de 40 bar.

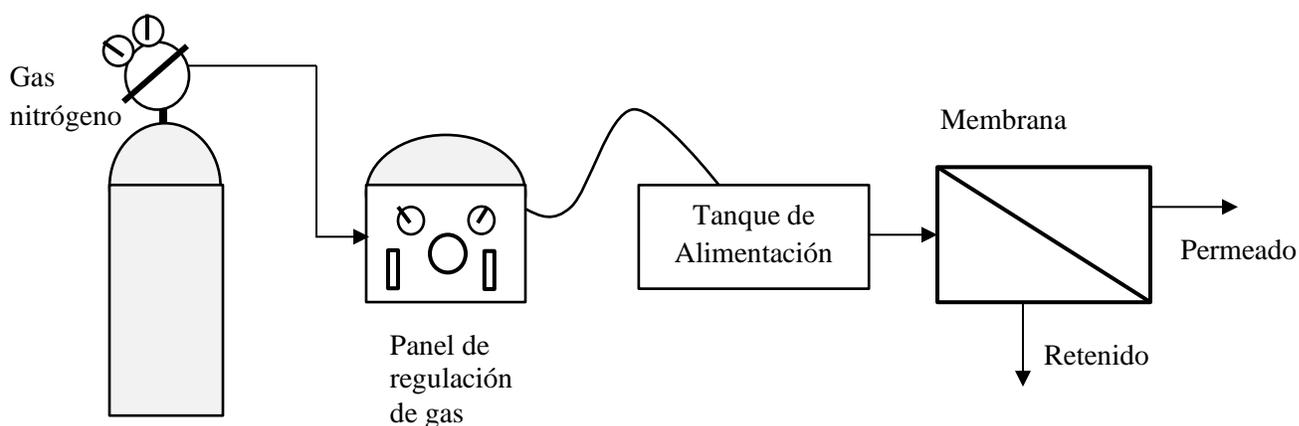


Figura 16. Diagrama del sistema de ósmosis inversa METcell Cross-Flow System en la configuración de flujo normal



Figura 17. Sistema de filtración de ósmosis inversa METcell Cross-Flow System configurado en el modo de flujo normal usando una membrana de OI Trisep®

Antes de iniciar el proceso con la muestra (permeado de ultrafiltración), la membrana se acondicionó pasando agua destilada por aproximadamente 2 hrs hasta que el flux del permeado se mantuviera constante. El flux se calculó usando la ecuación descrita en la Sección 2.5.2.2. Como alimentación del proceso de OI se utilizó el permeado de la ultrafiltración (PUF) con un volumen inicial de 250 mL. Se realizaron tres corridas donde cada una tuvo una duración de aproximadamente 5 hrs para terminar de filtrar el PUF. La filtración inició con una presión de 5 bar y se revisó que no hubiera fuga de gas en ninguna de las conexiones del equipo, después se aumentó la presión a 10, 20, 30 hasta llegar a los 40 bar.

Una vez concluida la corrida, para apagar el equipo, primeramente, se cerró la válvula de suministro de presión al sistema y después se le cerró la del tanque de gas. Finalmente se purgó la presión retenida en el panel de regulación de gas. Al finalizar cada corrida, se obtuvieron dos fracciones: un permeado y un retenido. Las fracciones obtenidas se guardaron en congelación hasta su posterior análisis proximal.

Filtración de OI en modo de flujo tangencial

La filtración por ósmosis inversa en la configuración de modo de flujo tangencial se utilizó el equipo MetCell Cross-Flow. El objetivo de usar esta configuración es debido a que es un proceso en el que se tiene una mayor productividad en la filtración y se puede mantener por más tiempo un flux de permeado adecuado. Considerando lo anterior, en este proceso se pueden filtrar mayores volúmenes de muestra en comparación con el proceso de filtración normal. El sistema de filtración se armó conectando la línea de retenido entre las dos celdas de filtración, verificando previamente que ambas partes estuvieran limpias. A cada celda de filtración se le colocó una membrana de OI y ambas se conectaron al tanque de alimentación. Con una bomba de engranajes (Micropump, USA) se hizo circular el PUF tal y como se muestra en la Figura 18.

Para incorporar las membranas a las celdas, se cortaron cuidadosamente con tijeras dos discos de membrana Trisep® (Sterlitech, EUA) con un área de 17 cm² cada uno, cuidado no dañar la membrana durante el procedimiento. Al igual que en modo de filtración normal, la membrana se insertó de modo que la capa activa estuviese en contacto con la solución de alimentación (Figura 19).

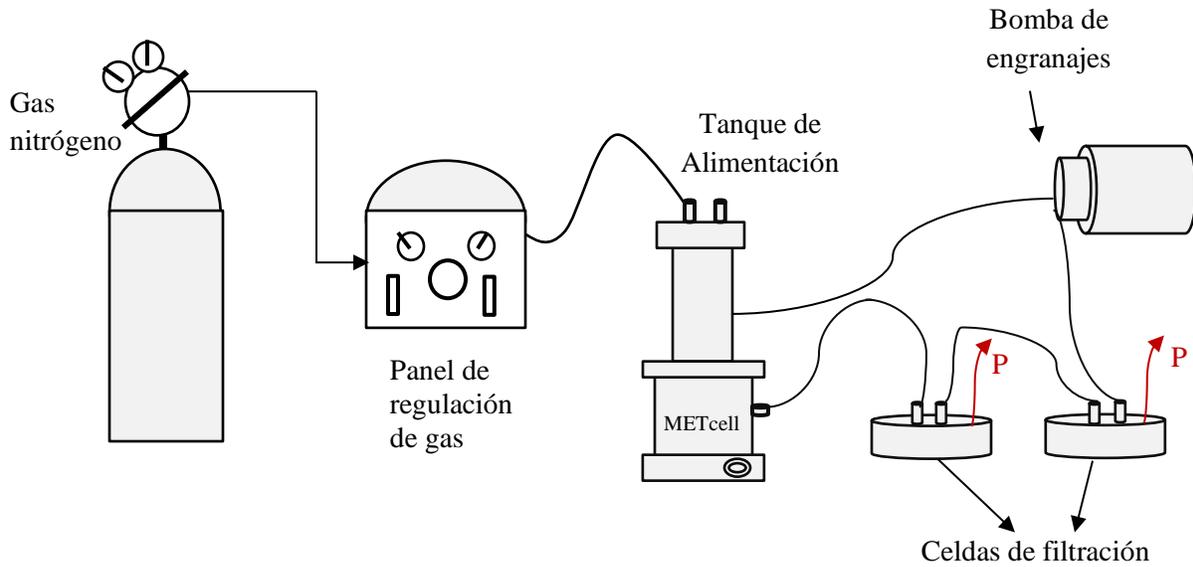


Figura 18. Diagrama del sistema METcell Cross-Flow del proceso de ósmosis inversa en la configuración de flujo tangencial. **P**, representa la salida del permeado

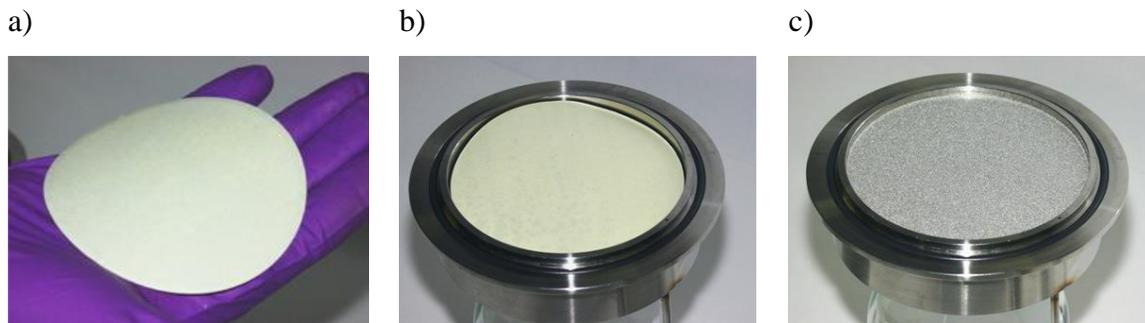


Figura 19. Colocación del disco de la membrana en posición a la celda de filtración. a) Membrana de OI Trisep®; b) Posición de la membrana de OI con la capa activa en contacto con la solución; c) Colocación de un soporte de disco de acero inoxidable poroso encima de la membrana de OI para mantenerla en su lugar

Una vez ensamblado el sistema y después de asegurarse que las celdas estuvieran selladas herméticamente, se suministró nitrógeno para presurizar el sistema de flujo cruzado METcell. Para esto, se abrió la válvula de regulación de gas ubicada en el panel de regulación de gas para lograr una presión en el sistema de filtración de 40 bar. Una vez ensamblado y presurizado el sistema se encendió la bomba de engranajes, que ayuda a generar un flujo

tangencial a través de los módulos de membrana METcell. La bomba se operó a un flujo nominal de 60 L/h. El flujo de alimentación se introdujo tangencialmente en cada celda de filtración en el diámetro exterior de la superficie de la membrana y se extrajo en el centro de la celda de filtración (Figura 20).

De igual modo que en la filtración en modo de flujo normal, se acondicionó la membrana pasando agua destilada un tiempo aproximado de 2 hrs hasta que el flux se mantuviera constante. El flux se calculó utilizando la ecuación descrita en la Sección 2.5.2.2. El volumen inicial de alimentación (PUF) fue de 620 mL y se estimó un volumen aproximado de permeado para mantener un factor de concentración volumétrica (FCV) de 5. El FCV se calculó por medio de la ecuación descrita en la Sección 2.5.2.2. Adicionalmente, se calculó el flujo del permeado; para esto, utilizando una probeta se midió el tiempo por cada 5 mL de suero permeado (POI). Una vez que se obtuvo el volumen estimado de POI se procedió a finalizar el proceso de filtración. Durante el proceso se obtuvieron dos fracciones, un permeado (POI) y un retenido (ROI). Las fracciones obtenidas se congelaron hasta su uso posterior para la realización del análisis proximal. En esta configuración se realizaron 2 corridas donde la alimentación fue el permeado de ultrafiltración (PUF).



Figura 20. Equipo de filtración por membranas de ósmosis inversa (METcell Cross-Flow System), usando la configuración de modo de flujo tangencial. P, colección del permeado

4.3.4. Análisis fisicoquímicos de las fracciones obtenidas en los procesos de micro y ultrafiltración

A las fracciones que se obtuvieron de los procesos de micro y ultrafiltración (RMF, PUF, RUF y PUF) se les determinó el contenido de sólidos totales, proteínas, azúcares reductores, lactosa, cenizas totales, densidad, pH y acidez. La metodología utilizada para cada análisis está descrita en la Sección 4.2.1. y 4.2.3

4.3.5. Caracterización fisicoquímica de las fracciones del proceso de ósmosis inversa

Durante el proceso de filtración por ósmosis inversa se obtuvieron dos fracciones, un permeado (POI) y un retenido (ROI). Al retenido de ósmosis inversa se le determinó el contenido de cenizas totales, azúcares y proteínas; la metodología utilizada para dichos análisis se describió en la Sección 4.2.1. Así mismo, a la fracción ROI también se le determinó la concentración de sales minerales, principalmente sodio, potasio, calcio y magnesio (Sección 4.4.2).

4.4 Elaboración de bebida para deportistas a partir del concentrado de suero lácteo

4.4.1 Tratamiento del retenido de ósmosis inversa con carbón activado

El suero lácteo contiene algunos ácidos orgánicos como el ácido butírico, el ácido láctico, el ácido propiónico que contribuyen a un olor, sabor y textura particular (59). A pesar de los procesos de MF, UF y ósmosis inversa, la fracción ROI tenía un olor característico que podría ser desagradable para algunas personas. Por tanto, el ROI pasó por un proceso de desodorizante utilizando carbón activado (Azul®) con el objetivo de que éste sirva como una esponja natural para absorber ciertos componentes y reducir en su totalidad el aroma ácido. En un frasco con la fracción ROI se le agregó 100 g de carbón activado y se dejó reposar durante 24 h en el refrigerador. Posteriormente, se filtró el ROI utilizando papel filtro Whatman® grado 4. La recolección filtrada se guardó en un frasco y se refrigeró a 4°C hasta su posterior uso.

4.4.2. Preparación de la solución isotónica base

Tomando en cuenta que en este trabajo se tiene como objetivo el desarrollo de una bebida isotónica para deportistas, se utilizó la fórmula para la solución isotónica base que se enlista en la Tabla 7. La fórmula isotónica fue elaborada con base a las recomendaciones reportadas en los trabajos de Urdampilleta (7) y de Martínez (41).

Tabla 7. Recomendación de la cantidad de azúcares y minerales que debe tener una bebida isotónica para deportistas para su consumo durante la actividad física (8,41)

Hidratos de carbono		6%
Minerales	Sodio	40 mg/100 ml
	Potasio	15 mg/100 ml

Desafortunadamente, debido a situaciones fuera de nuestro control y con el afán de cumplir con los tiempos de trabajo experimental estipulados, no se pudo hacer el análisis elemental de minerales en el concentrado mineral como se había planeado originalmente, por lo que se procedió a hacer la estimación del contenido sodio y potasio. Para la elaboración de la solución isotónica se realizó primero un estimado de las concentraciones de sodio y potasio en la fracción del ROI en el presente trabajo. El cálculo se hizo considerando las concentraciones de sodio y potasio de la fracción permeada del proceso de ultrafiltración (PUF) reportada en el trabajo de Cuartas-Uribe *et al.* (92) (Tabla 8). Utilizando los resultados de la concentración de cenizas totales y mediante una regla de tres simple, se estableció la concentración de cada mineral en la fracción ROI.

Tabla 8. Concentración de minerales en el permeado de ultrafiltración reportado por Cuartas-Uribe *et al.* (92)

Parámetros	PUF	%
Cenizas (mg/L)	4849	100
Sodio (mg/L)	460	9.5
Potasio (mg/L)	1700	35.1

Posteriormente, tomando en cuenta las concentraciones que representa cada mineral en la fracción ROI, se calculó el volumen de ROI requerido para preparar 1 L de solución

isotónica base con una concentración de potasio de 150 mg/L. Se consideró al potasio como electrolito base debido a que este elemento se encuentra en menor cantidad en la fórmula objetivo de la solución isotónica base descrita en la Tabla 7. Con base a este cálculo, se estimó también la cantidad de sodio que contendría el litro de solución a preparar. La ecuación utilizada para estimar el volumen de suero retenido utilizado y la concentración de los minerales fue la siguiente:

$$C_1V_1 = C_2V_2 ;$$

donde: C_1 es la concentración inicial; V_1 es el volumen inicial; C_2 es la concentración final y V_2 es el volumen final.

Considerando que se tenía que cumplir con la recomendación de sodio según la formulación objetivo de la Tabla 7, se ajustó este componente mediante la adición de 36 mg/100 mL de sodio.

4.4.3. Cuantificación de minerales utilizando el método de espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES)

Debido a los tiempos en los cuales se desarrolló el trabajo, primero se elaboró la solución isotónica con base a las concentraciones de minerales estimadas y basadas en la literatura. Si embargo, se tuvo la oportunidad de realizar después la determinación real de los minerales sodio, potasio, magnesio y calcio en la Universidad de la Sierra Juárez. Para el análisis de los minerales en el suero se utilizó un espectrofotómetro de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES, por sus siglas en inglés), Optima 7000 (Perkin Elmer®, EUA). A continuación se detalla el procedimiento de dicho análisis.

La determinación se inició tomando 20 mL de suero retenido (ROI) y se aforó a 200 mL con agua ultrapura (agua pasada por ósmosis seguido por una destilación simple). La solución obtenida se transfirió 30 mL a un matraz aforado de 50 mL. Posteriormente, se realizó la preparación del ROI siguiendo el protocolo descrito en el METHOD 200.7 por la Agencia de Protección Ambiental (88). Para la preparación de la muestra se realizó lo siguiente:

Preparación del ROI

En un vaso de precipitado se agregó 2 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3) y 1 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) a la muestra aforada anteriormente. El vaso de precipitados se colocó sobre una placa caliente para la evaporación de la solución. Previamente, la placa calefactora se ajustó a una temperatura de 85 °C y se colocó en una campana de extracción. Se cuidó que la muestra no hirviera y se continuó el calentamiento hasta reducir el volumen de la muestra hasta aproximadamente 20 mL. Posteriormente, la muestra se dejó enfriar y después de esto, se transfirió a un matraz aforado de 50 mL. La solución se aforó con agua tipo I, y a continuación se tapó y se mezcló. Posteriormente, la muestra se dejó reposar durante toda la noche a temperatura ambiente para que los sólidos en suspensión se asentaran obteniendo así una fracción líquida superior transparente (88).

Análisis del ROI

Antes de realizar el análisis, se calibró el equipo siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante utilizando soluciones estándar de calibración mixta y el blanco de calibración. Para el análisis se utilizaron cuatro blancos: el blanco de calibración usado para establecer la curva analítica (Anexo D); el blanco de reactivo de laboratorio, utilizado para evaluar la posible contaminación del procedimiento de preparación de la muestra; el blanco fortificado de laboratorio, utilizado para evaluar el desempeño rutinario de los análisis del laboratorio y un blanco de enjuague utilizado para lavar el sistema de absorción del instrumento y el nebulizador. Este blanco se aplicó entre las mediciones de los diferentes estándares para reducir posibles interferencias entre cada estándar. Adicionalmente, previo a las mediciones, se inspeccionó que el sistema de introducción de la muestra estuviera limpio (nebulizador, cámara ciclónica, inyector y antorcha).

Se configuró el sistema a la potencia seleccionada, para el funcionamiento de las soluciones acuosas (1300 Watts) así como el flujo nebulizador de argón (0.8 L/min), el flujo auxiliar de 0.2 L/min y el flujo del plasma 15 L/min. Para optimizar las condiciones de funcionamiento del plasma se ajustó la velocidad del flujo del gas de aerosol a través del nebulizador de modo que una región de emisión azul del plasma se extendiera por un tiempo aproximado de 5 a 20 min por encima de la parte superior del serpentín de trabajo (zona analítica) y se registró el caudal del gas del nebulizador como referencia para ajustar la

relación entre la señal neta y la intensidad del blanco para cada analito. Se ajustó la visión del detector en el plasma en posición axial y radial con magnesio a 1 ppm y 10 ppm, respectivamente. Una vez que se estableció la tasa de flujo de gas del nebulizador, se determinó la tasa de absorción de solución del nebulizador en 1.5 mL/min, aspirando un blanco de calibración de volumen conocido durante un periodo de al menos 3 min. De manera automática, mediante parámetros previamente establecidos en el equipo, se configuró la bomba peristáltica a una tasa de absorción que fuera uniforme y constante. Para conocer la tasa de absorción, se dividió el volumen de solución del nebulizador (blanco de calibración) por el tiempo de aspiración.

Después de optimizar las condiciones del funcionamiento del equipo, se utilizó la bomba peristáltica para introducir todas las soluciones de muestra en el nebulizador. Se aspiró las soluciones durante 30 s hasta alcanzar el equilibrio en el plasma. Se lavó el sistema con el blanco de enjuague durante un mínimo de 60 s entre cada estándar.

Todo el material utilizado se lavó por inmersión durante un mínimo de 2 horas en una solución de ácido nítrico al 5% seguido por un lavado con agua destilada y secado en estufa a 65 ± 10 °C. Los resultados obtenidos se expresaron en unidades de mg/L. Las concentraciones de cada mineral en la solución analítica se multiplicaron por el factor de dilución.

Finalmente, teniendo los resultados del contenido mineral, se comparó qué tan cercanas fueron las estimaciones realizadas de los minerales con base a la literatura y las concentraciones reales obtenidas del análisis. De acuerdo con los resultados que se obtuvieron del método ICP-OES, se calculó la cantidad de suero retenido (ROI) que se debió utilizar para la preparación de 1L de solución isotónica. De la misma manera en que se realizó la estimación anterior para preparar la solución isotónica base (Sección 4.4.1), se utilizó al potasio como el electrolito base para lograr alcanzar las concentraciones de la formulación objetivo de la solución isotónica.

4.4.4. Desarrollo de las distintas formulaciones de bebidas para deportistas variando el tipo de carbohidrato

Se desarrollaron diferentes formulaciones en las que se cambió la cantidad y el tipo de carbohidrato utilizados como ingredientes para la preparación de las bebidas para deportistas

(Tabla 9). No obstante, la concentración de carbohidratos totales se mantuvo constante para todos los tratamientos. La concentración de HC totales fue del 6%, recomendación que se basó en los trabajos de Urdampilleta (7) y de Martínez (41) para las bebidas isotónicas. En este trabajo, siguiendo dichas recomendaciones, se consideró la concentración azúcares del 6% para proporcionar el aporte calórico que favorezca la recuperación de la energía perdida durante la actividad física del deportista. Para estimar la cantidad de azúcares que se requerían añadir para completar el total de azúcares requeridos en las diferentes formulaciones de la solución isotónica base, se consideraron los resultados obtenidos del análisis de la cuantificación de azúcares totales en la fracción ROI.

Tabla 9. Formulaciones propuestas para la elaboración de las bebidas para deportistas variando el contenido y tipo de azúcares

	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Ingredientes	Glucosa, fructosa y	Maltodextrina y	Maltodextrina y edulcorante
Hidratos de carbono (6%)	sacarosa	Fructosa	no calórico

Para la Fórmula 1, se consideraron tres principales azúcares, glucosa, fructosa y sacarosa con el objetivo de que esta formulación fuera lo más parecido a las bebidas para deportistas comerciales. La cantidad de azúcares de esta formulación está basada en la bebida para deportistas comercial Gatorade® Perform (4,10,40).

Las fórmulas 2 y 3, se propusieron considerando la incorporación de maltodextrina a la fórmula como un hidrato de carbono de baja osmolalidad que puede ayudar a promover un incremento en la tasa de vaciado gástrico reduciendo el estrés gastrointestinal. Esto a su vez, hace que este ingrediente pueda ayudar a favorecer la hidratación y la recuperación energética durante el ejercicio (34,37).

Sin embargo, el problema de las maltodextrinas es su bajo poder edulcorante, que puede resultar en la baja aceptación sensorial de la bebida por los consumidores, por lo que se realizaron dos propuestas en las que además de las maltodextrinas se agregó un componente con alto poder edulcorante. La Fórmula 2, fue diseñada pensando en los beneficios de la maltodextrina y la combinación de ésta con la fructosa. Debido a que la

fructosa tiene una dulzura relativa de 1.73 veces que la sacarosa (31), su incorporación a la formulación ayudaría a incrementar el dulzor de la bebida para una mejor aceptación por el consumidor. El porcentaje de la cantidad de la maltodextrina y de la fructosa, se calculó con base a los equivalentes de fructosa por cada azúcar que contiene la fórmula de Gatorade® Perform. Conociendo que 1g de fructosa = 2.3 g glucosa, mientras que 1g fructosa = 1.73 g sacarosa (31,32), la fórmula que se utilizó para dicho cálculo fue la siguiente:

$$\text{Fruc}_{\text{Total}} = \text{EqSac} + \text{EqGluc} + \text{Fruc};$$

donde *Eq* son los equivalentes de fructosa en función del contenido de sacarosa (*Sac*) y glucosa (*Gluc*).

Por otro lado, en la Fórmula 3 se pensó en sustituir el azúcar (fructosa) por un edulcorante con bajo aporte de calorías para que el 6% de los HC sea completado con la adición de la maltodextrina y los azúcares que contiene el suero retenido (ROI). La combinación de la maltodextrina con el edulcorante no calórico se propone sólo para dar mayor dulzor a la bebida sin incrementar el aporte calórico y favorecer la aceptación sensorial. El edulcorante no calórico que se utilizó fue Sweeny®. Un gramo de Sweeny® contiene 965 mg de sacarosa y dextrosa, 30 mg de aspartame y 5 mg de acesulfame K. La relación aspartame y acesulfame K del edulcorante Sweeny es de 6:1. Para calcular la cantidad de edulcorante usado en la bebida, se realizó una búsqueda de bebidas comerciales que tuvieran añadidos el aspartame y acesulfame K como edulcorante y a partir de esto se definió la cantidad equivalente requerida del edulcorante para la elaboración de la Fórmula 3.

Por otra parte, se decidió elaborar las bebidas con color y sabor uva, debido a que se consiguió localmente un concentrado de uva comercial (Deiman®) con buenas características de color, sabor y aroma. Un argumento adicional para la selección de este sabor es que las bebidas sabor uva podían ser comparadas sensorialmente con bebidas para deportistas comerciales, que se sabe que tienen una buena aceptación por los consumidores. Así mismo se agregó ácido cítrico con el fin de proporcionar acidez y sabor característico a las bebidas para deportistas desarrolladas.

4.5 Evaluación Sensorial

Se realizó una prueba de medición del nivel de agrado con un panel de 16 evaluadores no entrenados, empleando una escala hedónica estructurada de 5 puntos. Los descriptores que se usaron en la prueba fueron los siguientes: 5) “Me gusta mucho”, 4) “Me gusta poco”, 3) “Ni me gusta ni me disgusta”, 2) “Me disgusta un poco” y 1) “Me disgusta mucho”. Las muestras evaluadas fueron las tres formulaciones descritas en la sección 4.4 y una bebida para deportistas comercial Gatorade® sabor uva. La boleta de evaluación sensorial empleada para esta prueba se incluye en el Anexo E.

4.6 Análisis Estadístico

Los resultados de los análisis fisicoquímicos así como la evaluación de los jueces en la evaluación sensorial se sometieron a un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con un nivel de significancia $p < 0.05$. Asimismo, se realizaron análisis de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Para los análisis estadísticos se empleó el programa Minitab ver. 19.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis de la materia prima

Al suero lácteo empleado en el presente trabajo como materia prima, se le determinó la cantidad de sólidos totales, azúcares, cenizas, proteínas, grasas y acidez. Los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica son similares con los reportados por Durham y Hourigan (93) (Tabla 10). Cabe mencionar, que en el trabajo de estos autores el suero tiene una menor proporción del contenido de grasa en comparación con el suero utilizado en el presente estudio. Una de las razones probables de esta diferencia, puede ser que el suero reportado por Durhan y Hourigan sea un suero desgrasado, aunque cabe señalar que los autores no lo reportan. Por otra parte, con base a los resultados del pH y la acidez del suero inicial utilizado para el presente trabajo éste se puede clasificar como suero ácido (Tabla 10), de acuerdo al proyecto de norma PROY-NMX-F-721 y a la Norma del Codex para sueros de leche (CODEX STAN 289-1995) (57,94).

Tabla 10. Composición del suero lácteo utilizado en el presente trabajo como materia prima en comparación con el suero ácido de otros trabajos

Composición	PROY-NMX-F-721-COFOCALEC	Suero desgrasado de este trabajo	Hernández-García (66)	Durhman y Hourigan (93)
Sólidos Totales %	-	6.40±0.034	-	6.0
Azúcares (equivalente a lactosa) %	4.7 min	5.00±0.005	5.07±0.081	3.9
Proteínas %	0.72 min	1.02±0.051	0.83±0.035	0.72
Minerales %	0.53 min	0.55±0.006	0.52±0.001	0.72
Grasas %	0.10 máx	0.10±0.000	0.58±0.025	0.003
pH	< 6.4	4.40±0.003	5.67±0.015	4.0
Acidez (eq. de ácido láctico) (%)	> 0.12	0.27±0.004	0.19±0.006	0.6

Los resultados muestran las medias de tres réplicas ± desviación estándar. Min, mínimo; máx, máximo

La composición del suero lácteo depende en gran medida del tipo de queso producido, la temporada de producción, las condiciones del procesamiento y almacenamiento, e incluso del tipo de ganado lechero y su salud, así como de la alimentación de éste (93). En el caso del trabajo de Durhman y Hourigan el suero ácido reportado es a partir de la fabricación del

queso Mozzarella. El suero inicial utilizado en el presente trabajo proviene de la elaboración de queso fresco, quesillo, queso panela y queso botanero, todos ellos considerados como quesos ácidos. En general, los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos del suero son similares con lo reportado en la literatura por otros autores en diferentes estudios con suero lácteo. En el trabajo de Hernández-García la concentración de azúcares (eq. de lactosa) y los minerales resultan ser muy similares a las concentraciones analizadas en el presente trabajo, lo que resulta importante ya que el suero utilizado para su estudio fue obtenido del mismo productor del suero que se usó en el presente trabajo.

5.2 Proceso de microfiltración y ultrafiltración

5.2.1 Microfiltración

El suero lácteo se sometió a los procesos de microfiltración (MF) y ultrafiltración (UF), como tratamiento previo a la ósmosis inversa (OI), para quitar partículas de gran tamaño que pudieran ocasionar un taponamiento en la membrana de OI. En la microfiltración el factor de concentración volumétrico (FCV) efectivo fue de 3.5. Como en todos los procesos de filtración por membranas se obtuvieron dos fracciones: el retenido (RMF) y el permeado (PMF), y se realizaron análisis proximales a cada fracción (Tabla 11). En los resultados de la Tabla 11 se observa que en el proceso de MF se remueve virtualmente toda la grasa contenida en el suero inicial, quedando ésta en la fracción retenida de la microfiltración (RMF). Es importante mencionar que previo a la MF el suero lácteo se sometió a un proceso de desengrasado. La eliminación total de las grasas del suero lácteo es considerada crítica en el proceso de filtración del suero, debido a que las grasas pueden contribuir a una disminución del flujo en el proceso de ultrafiltración a causa de un taponamiento de la membrana. El proceso de MF además de retener las grasas permite la retención de bacterias, extendiendo de esta forma, el tiempo de vida de los productos obtenidos (95).

5.2.2 Ultrafiltración

El permeado de la microfiltración (PMF) fue utilizado como alimentación para el proceso de ultrafiltración (UF) con el propósito de retener las proteínas contenidas en la fracción PMF. El FCV efectivo para esta filtración fue de 3.59. Se realizó el análisis

físicoquímico de las fracciones obtenidas en este proceso. En la siguiente sección se analiza la distribución de cada uno de los componentes químicos principales determinados en los procesos de micro y ultrafiltración.

Tabla 11. Análisis proximal del suero lácteo en las diferentes fracciones de los procesos de micro y ultrafiltración

Corrientes del proceso de micro (MF) y ultrafiltración (UF)					
Parámetros	Suero lácteo	RMF	PMF	RUF	PUF
Grasas (%)	0.10±0.000	0.5±0.000	ND	ND	ND
pH	4.37±0.002 ^d	4.17±0.003 ^e	4.5 ± 0.003 ^c	4.55 ± 0.022 ^b	6.33±0.003 ^a
Acidez (g de ácido láctico/100 mL muestra)	0.275±0.003 ^b	0.334± 0.006 ^a	0.21± 0.003 ^d	0.225± 0.003 ^c	0.04 ±0.003 ^e
Densidad (g/mL)	1.018±0.000 ^b	1.022±0.001 ^{ab}	1.024±0.021 ^a	1.022±0.000 ^{ab}	1.016±0.002 ^c

Los resultados muestran las medias de tres réplicas ± desviación estándar. ND, no detectado. Comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Letras diferentes por filas indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). Prefijo del tipo de proceso (MF, microfiltración y UF, ultrafiltración): R, retenido; P, permeado

En la Tabla 11 se muestra que la acidez en las fracciones RMF, PMF, RUF es una característica significativamente diferenciada de la fracción permeada de UF. El PUF tuvo una acidez significativamente menor que las demás fracciones con 0.04g de ácido láctico/100 mL de muestra. De igual manera en esta fracción (PUF) el pH es casi neutro (6.33 ± 0.003) en comparación con las demás fracciones donde el pH es más ácido. El lactosuero ácido presenta un pH próximo a 4.5 (Tabla 10), este pH se produce al alcanzar el punto isoeléctrico de la caseína (96). Hay que recordar que las proteínas del lactosuero representan alrededor del 20% de las proteínas totales de la leche de vaca (64). En las fracciones de la MF y UF existen partículas de proteína que podrían alcanzar su punto isoeléctrico a un pH de 4.

5.3 Análisis de la distribución de los componentes nutrimentales principales en los procesos de micro y ultrafiltración

Como se puede apreciar en la Tabla 12, cada uno de los parámetros fisicoquímicos difieren significativamente ($p \leq 0.05$). La diferencia de los valores de los elementos analizados entre cada fracción de los diferentes procesos de filtración (MF y UF) realizados se debe principalmente a la selectividad de las membranas por los diferentes componentes de la alimentación, así como a pequeñas pérdidas de algunos elementos por adsorción sobre la superficie de la membrana, dentro de los poros o tuberías (97). No obstante, en la siguiente sección se analizará con detalle el balance de cada componente del suero lácteo (proteínas, azúcares, lactosa y minerales) en los procesos de MF y UF.

Tabla 12. Composición química de los componentes principales del suero lácteo en las diferentes fracciones de los procesos de micro y ultrafiltración

Parámetros	Corrientes del proceso de micro (MF) y ultrafiltración (UF)				
	Suero lácteo	RMF	PMF	RUF	PUF
Sólidos Totales (%)	6.36±0.34 ^{bc}	6.89±0.5 ^a	6.23±0.2 ^c	6.50±0.8 ^b	5.89±0.04 ^d
Proteínas (%)	1.02±0.05 ^b	0.96±0.01 ^b	0.91±0.03 ^b	1.17±0.05 ^a	0.92±0.05 ^b
Azúcares reductores total (%)	5.00±0.004 ^b	4.76±0.007 ^b	4.45±0.003 ^c	5.64±0.01 ^a	4.97±0.001 ^b
Minerales (%)	0.55±0.006 ^{ab}	0.51±0.001 ^{ab}	0.39±0.01 ^c	0.48±0.04 ^b	0.55±0.01 ^a

Los resultados muestran las medias de tres réplicas \pm desviación estándar. Comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Letras diferentes en filas indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$). Prefijo del tipo de proceso (MF, microfiltración y UF, ultrafiltración): R, retenido; P, permeado

5.3.1 Análisis de la distribución de las proteínas

Con respecto al contenido proteico, en el proceso de microfiltración la concentración de proteínas en el retenido (RMF) fue de 0.96 ± 0.01 (Tabla 12), valor que representa el 26.8% del total de proteínas que se retuvieron en la membrana. El coeficiente de rechazo para este proceso fue del 5% (Tabla 13) lo que indica que hubo poco rechazo por parte de la membrana de microfiltración.

Tabla 13. Factor de concentración y coeficiente de rechazo de los principales componentes nutrimentales del suero en los procesos de micro y ultrafiltración

	RMF		RUF	
	F.C	R (%)	F.C	R (%)
Proteínas	0.94	5	1.28	21
Azúcares reductores total	0.95	6	1.26	11.8
Minerales	0.93	23	1.23	14

F.C =factor de concentración, R =coeficiente de rechazo. RMF, retenido microfiltración y RUF, retenido ultrafiltración

Por otra parte, en el proceso de ultrafiltración sí hubo un ligero incremento en la concentración de las proteínas en la fracción RUF, de 0.91 ± 0.03 a 1.17 ± 0.05 (Tabla 12). La concentración de proteínas en el RUF representa el 21% del total del contenido de proteínas presentes en el suero lácteo inicial (Figura 21). El factor de concentración de las proteínas en esta fracción fue de 1.2 (Tabla 13). No obstante, con base al peso molecular de corte (PMC) de la membrana (10 kDa) se esperaba que hubiera una retención mayor de las proteínas presentes en la corriente de alimentación.

De acuerdo a la literatura, las proteínas más grandes presentes en la alimentación de la UF, como por ejemplo la lactoglobulina con peso molecular (PM) de 18 kDa o la albúmina de suero bovino con PM de 67 kDa (98), deberían ser retenidas en mayor cantidad por la membrana de UF de 10 kDa, evitando su paso hacia el permeado (PUF). No obstante, en otros estudios similares, se ha mostrado que algunas fracciones proteicas más pequeñas como la α -lactoalbúmina, péptidos y aminoácidos con pesos moleculares menores a 10 kDa pueden atravesar la membrana en el permeado (PUF) (77). Esto explica por qué en la fracción PUF se encuentra todavía presente el 44.1% del total de proteínas contenidas en el suero lácteo inicial.

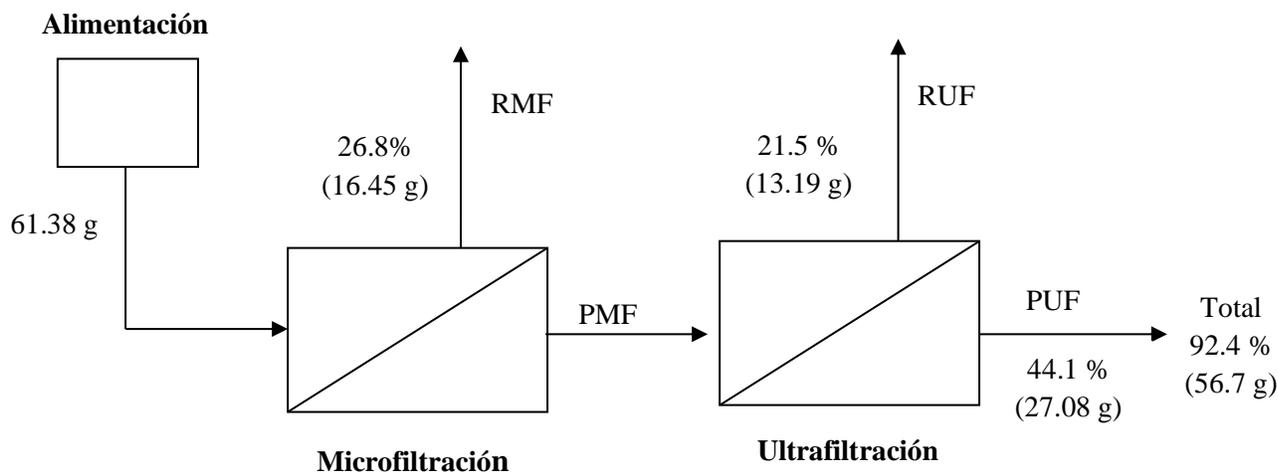


Figura 21. Balance de proteínas en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo

La cuantificación de proteínas en el balance realizado hubo una pérdida de casi 8% del total de proteínas iniciales. Chollangi *et al.* (77) realizaron un análisis donde examinaron la funcionalidad de tres membranas de ultrafiltración (de 3, 5 y 10 kDa) para la separación de proteínas y lactosa del suero. En su trabajo los autores realizaron un balance de masa y la cuantificación de las proteínas con la membrana de 10 kDa fue del 95%. Los autores infirieron que la cantidad de proteínas perdidas pudo haberse adsorbido sobre la superficie de la membrana, dentro de los poros o tuberías. Estos resultados comparados con el presente estudio, nos conduce a suponer que en nuestro proceso la pérdida de proteínas probablemente fue debida al manejo de los procesos de MF y UF en sí mismos.

Por otro lado, con base a los resultados existe una cantidad considerable de proteínas en el PUF (0.92 ± 0.05) que por lo tanto, pasará al proceso de ósmosis inversa (OI) ya que el PUF se utilizó como alimentación de la OI. Este hecho es importante considerar, debido a que no hay una recomendación establecida de las necesidades proteicas durante el ejercicio. No obstante, las recomendaciones nutricionales para los deportistas suelen ser diferentes, dependiendo de tiempo de duración de los entrenamientos y competencias, intensidad del ejercicio, temperatura corporal y la tasa de sudoración, por lo que sugiere utilizar bebidas isotónicas antes, durante y después de los entrenamientos y/o competencias (99,100). Las proteínas lácteas tienen un alto valor biológico y son de fácil digestión; asimismo estas

proteínas aportan aminoácidos esenciales y son una contribución importante para aumentar la síntesis de proteínas musculares en el ejercicio físico (101).

5.3.2 Análisis de la distribución de azúcares reductores totales (ART)

Después del proceso de MF, la concentración de azúcares reductores totales (ART) en el retenido de la microfiltración (RMF) fue de 4.76 ± 0.007 (Tabla 12). La retención de azúcares en la fracción RMF no era de esperarse, debido a que la membrana de MF utilizada tiene un tamaño de poro relativamente grande ($0.45 \mu\text{m}$), por lo que se esperaba que la mayor cantidad de azúcares atravesaran la membrana. Considerando los resultados observados en este trabajo, se puede inferir que una fracción de los azúcares retenidos por la membrana de MF se encontraban asociados o acomplejados a las proteínas, grasas y polisacáridos presentes en el suero lácteo (76,77), o simplemente estos azúcares se encontraban estabilizados en las suspensión de suero lácteo por fuerzas químicas débiles.

Por otra parte, cabe señalar que el solo análisis de la concentración de azúcares en las diferentes corrientes puede dar lugar a una mala interpretación del fenómeno de transporte de azúcares en el proceso de filtración, dado que hay que tomar en cuenta que al final del proceso, la corriente retenida tiene un volumen mucho menor que el de la corriente permeada. Por lo tanto, el factor de concentración y el coeficiente de rechazo son parámetros importantes que considerar para comprender mejor los procesos de filtración y la distribución de los componentes en sus diferentes fracciones (Tabla 13). Adicionalmente, se realizó un balance de masa de azúcares en el proceso de MF (Figura 22). De acuerdo con el balance el 27% de los azúcares de la corriente de alimentación se depositaron en el retenido (RMF). Sin embargo, el coeficiente de rechazo del proceso de MF fue del 6% (Tabla 13), lo que indica que la retención de azúcares existente en el RMF por la membrana no es mucho.

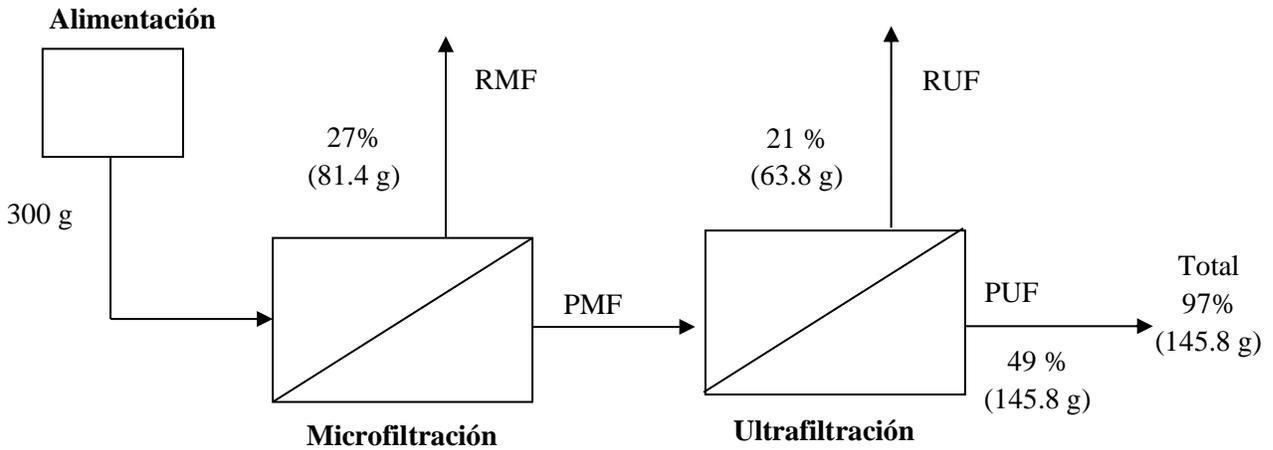


Figura 22. Balance de azúcares reductores en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo

En el proceso de ultrafiltración, los azúcares se concentraron 1.26 veces en relación a la alimentación, que fue mayor en comparación con la fracción RMF que se concentró 0.9 veces con respecto al suero inicial. La concentración de azúcares en la fracción RUF fue de 5.64 ± 0.01 (Tabla 12), que corresponde a una concentración estadísticamente mayor que la que tenía el suero lácteo inicial y la fracción RMF ($p < 0.05$). Al realizar el balance de ART de los procesos combinados de MF y UF (Figura 22) se estimó que la cantidad de azúcares en la fracción RUF representa el 21% del total de los azúcares iniciales presentes en el suero lácteo. El coeficiente de rechazo de ART en el proceso UF fue de 11.8% (Tabla 13), lo que indica que el grado de separación conseguido por la membrana fue menor que en el caso de las proteínas, dejando pasar gran parte de los azúcares a la fracción permeada (PUF). De acuerdo al balance de azúcares (Figura 22), el 49% de los azúcares totales en la alimentación del proceso de filtración global atravesó la membrana hacia la fracción permeada de la ultrafiltración (PUF). Estos resultados fueron favorables debido a que los azúcares en la fracción PUF fueron considerados más adelante parte de los hidratos de carbono en la formulación de la bebida para deportistas.

Rosa de Souza *et al.* (76) realizaron un estudio donde examinaron diversas configuraciones de procesos de filtración para evaluar la recuperación y purificación de lactosa a partir de suero lácteo. En el primer proceso que consistió en el uso de ultrafiltración con un peso molecular de corte de 500 kD, el coeficiente de rechazo fue de 14.5%.

Adicionalmente, en un segundo proceso que consistió en operaciones en serie de microfiltración, ultrafiltración, intercambio iónico y ósmosis inversa, los autores demostraron que fue el más efectivo en términos de pureza y tasa de recuperación de lactosa, obteniendo una pureza de lactosa del 99.8% y una recuperación global de lactosa del 74%. Los resultados del coeficiente de rechazo de la membrana de UF del trabajo de los autores en comparación con los obtenidos en el presente estudio son relativamente bajos lo que indica que la selectividad de la membrana con los azúcares es baja, dejando pasar hacia el permeado cantidades de azúcares.

5.3.3 Análisis de la distribución de lactosa

Se sabe que la lactosa es el principal azúcar contenido en la leche y por consecuencia también se encuentra presente en el suero lácteo, por lo que se realizó la determinación de este disacárido en el suero inicial y en las fracciones de los procesos de MF y UF. Como se muestra en la Tabla 14, la lactosa constituye casi la mitad de los azúcares contenidos en las diferentes corrientes de los procesos de MF y UF. Asimismo, se puede observar en la tabla que la cantidad de lactosa contenida en la concentración de azúcares reductores tiene un comportamiento complejo de entender. Por tanto, se realizó un balance de masa para comprender mejor el comportamiento de la lactosa (Figura 23).

Tabla 14. Concentración de lactosa en el suero lácteo y en las fracciones obtenidas en los procesos de micro y ultrafiltración

	Suero inicial	RMF	PMF	RUF	PUF
(%) Azúcares reductores (ART)	5±0.006 ^b	4.76±0.008 ^b	4.45±0.004 ^c	5.64±0.018 ^a	4.97±0.015 ^b
Lactosa (%)	2.8±0.04 ^a	2.03±0.2 ^a	1.75±0.2 ^b	1.54±0.2 ^b	2.11±0.2 ^a
% de lactosa en ART	56	42.6	39.3	27.3	42.5

Los resultados muestran las medias de tres réplicas ± desviación estándar. Comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias ($p > 0.05$). Prefijo del tipo de proceso (MF, microfiltración y UF, ultrafiltración): R, retenido; P, permeado.

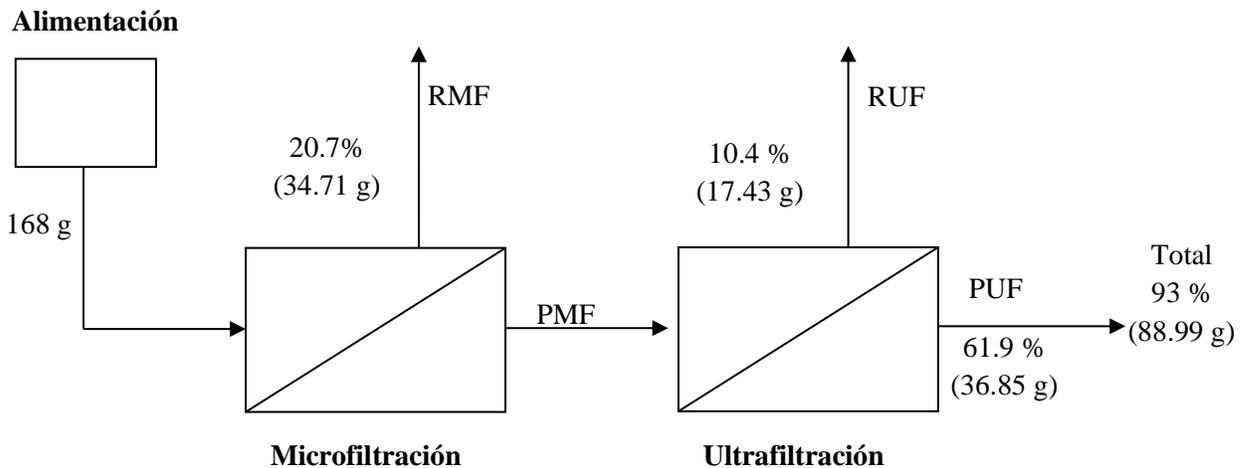


Figura 23. Balance de lactosa en los procesos de micro y ultrafiltración del suero lácteo

Con base al balance de lactosa en los procesos de MF y UF, el 20.7% de lactosa se retuvo en la fracción retenida de la microfiltración (RMF). Considerando que la lactosa es uno de los principales azúcares contenidos en la leche y posiblemente en el suero lácteo, el peso molecular de la lactosa (342.3 g/mol) resulta muy pequeño comparado con el tamaño de poro de la membrana; por lo que, de acuerdo con el mecanismo de exclusión de tamaño de las membranas de MF, en principio, la lactosa no debería ser retenida por la membrana en cantidades elevadas. Por otro lado, el coeficiente de rechazo para la lactosa fue del 13.8% mientras que para los ART fue del 6%, esto indica que fue mucho menor la retención de azúcares totales. La explicación más obvia de estos resultados para la lactosa residiría en la hidrólisis de lactosa por actividad enzimática en la fracción RMF.

Por otro lado, es importante reconocer que el contenido de lactosa en el PUF puede existir en la fracción final del proceso de OI. Por lo tanto, se debe considerar la prevalencia de problemas de absorción de la lactosa en la población por lo que se tendrá que especificar en la etiqueta el contenido de lactosa en la bebida para deportistas. No obstante, en estudios recientes se ha observado que la ingesta de una taza de leche o de la cantidad equivalente de lactosa no desencadena manifestaciones sintomáticas en las personas malabsorberdoras (102). Además, la lactosa tras la hidrólisis intestinal, se convertirá en glucosa y galactosa que poseen una importante función energética lo que convierte en una bebida que puede ser consumida para la preparación del deportista, como para la recuperación post ejercicio (101).

Desde el punto de vista industrial la hidrólisis de lactosa contenida en la leche y en el lactosuero para obtener glucosa y galactosa, es un proceso de gran interés para minimizar los efectos alérgenos de la lactosa que sufre una parte de la población mundial de manera creciente (103). Conocer el proceso de la hidrólisis de lactosa en el lactosuero, es de gran interés a nivel industrial debido a que se necesitaría considerar las condiciones de la enzima que causa la hidrólisis, el tiempo de reacción para el máximo grado de hidrólisis, así como la posible adsorción de la enzima sobre las membranas de filtración (103). No obstante, debido al tiempo limitado para la realización de este trabajo, esta idea se retomará en las perspectivas de la tesis.

5.3.4 Análisis de la distribución de las sales minerales

Analizando la Tabla 12, las sales minerales del suero inicial comparado con la concentración de sales minerales en las fracciones de los procesos de micro y ultrafiltración son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$). Esta diferencia se le atribuye a la selectividad de la membrana y por la alimentación que fue diferente en cada proceso. También se puede observar que la fracción RMF tiene una concentración de 0.51 ± 0.001 de minerales equivalentes al 26.6% de las sales minerales del suero lácteo inicial retenidas en esta fracción (RMF). Mientras que un 16.7% se retuvo en la membrana de UF (RUF) (Figura 24).

De manera similar a lo observado en el balance de los azúcares reductores totales, no se esperaba tan alta retención de minerales en las etapas de MF y UF, debido a que dichas sales están constituidas en su mayoría por iones monovalentes de muy bajo peso molecular, que en principio debieron a travesar la membrana hacia el permeado considerando un mecanismo por exclusión de tamaño. Sin embargo, tomando en consideración los resultados de la distribución de componentes en el proceso global de filtración por membranas, es probable que algunos iones se encuentren formando complejos con algunas proteínas o carbohidratos causando la retención de sales en las fracciones retenidas de los procesos de filtración por membranas.

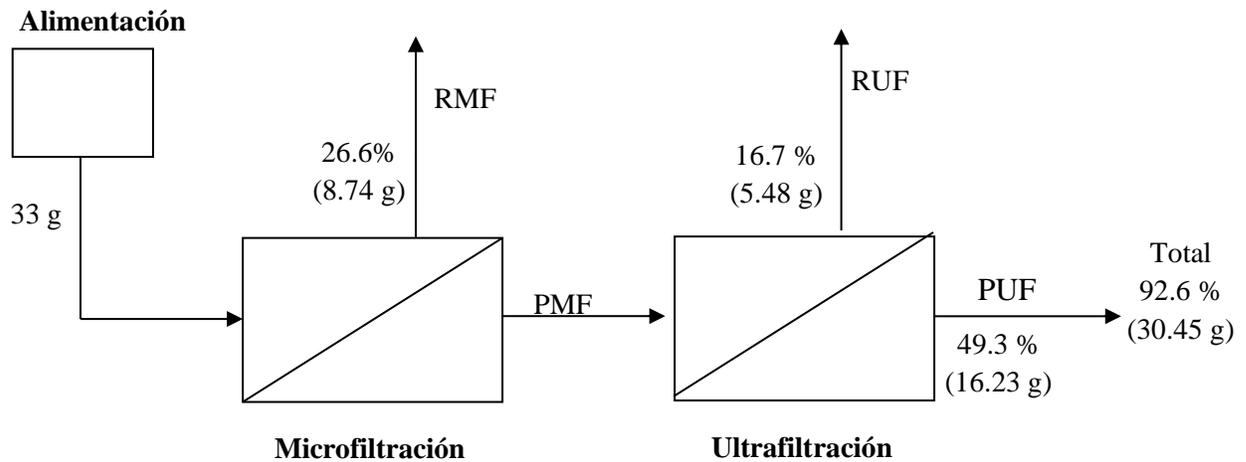


Figura 24. Balance del contenido de minerales en los procesos de micro y ultrafiltración

En un estudio reportado en la literatura, Hanemaaijer *et al.* (104) evaluaron la precipitación y adsorción de sales minerales del suero de queso dentro de la membrana de ultrafiltración. En su trabajo los autores concluyeron que el calcio y el fósforo constituían la causa más importante del ensuciamiento de la membrana de UF durante el proceso de filtrado del suero. Otros estudios han reportado que los minerales tienen un comportamiento característico al tener interacciones con otros solutos en procesos de ultrafiltración.

En otro estudio, Chacón (74) reportó el proceso de ultrafiltración en la industria láctea empleando membranas de polisulfonas y presiones de 4 a 6 bar. En dicho estudio, las concentraciones de Ca, P, Fe, Cu y Zn en el retenido de la membrana aumentaron significativamente, mientras que las concentraciones de K y Na se incrementaron en el permeado de la UF. El autor atribuyó el aumento de la concentración de los minerales retenidos a que estos elementos se asocian a las proteínas formando complejos.

Por otro lado, a pesar que las sales minerales en la fracción RUF se concentraron 1.23 veces (Tabla 13), la fracción PUF contiene casi el 50% del contenido de sales minerales del suero lácteo inicial (Figura 24). Esto es importante, porque la efectividad de las bebidas para deportistas durante el ejercicio depende de la presencia de sodio y carbohidratos. La absorción mutua a nivel intestinal resulta favorecedor debido al mecanismo de co-transporte. Además, el sodio mejora la palatabilidad de la solución así como la reposición de sodio perdido a través del sudor evitando deshidratación (105).

5.4 Proceso de ósmosis inversa (OI)

Para el proceso de ósmosis inversa se realizaron ensayos preliminares con dos configuraciones de flujo, la primera de flujo normal (perpendicular) con el objetivo de evaluar de manera preliminar la selectividad de separación de la membrana. A continuación, se hicieron pruebas con la configuración de flujo tangencial (flujo cruzado) principalmente porque en esta configuración el proceso de membranas tiene mayor productividad, es decir, con este proceso se puede filtrar el líquido de alimentación a un flux mucho mayor y por más tiempo en comparación con el proceso de flujo normal. La presión de trabajo utilizada en ambos procesos fue de 40 bar. Como alimentación del proceso de OI se utilizó la fracción permeada de la ultrafiltración (PUF).

5.4.1. Efecto de la configuración de flujo del proceso de OI en el flux del permeado

Se evaluó el efecto de la configuración del flujo del proceso de ósmosis inversa en el flux del permeado. Se probaron dos configuraciones distintas del modo de flujo: normal y tangencial. El propósito principal de la utilización de la configuración normal fue evaluar la selectividad o eficiencia de la membrana para realizar cierta separación.

5.4.1.1 Configuración flujo normal

En el procesamiento del suero en el modo de flujo normal, el volumen inicial fue de 250 mL y se realizaron tres corridas donde la alimentación fue el PUF. En la Tabla 16, se puede observar que el factor de concentración para las proteínas y las sales minerales fue de 3.27 ± 0.07 y 3.63 ± 0.69 respectivamente, mientras que los azúcares totales fue de 1.67 ± 0.15 . Estos valores de concentración indican que la membrana es efectiva para realizar la separación de las proteínas, azúcares y sales minerales.

Tabla 15. Factor de concentración de los principales componentes nutrimentales en el retenido de ósmosis inversa en la configuración normal

Muestra	Sólidos Totales	Proteínas	Azúcares	Sales minerales	FCV
Corrida 1	4.34	3.35	1.8	4.42	5
Corrida 2	3.86	3.22	1.5	3.17	4.8
Corrida 3	3.87	3.25	1.71	3.29	5
Promedio	4.02±0.27	3.27±0.07	1.67±0.15	3.63±0.69	

FCV es factor de concentración volumétrica

Por otro lado, se calculó el flujo de permeado (flux) durante el proceso de filtración (Figura 25). En esta configuración del proceso se observó que después de 5 min de filtración la velocidad de flujo comenzó a disminuir. Como se aprecia en la figura, la saturación de la membrana se hizo evidente con la reducción del flujo de permeado a las 2 h de iniciado el proceso, tiempo en el que se observa que la curva se empieza a aplanar. Este efecto se conoce como “polarización de la concentración”, que consiste en que cuando la concentración de solutos aumenta considerablemente en el tanque de alimentación, se produce de manera irreversible un rápido descenso del flux del permeado. De acuerdo a la literatura, este fenómeno se debe principalmente a la acumulación de partículas en la superficie (aumento drástico en la concentración) siendo necesario detener el proceso y reemplazar la membrana cuando el flujo del permeado es demasiado bajo (68). No obstante, a partir de esta prueba se logró determinar la efectividad de la membrana para lograr la separación de los diferentes componentes de la alimentación usando la configuración de flujo normal. Este es el procedimiento que se sigue en los desarrollos de aplicación de procesos de membrana y a partir de esto se puede esperar la misma de selectividad de las membranas utilizadas en la configuración del flujo tangencial.

5.4.1.2. Configuración de flujo tangencial

En el proceso de filtración de ósmosis inversa del suero en la configuración del flujo tangencial, el volumen inicial fue de 620 mL. Para esta configuración, se realizaron dos corridas; en la primera corrida el FCV efectivo fue de 5.34 y en la segunda fue de 4.43. El flux obtenido en este proceso tuvo un comportamiento diferente al del proceso con flujo

normal. En la filtración tangencial, la alimentación fluye paralelamente a la superficie de la membrana, lo que provoca que éste flujo de líquido “barre” continuamente la superficie del medio filtrante, por lo que se disminuye en gran medida la acumulación y adsorción de solutos en la superficie de la membrana. Como resultado de esto, se produce un efectivo control del fenómeno de polarización de la concentración. En la Figura 25 se compara el flux de ambas configuraciones. Como era de esperarse el rendimiento de la membrana es mucho mayor en la configuración tangencial, en la figura se aprecia que después de 4 h el flux comienza a disminuir. De acuerdo con algunos autores, la filtración tangencial es una técnica que permite procesar volúmenes mayores de alimentación en forma continua y es el modo de filtración usado para filtraciones por membrana a nivel industrial (106).

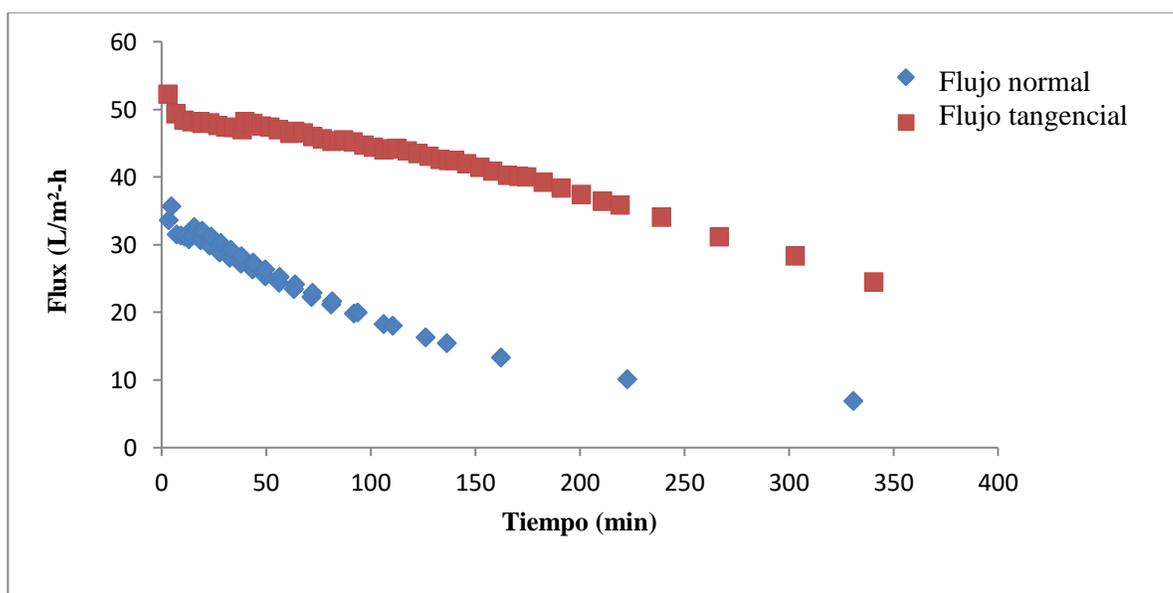


Figura 25. Ejemplos del comportamiento del flux durante el proceso de filtración por ósmosis inversa usando las configuraciones del flujo normal y flujo tangencial

Asimismo, se realizaron determinaciones proximales del proceso de ósmosis inversa en la configuración tangencial, los resultados se muestran en la Tabla 15.

Tabla 16. Análisis proximal del proceso de filtración del suero lácteo por ósmosis inversa

Parámetros	ROI	FC	R (%)	POI
Sólidos Totales %	21.25±0.02	3.6	100	0.000±0.001
Proteínas %	2.80±0.05	3.03	100	ND
Azúcares reductores (eq. lactosa) %	7.85±0.02	1.57	99.97	0.002±0.003
Sales minerales %	1.93±0.02	3.5	100	≈ 0
Densidad	1.09±0.01			0.99±0.001

Media ± desviación estándar; ND, no detectado; FC es factor de concentración; R, coeficiente de rechazo; ROI, retenido de ósmosis inversa; POI, permeado de ósmosis inversa

Con base en los análisis proximales del proceso de ósmosis inversa, se observa que se logra obtener un permeado (POI) con concentraciones insignificantes de sólidos totales, sales minerales, azúcares y proteínas, por lo que se puede considerar a este permeado como un producto de agua purificada baja en sales. Esto es importante, porque eso indica que gran parte de los componentes de la alimentación (corriente PUF) se concentraron en la fracción retenida (ROI). Por otra parte, el agua simple obtenida puede ser utilizada para consumo humano (incluso como un producto comercial) o para la preparación de la formulación de la bebida para deportistas.

En cuanto a los componentes nutrimentales en el ROI, se logró una concentración del triple en el contenido de sales minerales y proteínas (Tabla 15) con respecto al contenido de azúcares totales que sólo se concentró 1.57 veces. No obstante, el coeficiente de rechazo de la membrana de OI para los azúcares fue del 99.97% lo que indica que hubo un rechazo casi total de los azúcares por la membrana de OI. En tanto las sales minerales y las proteínas se retuvieron totalmente. Las sales minerales tienen 100% de rechazo total por parte de la membrana, esto indica que se concentró en su totalidad en la fracción ROI. Estos resultados son importantes debido a que la fracción ROI es la materia prima para la elaboración de la bebida para deportistas.

5.5 Consideraciones nutricionales de la bebida para deportistas

Con base a los resultados obtenidos, la concentración de proteínas en el ROI fue de 2.80 ± 0.05 . Se sabe que las proteínas pueden contribuir como reserva energética en situaciones de reposo así como durante el ejercicio. Sin embargo, hasta el momento no hay evidencia científica que promueva el consumo de proteínas durante el ejercicio, debido a que las proteínas en personas bien nutridas representan menos del 5% en la contribución energética total, aunque este consumo puede aumentar hasta un 12 a 15% cuando el ejercicio realizado es de larga duración. En una búsqueda en la literatura se halló que la ingestión simultánea de hidratos de carbono (HC) y proteínas aceleran la resíntesis del glucógeno muscular, pero consideran que es una buena opción al finalizar el ejercicio físico. Incluso recomiendan tomar una mezcla de sacarosa (1 g/Kg) con suero lácteo (0.5 g/Kg) después de la actividad física (109). Con base a estas recomendaciones es posible que las formulaciones desarrolladas de bebidas para deportistas incluso puedan ser consumidas después del ejercicio. No obstante, se debe considerar que la concentración de proteínas en el ROI puede ser menor dependiendo de la cantidad en mL de ROI que se considere para la preparación de la solución isotónica, por lo es posible que el aporte proteico no tenga ninguna repercusión en el deportista al momento de ingerir la bebida.

En lo que refiere al contenido mineral la concentración en el ROI fue de 1.93 ± 0.02 . Esta concentración fue suficiente para cumplir con las recomendaciones de sodio y de potasio para la preparación de la solución isotónica. El ejercicio físico puede producir elevados índices de sudoración, así como pérdidas substanciales de agua y electrolitos. Por lo que el objetivo de beber soluciones isotónicas durante la actividad física es prevenir una excesiva deshidratación y un cambio en el equilibrio electrolítico que comprometa el rendimiento físico y la salud (50).

La concentración de azúcares totales en la fracción ROI fue 7.85 ± 0.02 . Con base al volumen utilizado para la preparación isotónica, el aporte de estos azúcares fue de 1.76% y se añadieron otros tipos de hidratos de carbono para cumplir con el 6% total de azúcares para la bebida isotónica. El objetivo de añadir de manera externa diferentes carbohidratos es mantener la glucosa sanguínea y la oxidación de los hidratos de carbono sin causar alteraciones gastrointestinales ni retardar la absorción de fluidos. Con la ingesta de HC durante el ejercicio se puede retrasar la aparición de la fatiga, sobre todo en atletas de

resistencia, donde normalmente la fatiga ocurre a partir de las dos horas de haber iniciado el ejercicio (110). Asimismo, la utilización de diferentes tipos de hidratos de carbono en las bebidas para deportistas se base en el hecho de que una parte de los HC ingeridos pueden ser utilizados como fuente de energía en un periodo de tiempo de 5 a 10 minutos en deportes como la natación, el ciclismo, el tenis. Esto indica que pueden ser eliminados rápidamente del estómago, absorbidos a través del intestino delgado hacia la sangre y entrar en las vías metabólicas, favoreciendo la recuperación energética (51,99,111).

5.6 Formulación de la bebida para deportistas

5.6.1 Preparación de la solución isotónica

Como se mencionó en la Sección 4.4.2, debido a los tiempos en el que se realizó el trabajo para la preparación de la solución isotónica primero se estimó la concentración de sodio, potasio y magnesio contenido en las fracción retenida del proceso de ósmosis inversa (ROI) con base en el trabajo de Cuartas-Uribe *et al.*(92) (Tabla 17). Posteriormente, se determinaron las concentraciones de minerales por el método ICP-OES.

Tabla 17. Comparación de la estimación del contenido de minerales en la fracción de suero lácteo retenida en el proceso de ósmosis inversa con base a los datos de Cuartas-Uribe *et al.* (92) y la concentración obtenida del análisis ICP-OES

Parámetros	Cuartas-Uribe <i>et al.</i> (92)	Estimación de minerales en este trabajo	Concentración de minerales por ICP-OES en este trabajo
	PUF	ROI	ROI
Cenizas mg/L	4849	19320	19320±0.02
Sodio mg/L	460	1832.8	1219.8±83.9
Potasio mg/L	1700	6773.4	4874.4±145.1
Magnesio mg/L	100	405.7	221.1±5.2
Calcio mg/L	289	1151.47	152.8±4.6

Considerando las recomendaciones de minerales para una bebida isotónica descritos en la Tabla 7 y de acuerdo a las estimaciones realizadas de la concentración de minerales en la fracción ROI, la bebida isotónica base se preparó utilizando 23 mL de suero retenido del

proceso de ósmosis inversa (ROI) para preparar un litro de solución. Con este volumen de ROI se cumplió con las recomendaciones de potasio (Tabla 7). En el caso del sodio según lo estimado, la solución isotónica preparada solo contenía 4.1 mg/100 mL de sodio. Por tanto, la solución se completó con 35.9 mg de NaCl por 100 mL de solución isotónica y así alcanzar la concentración objetivo de sodio de 40 mg/100 mL en la solución isotónica. En lo que refiere al magnesio y calcio, un litro de solución utilizando un volumen de 23 mL de ROI, la concentración que se aporta en la bebida isotónica es de 5.08 mg/L y 3.51 mg/L respectivamente. Estas concentraciones pueden ser consideradas adecuadas, debido a que el magnesio y el calcio son electrolitos que su aporte no son esenciales en la solución isotónica, mientras se cubra la cantidad diaria recomendada (CDR) con otros alimentos. La recomendación de Magnesio y de Calcio como CDR es del 4% y 3.7% respectivamente (7,27).

Después de haber preparado la solución isotónica base, se tuvo la oportunidad de realizar el análisis de minerales utilizando un espectrofotómetro de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES). Se determinó la concentración real de los minerales sodio, potasio, calcio y magnesio en la fracción ROI. Los resultados obtenidos del análisis se compararon con las concentraciones estimadas que se basaron en el trabajo de Cuartas-Uribe *et al.* (92) (Tabla 16). En la tabla se observa que la concentración real de sodio en el ROI es menor que la concentración estimada basada en la literatura. Lo mismo se puede observar para las concentraciones de potasio, calcio y de magnesio.

Con base a las mediciones de las concentraciones de los minerales en la fracción ROI con el equipo ICP-OES, se estimó que para preparar un litro de solución isotónica base se necesitarían 31 mL de suero retenido del proceso de ósmosis inversa (ROI). Con este volumen se cumple con la recomendación de potasio para la solución isotónica (Tabla 7). Sin embargo, para el caso del sodio, la concentración estimada en la solución isotónica es de 3.78 mg/100 mL, por lo que se tendría que añadir 36.22 mg de NaCl por 100 mL de solución isotónica para alcanzar la concentración objetivo de sodio. En lo que refiere al aporte de magnesio y calcio, en un litro de solución isotónica usando los 31 mL de ROI, la concentración estimada es de 6.85 mg/L para el magnesio y 4.74 mg/L para el calcio.

Por otra parte, la concentración de azúcares totales en la fracción retenida del proceso de ósmosis inversa (ROI) fue de 7.85 ± 0.02 . Esta concentración representa el aporte de 1.76%

de azúcares totales para la elaboración de las formulaciones de bebidas para deportistas, el resto del contenido de azúcares se completó con diferentes tipos de carbohidratos. A continuación se detalla los diferentes hidratos de carbono utilizados en la siguiente sección.

5.6.2 Preparación de las formulaciones de la bebida para deportistas, variando el tipo de carbohidratos

Primeramente, se preparó la solución isotónica base utilizando la cantidad de ROI que se describió en la sección anterior. Se preparó un litro de solución isotónica con 23 mL del concentrado mineral (fracción retenida del proceso de ósmosis inversa, ROI). Con base en las mediciones de azúcares reductores totales en la fracción ROI, se estimó que la solución isotónica contenía una concentración de azúcares de 0.18 g/100 mL. Dado que, según el objetivo planteado para la bebida deportiva en este trabajo, éste debe contener el 6% de azúcares. Por lo tanto, se añadieron otros carbohidratos de manera externa para lograr alcanzar la concentración de azúcares objetivo. Para esto, se desarrollaron tres formulaciones variando el tipo de azúcar añadido.

En la Fórmula 1, se añadió glucosa, fructosa y sacarosa. Las cantidades de estos azúcares utilizadas en la formulación se basaron en los ingredientes de la bebida para deportistas comercial Gatorade® Performance (4,10,40) (Tabla 17). Una bebida para deportistas de 240 mL, como el Gatorade® proporciona aproximadamente 14 a 18 g de HC. Las actividades de rendimiento físico que se benefician con el consumo de estas bebidas son las actividades de larga duración que va de los 90 a 120 min, con niveles de intensidad entre moderado y alto. Por ejemplo, correr un maratón o practicar ciclismo (107). El objetivo de utilizar estos tres azúcares en la fórmula desarrollada es que sea lo más parecida a la bebida comercial y que pueda tener los mismos beneficios.

Para la Fórmula 2, los hidratos de carbono añadidos fueron la maltodextrina y la fructosa. Para determinar la cantidad de fructosa se calcularon los equivalentes de poder edulcorante de fructosa en relación con las cantidades de glucosa y de sacarosa que contiene la Fórmula 1 de acuerdo a lo descrito en la Sección 4.4.4. El resto de los azúcares se completó con la maltodextrina (Tabla 18). El propósito del uso de estos HC es por una parte, las maltodextrinas tienen un efecto sobre el rendimiento deportivo cuando se ingiere durante el ejercicio intenso. Esto se debe a la velocidad de la tasa de absorción y oxidación que permite

un vaciamiento gástrico adecuado y un aporte energético continuo (34,37,52). Por otro lado, la fructosa se absorbe más lentamente en el intestino, lo cual evita la respuesta insulínica y una potencial hipoglucemia. La fructosa en comparación con la glucosa, puede generar una mayor estabilidad en los niveles de azúcar en sangre durante las primeras etapas del ejercicio prolongado debido a que la mayor parte de la fructosa ingerida finalmente se convertirá en glucosa en el hígado (107).

La Fórmula 3, contiene maltodextrinas y un edulcorante no calórico (Sweeny®) (Tabla 18). El objetivo de esta formulación fue por un lado el aprovechar los beneficios de la maltodextrina y por otro, utilizar el edulcorante no calórico para dar mayor dulzor a la bebida sin aumentar el aporte energético de la bebida. Los edulcorantes elegidos fue el aspartame y acesulfame K contenidos en el producto comercial Sweeny®. La concentración final de éstos en la bebida se basó en bebidas comerciales que tuvieran los mismos edulcorantes como se describió en la Sección 4.4.4.

La Food and Drug Administration (FDA) de E.U.A ha aprobado seis edulcorantes no calóricos: la sacarina, el aspartame, neotame, acesulfame K, sucralosa y advantame. El aspartame es un éster metílico de un dipéptido (ácido aspártico y fenilalanina) que es 200 veces más dulce que la sacarosa. Su hidrólisis y absorción se lleva a cabo en el tracto intestinal, y los productos de su digestión son absorbibles en la mucosa intestinal (metanol en un 10%, ácido aspártico en un 50% y fenilalanina en un 40%). Por otra parte, el acesulfame K es una sal de potasio 200 veces más dulce que la sacarosa, que se absorbe casi en su totalidad en el intestino delgado por acción de las microvellosidades para después llegar a la circulación sistémica. La porción no absorbible se excreta sin metabolizarse, 99% en orina y menos del 1% en materia fecal. Estudios clínicos no han mostrado evidencia de que su consumo pueda generar alteraciones en el movimiento intestinal y el vaciamiento gástrico (108).

Tabla 18. Contenido de azúcares añadidos en las diferentes formulaciones de las bebidas para deportistas

	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Porción (mL)	100	100	100
HC % (p/v)	5.9	6	6.2
Sacarosa (g)	3.44	0	1.35
Glucosa (g)	1.39	0	
Fructosa (g)	0.89	3.47	0
Maltodextrina (g)	0	2.35	4.65
Aspartame (mg)	0	0	42
Acesulfame (mg)	0	0	7
Aporte de azúcar en el ROI (g)	0.18	0.18	0.18
Ácido cítrico (mg)	200	200	200
Concentrado uva (mL)	0.3	0.3	0.3

Un factor de gran importancia de las bebidas para deportistas es el sabor, debido a que se ha visto que el sabor así como el color de las bebidas generan una mayor aceptación por parte de los consumidores. Por lo tanto, en este trabajo se eligió un concentrado de sabor uva para las formulaciones de la bebida para deportista porque en conjunto con el color y olor, la bebida puede ser más agradable (Tabla 18). Adicionalmente, existen en el mercado varias marcas comerciales que ofrecen bebidas para deportistas con este sabor, lo que es favorable para los fines del presente estudio.

5.7 Evaluación Sensorial por prueba de nivel de agrado

Se realizó una prueba sensorial de medición del nivel de agrado de las tres formulaciones con un panel de 16 evaluadores no entrenados. Para esto se utilizó una encuesta con una escala hedónica de cinco puntos (Sección 4.5). En los resultados obtenidos del nivel de agrado en cada una de las formulaciones propuestas, no se observó una diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las tres formulaciones y la bebida comercial Gatorade® (Tabla 19)(Anexo F).

Tabla 19. Comparaciones en parejas de Tukey de las formulaciones para deportistas desarrolladas y una bebida comercial Gatorade®

Factor	N	Media	Agrupación
F1	16	4.188	A
Gatorade	16	3.813	A
F2	16	3.813	A
F3	16	3.750	A

Las medias que comparten una letra es porque no hay diferencia significativa ($p > 0.05$)

Como se observa en la Figura 26, se comparó el nivel de agrado de las tres formulaciones de bebida para deportistas y la bebida comercial Gatorade®. Los resultados fueron que la bebida comercial Gatorade® obtuvo niveles de valoración de “me gusta mucho” con un 19% y el 56% en el nivel “me gustó un poco”, lo cuales son muy parecidos a los resultados de la Fórmula 3 con el 19% “me gusta mucho” y el 50% de “me gusta un poco” (Figura 26).

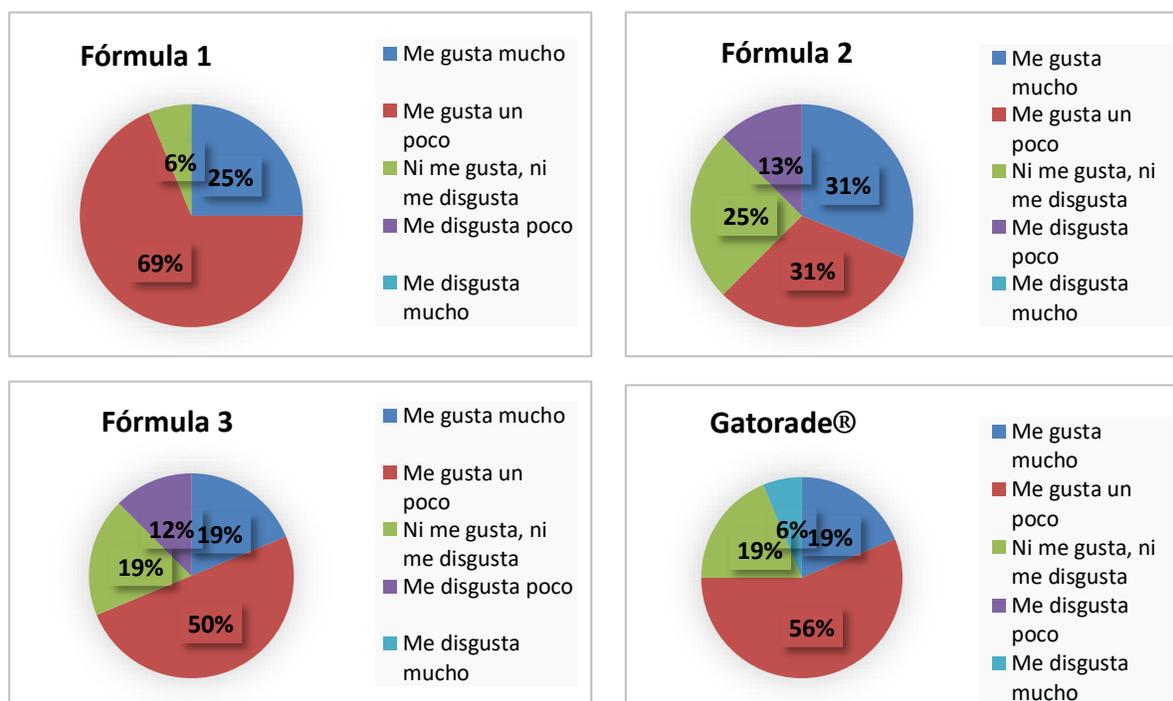


Figura 26. Porcentaje del nivel de agrado según la escala hedónica de las tres formulaciones de bebidas para deportistas y la bebida comercial Gatorade® por evaluadores no entrenados

Haciendo un análisis de las bebidas formuladas con maltodextrinas, la Fórmula 2 fue la de mayor gusto con el nivel “Me gusta mucho” con un 31%. Considerando lo anterior, los resultados obtenidos para las formulaciones 2 y 3 pueden considerarse alentadores ya que podrían ser bebidas bien consumidas, asimismo, se puede mejorar las formulaciones ya sea cambiando el edulcorante o reajustando la cantidad de los ingredientes y así mejorar el nivel de agrado teniendo incluso un mayor agrado que las bebidas para deportistas que se encuentran en el mercado como lo es la bebida Gatorade®.

En cuanto a la Fórmula 1, al 25% del total de los evaluadores “les gustó mucho” y el 69% indicaron que “les gustó un poco” (Figura 26), siendo de mayor agrado comparado con la bebida para deportistas comercial Gatorade® con 19% “les gustó mucho” y 50% “les gustó un poco”. Con los resultados del nivel de agrado para la Fórmula 1 se puede inferir que esta formulación tiene un buen nivel de agrado por lo que puede ser una bebida consumida por la población en general principalmente por los que realizan actividad física.

Como se ha mencionado anteriormente, el uso de la maltodextrina en la bebida para deportista desarrollada es de gran importancia por su ventaja de no incrementar la osmolalidad. Sin embargo, tiende a ser menos dulce que la glucosa y sacarosa por lo cual fue necesario combinar la maltodextrina con otros azúcares para potenciar el dulzor de la bebida final. Con estos atributos de la Fórmula 2 y 3, se esperaría que tuvieran los mejores beneficios a la salud de los consumidores, así como el cumplimiento de la función de la bebida durante la actividad física. Por lo tanto, se espera seguir mejorando las formulaciones en trabajos futuros para que la bebida para deportistas sea de mayor agrado y mejor aceptada por la población en general, principalmente para las personas que realizan actividad física.

Finalmente, es importante considerar que el análisis sensorial realizado tiene un número limitado de evaluadores, por lo que una de las perspectivas de este trabajo es que se realice una nueva evaluación sensorial donde se consideren al menos 50 personas no entrenadas, preferiblemente deportistas para que los resultados sean más representativos.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos para el desarrollo de las bebidas para deportistas, en el análisis proximal del suero lácteo, los datos obtenidos fueron similares con lo reportado en la literatura, además de estar dentro de los intervalos reportados por la norma para suero ácido. Así también, la eficacia de los procesos de microfiltración y ultrafiltración permitieron la retención total de grasas en el retenido de la microfiltración, así como la retención de casi la mitad del contenido de proteínas iniciales, mismas que pueden ser utilizadas para la elaboración de otros productos alimenticios u otros procesos en los que se requiere la utilización de extractos proteicos semi concentrados. En cuanto al contenido mineral y azúcares, cerca del 50% del contenido inicial pasaron al permeado de ultrafiltración el cual fue utilizado como alimentación para el proceso de ósmosis inversa.

En el proceso de ósmosis inversa, se empleó la configuración de flujo tangencial en la cual se obtuvo un mayor flux de permeado a partir de la filtración del permeado de la ultrafiltración, lo que permitirá en el futuro escalar a un proceso a nivel industrial. En cuanto a los resultados del análisis proximal en el proceso de ósmosis inversa, se logró obtener una permeado de agua purificada y una retención casi total de los componentes del suero lácteo original: proteínas, azúcares y sales minerales. Con estos resultados se puede inferir que el suero lácteo es una excelente fuente natural para la obtención de minerales y el desarrollo de una bebida isotónica para deportistas.

Por otra parte, para la formulación de la bebida para deportistas, inicialmente se preparó una solución isotónica a partir del retenido de la OI considerando al potasio como componente de diseño. Se estimó con base en resultados reportados en la literatura que se debía utilizar 23 mL de ROI para alcanzar la concentración objetivo de potasio en la solución isotónica. En el caso del sodio, se agregó 35.9 mg de NaCl por cada 100 mL de solución isotónica para alcanzar la recomendación de sodio de 40 mg/100 mL. Adicionalmente, se realizó la cuantificación de minerales contenidos en el concentrado mineral de la fracción retenida de la OI utilizando un espectrofotómetro de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) para verificar la estimación realizada con base a la literatura. A partir de los resultados obtenidos por el método ICP-OES, se estimó que para preparar la solución isotónica se debe utilizar 31 mL de ROI.

Se desarrollaron 3 formulaciones y los HC añadidos fueron glucosa, fructosa, sacarosa, maltodextrina y edulcorante no calórico. Se realizó una evaluación sensorial de nivel de agrado a nivel laboratorio con 16 jueces no entrenados utilizando una escala hedónica de 5 puntos. Los resultados de la evaluación mostraron que no existe una diferencia significativa entre las formulaciones de bebidas para deportistas desarrolladas en comparación con la bebida comercial Gatorade® Performance, por tanto, todas las formulaciones tendría una buena posibilidad de que la población en general, principalmente por las personas que realizan actividad física lo consuman favorablemente.

De las formulaciones desarrolladas, usando la maltodextrina como ingrediente tuvieron evaluaciones globales de nivel de agrado que no fueron significativamente diferentes de la bebida comercial, y aunque estuvieron por debajo en nivel de agrado mayor con respecto a las formulaciones comerciales es posible que se puedan mejorar, ya sea modificando la cantidad de hidratos de carbono añadidos, cambiar el tipo de edulcorante o potenciar más el sabor de la bebida para un mayor nivel de agrado.

Finalmente, en este trabajo se demostró que el uso de tecnología de membranas como la microfiltración, ultrafiltración y ósmosis inversa constituyen un proceso que puede escalarse a nivel industrial con el fin de un aprovechamiento del contenido nutricional, principalmente las proteínas, los azúcares totales y los minerales provenientes del suero lácteo que es considerado como un residuo de desecho de la industria quesera y hacer de su uso para el desarrollo y producción de suplementos o productos alimenticios.

PERSPECTIVAS

Considerando los resultados obtenidos de la cantidad de lactosa en las fracciones de los procesos de filtración, se podría proponer un modelo simplificado de la hidrólisis para explicar la eficacia de la enzima que hidrolice la lactosa en el suero lácteo. Las condiciones para realizar el proceso estarían en función de los objetivos que se propongan, por ejemplo, para la obtención de un producto libre de lactosa.

Por otra parte, con base a los resultados de minerales por el método ICP-OES, los cuales fueron un poco más bajo que lo estimado basado en la literatura, se debe preparar la solución isotónica considerando la cantidad real de sodio y potasio que contiene el retenido de ósmosis inversa. Así mismo, se debe realizar una evaluación sensorial con un mayor número de jueces para lograr tener una mejor certeza del grado de aceptación de las formulaciones desarrolladas de bebida para deportistas como producto final.

Para garantizar que la bebida para deportista desarrollada es un producto alimenticio inocuo para el consumidor, se espera se realicen análisis microbiológicos como lo establece la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011.

Debido a los tiempos en los que se desarrolló el presente estudio, al inicio se había considerado la determinación del índice glicémico (IG) de las formulaciones de bebidas para deportistas desarrolladas, sin embargo, por causa de la pandemia que desafortunadamente estamos viviendo no se logró hacer. Por lo tanto, se espera que se realice la determinación del IG para establecer una mejor recomendación de la bebida para deportistas en las personas que realizan actividad física.

Finalmente, el desarrollo de las tres formulaciones con diferentes HC abre las puertas a un estudio cuasi-experimental para evaluar el efecto que tiene las bebidas desarrolladas en personas jóvenes que realizan actividad física moderada-intensa.

REFERENCIAS

1. Von Duvillard SP, Braun WA, Markofski M, Beneke R, Leithäuser R. Fluids and hydration in prolonged endurance performance. *Nutrition*. 2004;20(7–8):651–6.
2. Orrú, Stefanía. Imperlini, Esther. Nigro, Ersilia. Alfieri, Andreína. Ceverini, Armando. Polito, Rita. Daniele, Aurora. Buono, Pasqualina. Mancini A. Role of functional beverages on sport performance and recovery. *Nutrients*. 2018;10:1–21.
3. Care G for the C in RP. Clinical Report – Sports Drinks and Energy Drinks for Children and Adolescents : Are They Appropriate? *Am Acad Pediatr*. 2018;127.
4. Shirreffs SM. The optimal sports drink. 2001;
5. Fields S, MacDonald J, Joseph A, Wold L, Collins C, Comstock R. Consumption of Sports and Energy Drinks by High School Athletes in the United States: A Pilot Study. *Beverages*. 2015;1(3):218–24.
6. Salud. EUM-S de. Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. 2011.
7. Urdampilleta A, Medina S, Gil-izquierdo A. Hydration and chemical ingredients in sport drinks : food safety in the European context. 2015;31(5):1889–99.
8. Urdampilleta A, Gómez-Zorita S. De la deshidratación a la hiperhidratación; bebidas isotónicas y diuréticas y ayudas hiperhidratantes en el deporte. *Nutr Hosp*. 2014;29(1):21–5.
9. Petkova E, Ivanov K, Ivanova S, Gueorguiev S. The use of dietary supplements by professional athletes. *Biomed Res*. 2018;29(9):1953–5.
10. Coombes JS, Hamilton KL. The Effectiveness of Commercially Available Sports Drinks. 2000;29(3):181–209.
11. Shalesh FJ, Hasan UCH, Jaaz AF. The effect of sport drink on some functional variables for soccer players. *Int J Adv Res*. 2014;2(2):868–75.
12. von Oetinger A, Trujillo LM. Beneficios metabólicos de realizar ejercicio en estado de ayuno. *Rev Chil Nutr*. 2015;42.
13. Wilmore JH, Costill DL. Fisiología del esfuerzo y el deporte. 3a Edición. Barcelona, España: Editorial Paidotribo; 2005. 545 p.

14. Mahan LK, Escott-Stump S, RAYmond JL. Krause Dietoterapia. 13a ed. México: Elsevier Masson SAS; 2012.
15. Eugenio A, Cisneros R, Janely J, González M, Elizabeth P, Moreno O, et al. Respuesta de la glucosa sanguínea en el ejercicio físico máximo. *Rev Latinoam Patol Clínica*. 2016;63(2):79–81.
16. Gonzales Gallego, Javier. Sánchez Collado, Pilar. Mataíx Verdú J. Nutrición en el deporte. Ayudas ergogénicas y dopaje. Díaz de Santos; 2006.
17. Merí Vived Á. Fundamentos de Fisiología de la Actividad Física y el Deporte. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2005.
18. Saladín KS. Anatomía y Fisiología. La unidad entre forma y función. sexta edic. MCGrawHill education; 2014. 1252 p.
19. Sadowska A, Świdorski F, Rakowska R, Waszkiewicz-robak B. Beverage osmolality as a marker for maintaining appropriate body hydration. 2017;68(2):167–73.
20. Brink-Elfegoun T, Ratel S, Lepre[^]tre PM, Metz L, Ennequin G, Dore´ E, et al. Effects of sports drinks on the maintenance of physical performance during 3 tennis matches: A randomized controlled study. *J Int Soc Sports Nutr*. 2014;11(1):1–10.
21. Utility THE, Carbohydrate OF, Drinks R, Sports IN. Utilidad en el deporte de las bebidas de reposición con carbohidratos. 2012;542–53.
22. Gonzalez JT, Fuchs CJ, Betts JA, van Loon LJC. Glucose plus fructose ingestion for post-exercise recovery—greater than the sum of its parts? *Nutrients*. 2017;9(4):1–15.
23. Martínez Gonzálvez AB, López Román FJ, Luque AJ, Mulero F, Contreras J, Nuño De La Rosa JA, et al. Factores que influyen sobre el vaciado gástrico de bebidas deportivas durante el ejercicio. *Arch Med del Deport*. 2005;22(108):303–10.
24. Ángel G. Tratado de nutrición. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. 3a Edición. México: Editorial Médica Panamericana; 2017. 611 p.
25. Quintero C, Otero W, Franco R. Vaciamiento gástrico y diabetes mellitus tipo 2 Gastric emptying and Type 2 diabetes mellitus. *Rev Fac Med*. 2014;63(2):271–8.
26. Gil Á. Tratado de nutrición. Tomo IV Nutrición clínica. 2a edición. Panamericana EM, editor. 2010.
27. Urdampilleta A, Martínez-Sanz J., Julia-Sánchez S, Álvarez-Herms J. Protocolo de hidratación antes, durante y después de la actividad físico-deportiva. *J Hum Mov*.

- 2013;31:57–76.
28. Gujar V V., Gala B V. Product Development, Biochemical and Organoleptic Analysis of a Sports Drink. *IOSR J Sport Phys Educ.* 2014;1(4):01–5.
 29. Pérez IA, Aragón VLF. Rehidratación post-ejercicio: bebidas con alto contenido de potasio vs. agua y una bebida deportiva. :1–31.
 30. Gómez Candela C, Palma Milla S. Una visión global, actualizada y crítica del papel del azúcar en nuestra alimentación. *Nutr Hosp.* 2013;28:1–4.
 31. Riveros MJ, Parada A, Pettinelli P. Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud; malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutr Hosp.* 2014;29(3):491–9.
 32. Carvalho P, Carvalho E, Barbosa-da-Silva S, Mandarim-de-Lacerda CA, Hernández A, Del-Sol M. Efectos Metabólicos del Consumo Excesivo de Fructosa Añadida. *Int J Morphol.* 2019;37(3):1058–66.
 33. Juan A. Rivera, Onofre Muñoz Hernandez, Martin Rosas Peralta, Carlos A. Aguilar Salinas BMP. Recomendaciones para la población mexicana; consumo de bebidas para una vida saludabe. *Salud Publica Mex.* 2006;50(2):4.
 34. Hofman DL, Buul VJVAN, Brouns FJPH. Nutrition , Health , and Regulatory Aspects of Digestible Maltodextrins. 2016;2100:2091–100.
 35. Activities EN. crossm Enzymes Required for Maltodextrin. 2017;83(13):1–15.
 36. Jeukendrup AE. Nutrition for endurance sports: Marathon, triathlon, and road cycling. *J Sports Sci.* 2011;29(SUPPL. 1).
 37. Oosthuysen T, Carstens M, Millen AME. Ingesting isomaltulose versus fructose-maltodextrin during prolonged moderate-heavy exercise increases fat oxidation but impairs gastrointestinal comfort and cycling performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2015;25(5):427–38.
 38. Jówko E, Długołęcka B, Makaruk B, Cieśliński I. The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters. *Eur J Nutr.* 2015;54(5):783–91.
 39. Miccheli A, Marini F, Capuani G, Miccheli AT, Delfini M, Di Cocco ME, et al. The influence of a sports drink on the postexercise metabolism of elite athletes as investigated by nmr-based metabolomics. *J Am Coll Nutr.* 2009;28(5):553–64.

40. Louise M, Burk. SD Read R. Dietary Supplements in Sport. *Sport Med.* 1993;15:43–65.
41. Martínez, M.; Sanz J. Necesidades energéticas, hidratación y nutricionales en el deporte. *Mot Eur J Hum Mov.* 2013;30:37–52.
42. Stan Reents P. Sport drink and recovery drinks [Internet]. AthleteInMe.com. Available from: <http://www.athleteinme.com/ArticleView.aspx?id=358>
43. Ávila-de Hernández R, González-Torrivilla C. La evaluación sensorial de bebidas a base de fruta: Una aproximación difusa. *Universidad, Cienc y Tecnol.* 2011;15(60):171–82.
44. Penfield MP, Campbell AM. Evaluating Food By Sensory Methods. *Exp Food Sci.* 1990;51–77.
45. Watts B., Ylimaki G., Yefferi L., Elías L. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2013. 1689–1699 p.
46. Carpenter RP, Lyon DH, Hasdell TA. Análisis sensorial en el desarrollo y control de calidad de alimentos. Segunda Ed. Zaragoza España: Editorial Acribia; 2000.
47. Sinsesio F. Sensory Evaluation. Second Edi. Vol. 33. Italy; 2005. 283–290 p.
48. Pérez Idárraga, Alexandra; Aragón Vargas LF. Rehidratación port-ejercicio con agua de coco: ¿igual o más efectiva que una bebida deportiva? *MSSalud Rev en ciencias del Mov Hum y salud* [Internet]. 2011;8(1659-097X):1–17. Available from: www.una.ac.cr/mhsalud
49. Murillo Calderón LA. Desarrollo de una Bebida Hidratante Elaborada a Base de Agua de Coco y Suero de Leche Siguiendo la Normativa Para Bebidas Isotónicas. 2015; Available from: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/89003/D-88108.pdf>
50. Rubia AL, Santos JI. Hidratación y deporte. Cómo hidratarse correctamente para el ejercicio físico. *Rev Esp Nutr Comunitaria.* 2008;14(2):110–3.
51. Palavecino N. Nutrición para el alto rendimiento. Colección de ciencias a la salud; 2001.
52. Gil Á. Tratado de nutrición. Tomo IV. Nutrición humana en el estado de salud. 3a Edición. Editorial Médica Panamericana; 2017.
53. Poveda E. Suero lácteo , generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta

- biodisponibilidad Whey , generalities and potential use as source of calcium from high bioavailability. *Rev Chil Nutr.* 2013;40(397):397–403.
54. Guerrero J, Ramírez A, Puente W. Caracterización Del Suero De Queso Blanco Del Combinado Lácteo Santiago. *Tecnol Química.* 2011;3:93–100.
 55. Chavan R, Nalawade T, Kumar A. Studies on the Development of Whey Based Mango Beverage. *J Food Dairy Technol.* 2015;3(2):1–6.
 56. Hernández-Rojas M, Vélez-Ruíz JF. Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Sel Ing Aliment.* 2014;8(2):13–22.
 57. Proyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Sistema de producto leche-alimentos-lácteos-suero de leche (líquido o en polvo)-especificaciones y métodos de prueba. 2012.
 58. Londoño U, Margarita M, Sepúlveda V, Uriel J, Monzón H, Eduardo J, et al. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Rev Fac Nac Agron.* 2008;61:4409–21.
 59. Mosquera W. Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos Use of whey and its components as raw material in the food industry. @Limentech. 2015;13(1):81–91.
 60. SAGARPA, SIAP. Boletín de leche -enero-marzo 2018. 2018.
 61. Vázquez Esnoval CO, Pinto Ruiz R, Rafael RH, Carmona de la Torre J, Adrián G de J. Uso, producción y calidad nutricional del lactosuero en la región central de Chiapas. 2017;21(1):65–75.
 62. C. S. Osorio-González, F. Sandoval-Salas, F. Hernandez-Rosas, J. V. Hidalgo-Contreras, F.C. Gonzalez Merino DAÁ de la C. Potential for the Use of Cheese Whey in Mexico. *Agroproductividad.* 2018;11(7):101–6.
 63. Djurić M, Carić M, Milanović S, Tekić M, Panić M. Development of whey-based beverages. *Eur Food Res Technol.* 2004;219(4):321–8.
 64. Pais Chanfrau JM, Núñez Pérez J, Lara Fiallos M V, Rivera Intriago LM, Trujillo Toledo LE, Cuaran Guerrero MJ, et al. Valorización del suero de leche: Una visión desde la biotecnología Milk whey valorization: An overview from Biotechnology. 2017;468–76.
 65. Cuellas, A. Wargner J. Elaboración de bebida energizante a partir de suero de

- quesería *Materiales y Métodos Resultados y Discusión*. 2010;(5):54–7.
66. Hernández García Y. Desarrollo de una bebida probiótica a partir de proteínas de suero lácteo mediante micro y ultrafiltración. *Universidad Tecnológica de la Mixteca*; 2017.
 67. Rigey L, David P. Nanofiltración en el manejo del lactosuero. 2016;5.
 68. Solís CA, Velez SA, Ramirez-Navas JS. Tecnología de membranas: ultrafiltración. *Entre Cienc e Ing*. 2017;(22):26–36.
 69. De DEEDEP, Tratamiento PDE, Residuales DEA, Textil DELAI. Filtración en membrana y ósmosis inversa. 2015.
 70. Guizard C. Técnicas membranarias de filtración de líquidos: Microfiltración – Ultrafiltración – Nanofiltración – Ósmosis inversa. Módulo enseñanza en fenómenos interfaciales. 1999;56.
 71. Santamaria MR. *Industria Alimentaria. Tecnologías emergentes*. Catalunya UP de, editor. 2005. 210 p.
 72. Marzban R, Saberi F, Shirazi MMA. Microfiltration and ultrafiltration of bacillus thuringiensis fermentation broth: Membrane performance and sporecrystal recovery approaches. *Brazilian J Chem Eng*. 2016;33(4):783–91.
 73. Calvo Brenes G, Mora Molina J, Quesada Kimsey J, Quesada Carvajal H. Aplicación de la tecnología de membranas en el tratamiento de algunos residuos líquidos altamente peligrosos. 2010;23:94–106.
 74. Chacón A. *Tecnologías de Membranas en la Agroindustria Alimentaria*. *Agron Mesoam*. 2006;17(2):243–64.
 75. Solís CA, Vélez CA, Ramírez JS. Tecnología de membranas: desarrollo histórico. *Membr Technol Hist Dev* [Internet]. 2016;10(19):89–98. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fap&AN=116329217&lang=es&site=eds-live>
 76. Rosa de Souza R, Bergamasco R, Cláudio da Costa S, Feng X, Henrique S, Faria B, et al. Recovery and purification of lactose from whey. *Chem Eng Process Process Intensif*. 2010;49(11):1137–43.
 77. Chollangi A, Hossain M. Separation of proteins and lactose from dairy wastewater. 2007;46(April 2006):398–404.

78. Yorgun MS, Balcioglu IA, Saygin O. Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination*. 2008;229(1–3):204–16.
79. Posada K, Terán DM, Ramírez-Navas JS. Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboracion de postres y productos de confitería. *La Aliment Latinoam*. 2011;292(1):66–76.
80. Pérez-González A, Urriaga AM, Ibáñez R, Ortiz I. State of the art and review on the treatment technologies of water reverse osmosis concentrates. *Water Res*. 2012;46(2):267–83.
81. Lee KP, Arnot TC, Mattia D. A review of reverse osmosis membrane materials for desalination-Development to date and future potential. *J Memb Sci*. 2011;370(1–2):1–22.
82. Meneses YE, Flores RA. Feasibility , safety , and economic implications of whey-recovered water in cleaning-in-place systems : A case study on water conservation for the dairy industry. *J Dairy Sci*. 2016;1–12.
83. Mercado E, Arce M, Villaseñor F, Regalado L. Determinación de calcio en el candidato a material de referencia de leche entera en polvo (DMR-274F), por espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). *Investig y Desarro en Cienc y Tecnol Aliment*. 2016;1(1).
84. Jiménez-Heinert ME, Grijalva-Endara AM, Ponce-Solórzano HX. Plasma acoplado inductivamente en espectroscopía de emisión óptica (ICP-OES). *Recimundo*. 2020;4(4)(2588-073X):12.
85. Calderilla-Jaime carlos M. Avances en la determinación de metales basados en la técnica de análisis en flujo multijeringa e impresión 3D. *Universitat de les Illes Balears*.; 2018.
86. Donati GL, Amais RS, Williams CB. Recently advances in inductively couple plasma optical emission spectrometry. *J Anal At Spectrom*. 2017;32 (7):1283–96.
87. Caruso F, Mantellato S, Palacios M, Flatt RJ. ICP-OES method for the characterization of cement pore solutions and their modification by polycarboxylate-based superplasticizers. *Cem Concr Res*. 2017;91:52–60.
88. Environmental Protection Agency. METHOD 200.7 - Determination of elements and

- trace elements in water and wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic
Emission Spectroscopy. US Environ Prot Agency. 1991;EPA/600/4-:31–82.
89. S.S. N. *Análisis de los alimentos*. 3a ed. Zaragoza (España): ACRIBIA, S.A; 2009.
 90. NOM. NMX-F-510-1988. Alimentos. Determinación de sólidos totales en leche reconstituida. Foods. Total solids determination in reconstituted milk. Normas Mex Dir Gen Normas. 1998;1–18.
 91. Mota L. Universidad Tecnológica De La Mixteca. 2013;
 92. Cuartas-Uribe B, Alcaina-Miranda MI, Soriano-Costa E, Mendoza-Roca JA, Iborra-Clar MI, Lora-García J. A study of the separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration. *Desalination*. 2009;241(1–3):244–55.
 93. Durham RJ, Hourigan JA. Waste management and co-product recovery in dairy processing. In: *Handbook of Waste Management and Co-Product Recovery in Food Processing* [Internet]. Woodhead Publishing Limited; 2007. p. 332–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845692520.4.332>
 94. Codex. Norma del codex para suero en polvo. CODEX STAN 289. 1995;1–6.
 95. Souza RR, Gimenes ML, Costa SC. Eliminación de Grasas del Suero de Queso para Obtener Proteínas y Lactosa. 2008;19(2):41–50.
 96. Callejas Hernández J, Prieto García F, Reyes Cruz VE, Marmolejo Santillán Y, Méndez Marzo MA. Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Univ*. 2012;22(1):11–8.
 97. Muro C, Escobar J, Zavala RE, Esparza M, Castellanos J, María R, et al. Evaluación del proceso de microfiltración en un efluente residual de una industria alimenticia para su reuso. 2009;25(4):229–38.
 98. Wen-qiong W, Yun-chao W, Xiao-feng Z, Rui-xia G, Mao-lin L. Whey protein membrane processing methods and membrane fouling mechanism analysis. *Food Chem*. 2019;289(December 2018):468–81.
 99. Olivos O. C, Cuevas M. A, Álvarez V. V, Jorquera A. C. Nutrición para el entrenamiento y la competición TT - Nutrition for training and competition. *Rev Méd Clín Condes* [Internet]. 2012;23(3):253–61. Available from: [http://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF revista médica/2012/3 mayo/6_Dra_Cuevas-8.pdf](http://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20médica/2012/3%20mayo/6_Dra_Cuevas-8.pdf)

100. Vega-pérez R, Ruiz-hurtado KE, Macías-gonzález J, García-peña MD, Torres-bugarín O. Impacto de la nutrición e hidratación en el deporte. *El Resid.* 2016;11:81–7.
101. Fernández EF, Hernández JAM, Suárez VM, Villares JMM, Yurrita LRC, Cabria MH, et al. Documento de Consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutr Hosp.* 2015;31(1):92–101.
102. Labayen I, Martínez J. Bacterias probióticas y deficiencia de lactasa. *Gastroenterol Hepatol.* 2003;26(Supl.1):64–72.
103. Chr Hansen. Lactasa en la industria láctea. *Food ingredientes Bras* [Internet]. 2015;32:20. Available from: www.revista-fi.com
104. Hanemaaijer JH, Robbertsen T, van den Boomgaard T, Gunnink JW. Fouling of ultrafiltration membranes. The role of protein adsorption and salt precipitation. *J Memb Sci.* 1989;40(2):199–217.
105. González-Gross M, Gutiérrez A, Mesa JL, Ruiz-Ruiz J. La nutrición en la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista. *Arch Latinoam Nutr.* 2001;51 (4).
106. Rao HGR. Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk. *Desalination.* 2002;144:319–24.
107. Williams MH. *Nutrición para la salud, la condición física y el deporte.* 5a edición. Companies TMcg-H, editor. España: Editorial Paidotribo; 2002.
108. Bueno-Hernández N, Vázquez-Frías R, Abreu y Abreu AT, Almeda-Valdés P, Barajas-Nava LA, Carmona-Sánchez RI, et al. Revisión de la evidencia científica y opinión técnica sobre el consumo de edulcorante no calóricos en enfermedades gastrointestinales. *Rev Gastroenterol Mex.* 2019;84(4):492–510.
109. Pérez-Guisado J, Pérez Guisado J. Rendimiento deportivo: glucógeno muscular y consumo proteico. *Apunt Med l'esport.* 2008;43(159):5–151.
110. Mataix-Verdú J. *Tratado de Alimentación y Nutrición. Volumen II. Situaciones Fisiológicas y Patológicas.* Nueva edic. Editorial Oceano; 2012. 877–1981 p.
111. Peinado AB, Rojo-Tirado MA, Benito PJ. El azúcar y el ejercicio físico: su importancia en los deportistas. *Nutr Hosp.* 2013;28:48–56.

112. Vargas PN, García LR, Castellanos EJ, Pérez ZA, Martínez RM. Evaluación de la separación con membranas en la cerveza Tímina. *Tecnol Química*. 2009;XXIX(0041–8420).
113. Panchlor. Ósmosis Inversa-Un proceso sofisticado de filtración por membranas. 2018.

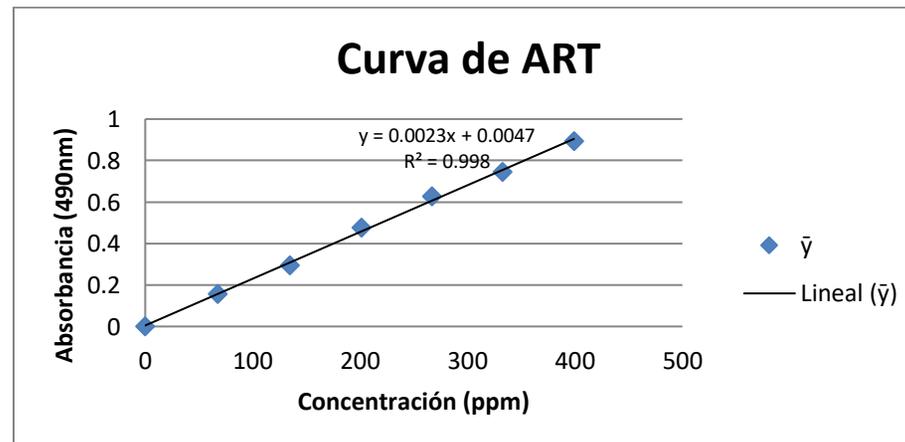
ANEXOS

ANEXO A

Cuantificación Azúcares Reductores Totales.

Curva de calibración de los ART en el suero lácteo. Prueba de ajuste.

Concentración (x)	Absorbancia (y)			\bar{y}
0	0	0	0	0
67.46	0.158	0.16	0.15	0.156
134.53	0.292	0.281	0.309	0.294
201.2	0.457	0.485	0.488	0.4767
266.66	0.621	0.633	0.628	0.6273
332.52	0.771	0.739	0.722	0.744
399.03	0.907	0.892	0.883	0.894



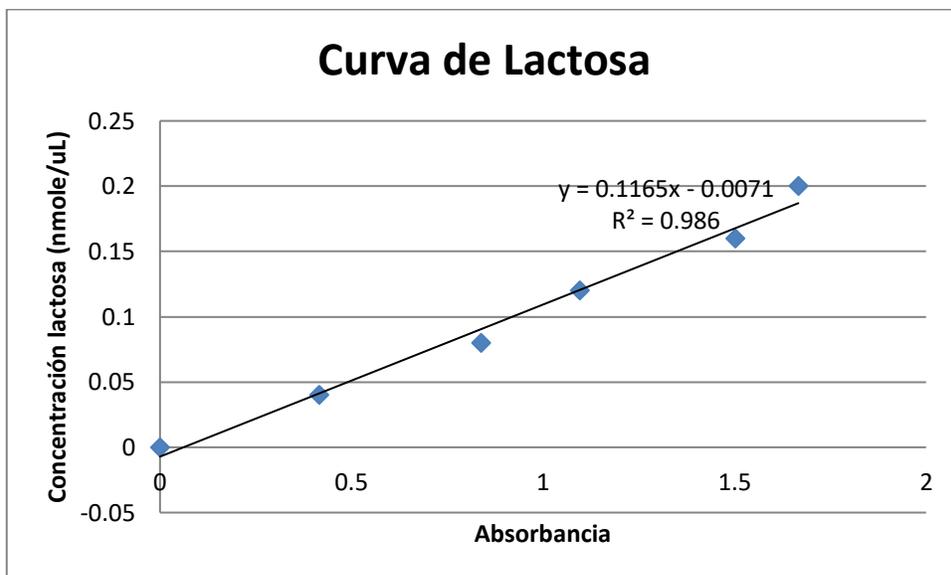
X	\bar{y}	\hat{y}	$(y_i - \hat{y})^2$			$(y_i - \bar{y})^2$			$(\bar{y} - \hat{y})^2$
0	0	0.004	0.000016	0.000016	0.000016	0	0	0	0.000016
67.46	0.156	0.13892	0.000364046	0.00044437	0.00012277	4E-06	0.000016	3.6E-05	0.00029173
134.53	0.294	0.27306	0.000358724	6.3044E-05	0.00129168	4E-06	0.000169	0.000225	0.00043848
201.2	0.4767	0.4064	0.00256036	0.00617796	0.00665856	0.000386778	6.9444E-05	0.00012844	0.0049374
266.66	0.6273	0.53732	0.007002342	0.00915466	0.00822286	4.01111E-05	3.2111E-05	4.4444E-07	0.0081024
332.52	0.744	0.66904	0.010395842	0.0048944	0.00280476	0.000729	2.5E-05	0.000484	0.005619
399.03	0.894	0.80206	0.011012404	0.0080892	0.00655128	0.000169	4E-06	0.000121	0.00845296

		GL		Cuadrados medios	Fo	Fc (α 0.05)
Ssr = $\Sigma(y_i - \hat{y})^2$	0.08621727	IJ -2	16			
Sse = $\Sigma(y_i - \bar{y})^2$	0.00264333	IJ -1	12	0.00022028	3	5.9117
Sslof = Ssr - Sse	0.08357394	I -2	4	0.00066083		

GL (grados libertad); I (número de puntos); J (número de réplicas); Ssr (varianza residual); Sse (varianza experimental); Sslof (varianza ajuste).

ANEXO B.

Curva de calibración de la lactosa en el ensayo de lactosa



ANEXO C. ADITIVOS ALIMENTARIOS

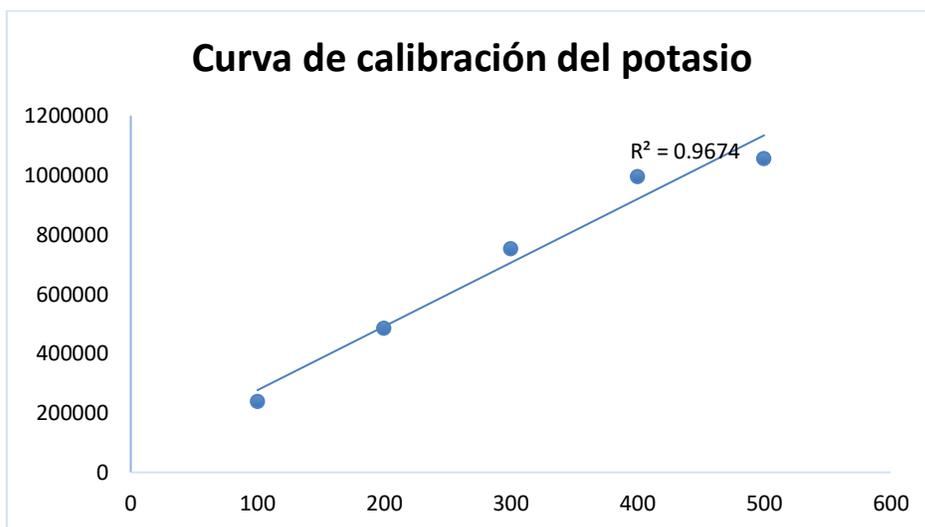
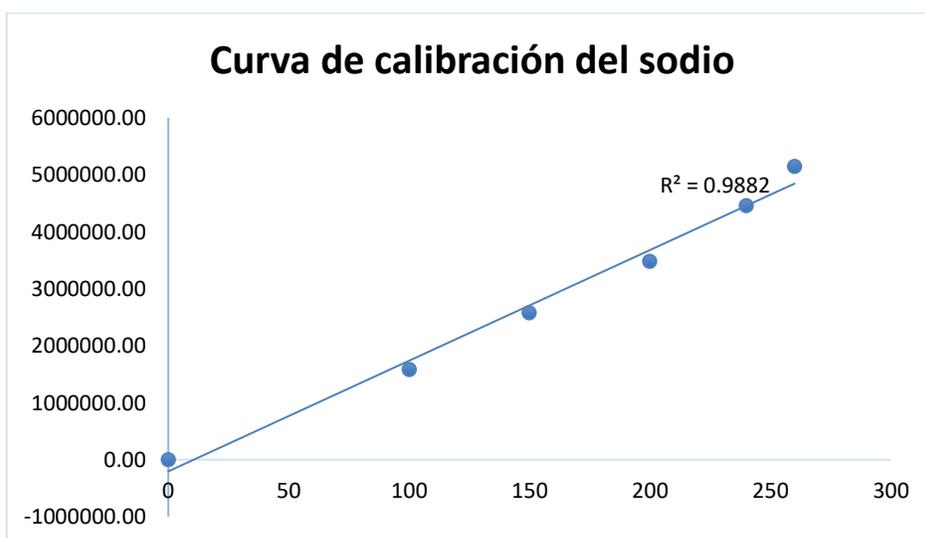
- **E-414 Goma arábica:** Espesante natural y emulsionante.
- **E-330 Ácido cítrico:** Acidulante natural o sintético, regulador de la acidez y saborizante.
- **E-445 Ésteres glicéridos de resina:** Estabilizante sintético.
- **E-104 Amarillo de quinoleína:** Colorante sintético. Es de color amarillo al verde.
- **E-340 Fosfatos de potasio:** Acidulante natural y regulador de acidez. Se divide en tres:
 - **E-340i** Fosfato monopotásico,
 - **E-340ii** Fosfato dipotásico,
 - **E-340iii** Fosfato tripotásico.
- **C₆H₈O₇** ácido cítrico
- **Na₃C₆H₅O₇** citrato de sodio
- **C₆H₅K₃O₇** citrato de potasio
- **MgCl₂** cloruro de magnesio,
- **CaCl₂** cloruro de calcio

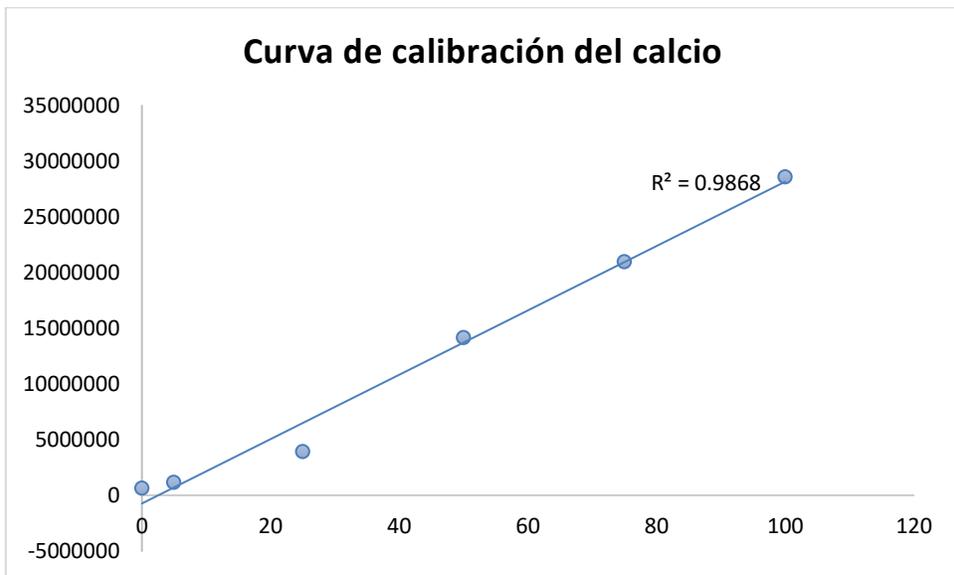
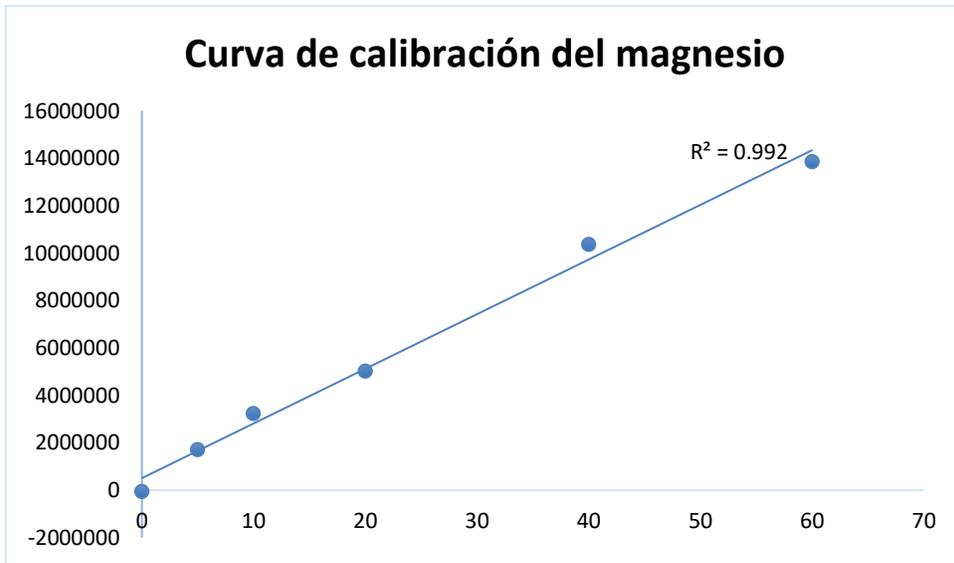
ANEXO D.

Curva de calibración de la lactosa en el ensayo de lactosa

Resultados de la concentración utilizada para elaborar la curva de calibración

Conc (Calib)	Na 589.592	Conc (Calib)	K 766.490	Conc (Calib)	Mg 285.213	Conc (Calib)	Ca 317.933
0	-3888.40	0	-180.0	0	-55520.2	0	585807.1
100	1579411.30	100	238788.4	5	1723094.7	5	1112521.4
150	2570488.20	200	484824	10	3230781.8	25	3914283.1
200	3476957.10	300	751808.8	20	5026694.5	50	14142046.3
240	4450511.00	400	994826.7	40	10376528.2	75	20958579.1
260	5140987.90	500	1055413.6	60	13856181.6	100	28562481.1





ANEXO E. Evaluación sensorial para la bebida para deportista.

Código	Muestra
F139	Fórmula 1: Sacarosa, Glucosa y Fructosa
F142	Fórmula 2: Maltodextrina y edulcorante no calórico
F145	Fórmula 3: Maltodextrina y Fructosa
F160	Gatorade comercial sabor uva

BEBIDA PARA DEPORTISTA

Nombre: _____ Fecha: _____

Indicación: Por favor indique su nivel de agrado de la bebida marcando con una “X”

	F139	F142	F145	F160
Me gusta mucho				
Me gusta poco				
Ni me gusta, ni me disgusta				
Me disgusta un poco				
Me disgusta mucho				

Observaciones: _____

¡Gracias por su participación!

ANEXO F

ANOVA de un solo factor: Fórmula 1, Fórmula 2, Fórmula 3 y Gatorade

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Factor	4	F1 (139), F2 (142), F3 (145), Gatorade (160)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	1.922	0.6406	0.80	0.501
Error	60	48.313	0.8052		
Total	63	50.234			

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
F1	16	4.188	A
Gatorade	16	3.813	A
F2	16	3.813	A
F3	16	3.750	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.