

<https://orcid.org/0000-0003-0350-3802>
<https://orcid.org/0000-0003-0935-5468>
<https://orcid.org/0000-0001-9780-0896>
<https://orcid.org/0000-0002-8687-6868>
<https://orcid.org/0000-0001-7726-4483>
<https://orcid.org/0000-0001-6103-1749>
<https://orcid.org/0000-0002-9131-0092>
<https://orcid.org/0000-0003-0376-034X>

DETECCIÓN CUALITATIVA ALTERNATIVA DE LACTOPEROXIDASA EN LECHE ALTERNATIVE QUALITATIVE DETECTION OF LACTOPEROXIDASE IN MILK

Ma. Dolores Castañeda-Antonio *, Deisy Santamaría Juárez ² Dulce M. Ávila –
Castilla³, Alexia G. Bautista – Flores ³, Jenny Espinosa– Acosta ³, Leslie A. Laguna –
Morales ³ Ricardo Munguía Pérez ¹, Y, Elizabeth García-Morales³

¹Instituto de Ciencias Av. San Claudio y Blvd. 24 sur Col. Jardines de San Manuel, C.P. 72570,
Puebla, Pue., México.

²Facultad de Ingeniería Química Av. San Claudio y Blvd. 18 sur Col. Jardines de San Manuel,
C.P. 72570, Puebla, Pue., México.

³Facultad de Ciencias Biológicas

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, México, Puebla.

Autor de correspondencia*: dcastaneda.antonio@gmail.com

Resumen

La lactoperoxidasa (LPO) es una enzima que se encuentra dentro de los principales componentes de la leche, tiene una función antibacteriana y es un indicador muy utilizado para el tratamiento térmico de la leche. Por lo anterior el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de LPO en cinco marcas de leche comerciales procesadas y una muestra de leche no procesada. La metodología usada se basa en la interacción de la leche con el sistema guayacol al 1 % y peróxido de hidrógeno al 12% (H₂O₂) formando la molécula de tetraguayacol que corresponde al desarrollo de una coloración salmón. También se determinaron los sólidos totales (ST) por gravimetría dichos valores se correlacionaron con la presencia de LPO, con estos datos se estableció la calidad de la leche. Se obtuvo LPO en la leche cruda (LC) y en las muestras LGV (Great Value), LSC (Santa Clara) y LAI (Alpura), no así en las muestras LA (Aurera) y LT(Tamariz). La determinación de ST mostró no tener una correlación con la LPO por lo que solo se establece esta última como indicador de calidad, esta cuando es negativa, indica que la

leche se sometió a procesos de sobrecalentamiento ($>77.8^{\circ}\text{C}$) y destrucción de la enzima peroxidasa durante la pasteurización. Perdiendo con esto, características de su estado natural y, por lo tanto, el valor nutricional ha disminuido. La persistencia de la actividad lacto-peroxidasa en la leche pasteurizada proporciona una buena indicación de la calidad de un producto, ya que solo se puede encontrar en una leche cruda de buena calidad microbiológica a través de un proceso de pasteurización suave para no inactivar esta enzima. A menudo son cualitativos (presente / no presente). Esto indica si se ha realizado el proceso térmico a mayor valor de peroxidasa significa que la leche ha conservado sus características originales.

Palabras clave: *Lactoperoxidasa, leche, guayacol, peróxido de hidrógeno.*

Abstract

Lactoperoxidase (LPO) is an enzyme found within the main components of milk; it has an antibacterial function and is widely used as an indicator for the heat treatment of milk. The objective of this study was to determine the presence of LPO in five brands of processed commercial milk and a sample of unprocessed milk. The methodology used is based on the interaction of milk with the 1% guaiac system and 12% hydrogen peroxide (H_2O_2), forming the tetraguayan complex that corresponds to the development of a salmon color. The total solids (TS) were also determined by gravimetry. These values were correlated with the presence of LPO; with these data, the milk quality was established. LPO was obtained in raw milk (LC) and in the LGV, LSC, and LAI samples, not in the LA and LT samples. The determination of ST showed not to correlate with the LPO, so only the latter is established as an indicator of quality when it is negative, indicates that the milk was subjected to processes of overheating ($>77.8^{\circ}\text{C}$) and destruction of the peroxidase enzyme during pasteurization. Losing with this, characteristics of its natural state and, therefore, the nutritional value has decreased. The persistence of lactoperoxidase activity in pasteurized milk provides a good indication of the quality of a product since it can only be found in raw milk of good microbiological quality through a mild pasteurization process so as not to inactivate this enzyme. They are often qualitative (present / not present). This indicates that if the thermal process has been carried out at a higher peroxidase value, it means that the milk has retained its original characteristics.

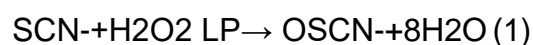
Keywords: *Cow's milk; Guaiacol, Hydrogen peroxide; Lactoperoxidase.*

INTRODUCCIÓN

La producción de leche en México en el 2018 ocupó el puesto número 8 a nivel mundial, con más de 12.008 millones de litros (Trejo E., 2019), este sector ha tenido y se sigue manteniendo como uno de los sectores con productos y derivados más consumidos (PROFECO, 2020). La leche es un producto que como muchos otros debe pasar por procesos que verifican su inocuidad para ser consumidos; en México se utiliza la Norma Oficial Mexicana (PROFECO, 2020), Productos y servicios. Leche, fórmula y producto lácteos combinado. Como estándar para pruebas que verifican dicha inocuidad (NOM, 2002).

La inocuidad de alimentos de consumo cotidiano como lo es la leche es un asunto sumamente relevante para la salud pública. Cualquier agente no perteneciente a las características naturales originales de la leche cruda pueden causar afecciones. La leche es un alimento altamente perecedero, por lo que las bacterias pueden desarrollarse y multiplicarse fácilmente, haciéndola no apta para el consumo humano. El proceso de pasteurización se ha convertido en un método común para las leches procesadas, siendo un símbolo de calidad que además proporciona a los consumidores seguridad y confianza por el producto. Sin embargo, este proceso puede modificar las características originales de la leche, por ejemplo, la desnaturalización de la lactoperoxidasa (LPO), la cual es un indicador de calidad (Rivera y col., 2002).

Esta peroxidasa es la misma que encontramos en la saliva y el jugo gástrico, pero funcionalmente no es antimicrobiana hasta que se combina con iones tiocianato ($[SCN]^-$) también presente en la leche (reacción 1) Manual Sobre el uso de la lactoperoxidasa en la manipulación y Conservación de la leche (2000).



En la industria, se suele usar peróxido de hidrógeno (H_2O_2) con una concentración del 30 al 60% para disminuir el deterioro de la leche por el crecimiento de bacterias, principalmente en elaboración de quesos (Taticuán y Eugenia, 2015; Castro, 2014). A pesar de que este deterioro se puede retrasar mediante procesos de refrigeración o esterilización por calor, estas técnicas no siempre pueden ser aplicadas por falta de recursos económicos, por lo que deben recurrir a métodos alternos de conservación

como el sistema de lactoperoxidasa/tiocianato/peróxido de hidrógeno o sistema LPO (FAO, 1991; Campos y col., 2019).

Al añadir H_2O_2 (8.9 ppm) a la leche en forma de percarbonato de sodio granulado ($2NaCO_3 \cdot 3H_2O_2$, 15 ppm), se verá activada la enzima lactoperoxidasa, lo que favorecerá la oxidación del tiocianato, convirtiéndolo en un agente antibacteriano, que inhibe la multiplicación celular, la producción de ácido láctico y la captación de oxígeno (Taticuán y Eugenia, 2015). Por lo anterior el uso del H_2O_2 , permite la conservación de la leche, al impedir el desarrollo de microorganismos. Este tratamiento se considera seguro, debido a que después de un determinado tiempo esta sustancia desaparece completamente de la leche. Sin embargo, el riesgo de su uso se presenta cuando los productores aplican grandes dosis con el deseo de disimular el mal estado de una leche (Borrego y col., 1998; Campos y col., 2019).

Como describe Carbone *et al.* (2019), durante la descomposición del H_2O_2 , se forma el anión superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH^\cdot), los cuales son especies reactivas de oxígeno (ROS). El hecho de tener un exceso de H_2O_2 en la leche puede conducir a una condición patológica conocida como estrés oxidativo, dicha condición la relaciona con posibles daños a lípidos celulares, proteínas o al ADN (Harmonia, 2019).

A pesar de esto, siempre deberá vigilarse el uso de estas prácticas. Por esta razón, en el presente trabajo, este aspecto de calidad será evaluado en muestras de leche cruda y cinco muestras de leche procesadas (comerciales). El objetivo del estudio fue determinar la calidad de la leche al identificar la presencia de la enzima lactoperoxidasa de forma cualitativa utilizando como indicador el sistema Guayacol/ H_2O_2 , cuyo nombre químico es 2-metoxifenol formula química $C_6H_4(OH)(OCH_3)$ de una forma cualitativa siendo una propuesta de técnica alternativa en un tiempo de pandemia donde no hay laboratorios disponibles para el monitoreo de la calidad de acuerdo con normas (NOM,2002).

1. METODOLOGÍA

1. Muestreo

Se llevó a cabo la colección de muestras por compra de productos lácteos procesados y crudos, para obtener muestras representativas. Se analizaron 6 muestras comerciales, incluyendo una muestra de leche cruda (Tabla 1). Las muestras se preservaron a una temperatura de 15°C (todas por triplicado).

Nombre comercial	ID de la muestra	Tipo de leche
Leche Cruda	LC	Sin procesar y sin pasteurizar
Leche Santa Clara	LSC	Pasteurizada
Tamariz	LT	
Aurrera	LA	
GreatValue	LG	
Alpura	LAI	

Se tomó como muestra control a la leche de marca Santa Clara, debido a que en el 2010 la PROFECO la calificó como una de las mejores marcas (PROFECO, 2010). Además, en el artículo “Evaluación de parámetros de calidad de diferentes marcas comerciales de leche y yogurt, y cambios durante el almacenamiento”, calificó a esta marca de leche como una de las mejores en procesos de yogurt y sus procesos de inocuidad. En Harmonía 2019, se realizaron tablas nutrimentales que la posicionan como una de las mejores marcas con aporte nutrimental correcto y aprobado (PROFECO, 2010).

2. Identificación de la peroxidasa con Guayacol/H₂O₂ (LPO)

La Norma Oficial Mexicana [13], Productos y servicios. Leche, fórmula y producto lácteos establece en su apartado 8 el método espectrofotométrico para la detección de la LPO, sin embargo, se seguirá el diagrama de trabajo propuesto como una técnica alternativa (Figura 1).

Determinación de LPO por guayacol

Determinación de LPO por guayacol

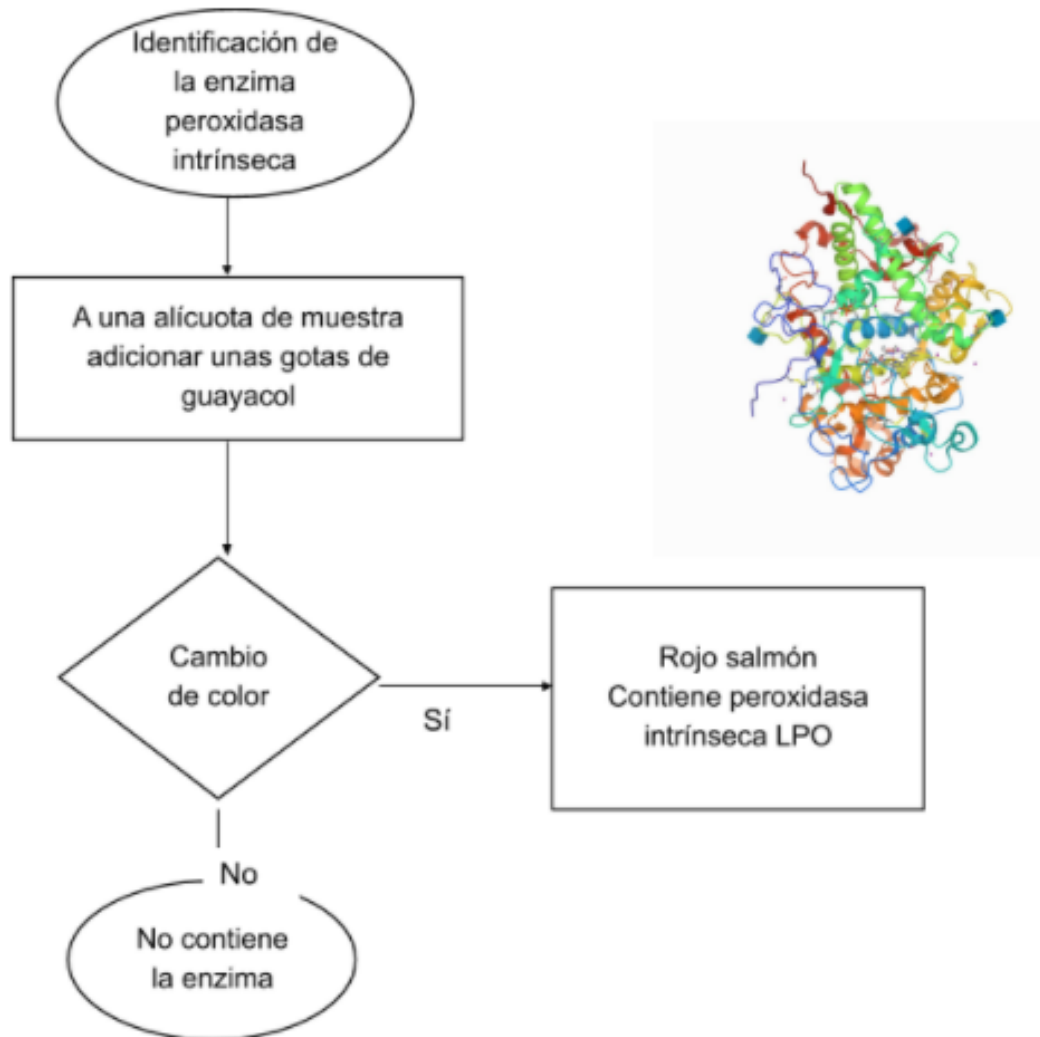


Figura 1. Diagrama del procedimiento general para la identificación de lactoperoxidasa. *Diagrama Crystal structure of hydrogen peroxide bound bovine lactoperoxidase at 2.3 Å resolution Code 6KMK PDB (Singh et al., 2019).*

Mendoza y Herrera (2012), han determinado la cinética enzimática de la LPO a partir de la formación de tetraguayacol como se muestra en el esquema de reacción de la Figura 3.



Figura 2. Esquema de reacción de Dupoy para la lactoperoxidasa *IMAGEN GUAYACOL Y TETRAGUAYACOL* (NCBI, 2021).

Mendoza y col. (2012), describen el desarrollo de la técnica preparando una solución de guayacol 7.2 mM en conjunto con la enzima y una solución de peróxido de hidrógeno 11.8 mM. Al adicionar este último reactivo se midió el cambio de absorbancia. Se estableció que una unidad de actividad peroxidasa se define como la cantidad de enzima que causa la formación de 1 μmol / minuto de tetraguaiacol.

Por lo anterior se utilizó una mezcla de guayacol/ H_2O_2 para realizar una determinación cualitativa de la presencia de la enzima LPO. Basándonos en la metodología que propone Rentería (2016) y realizando algunas modificaciones que a continuación se describen. Se colocó 3 mL de leche en tubos de ensayo de 10 mL. Peróxido de hidrógeno al 12% y guayacol al 1% (eucaliptine 100 mg). Bajo el procesamiento que se muestra en la figura 3.

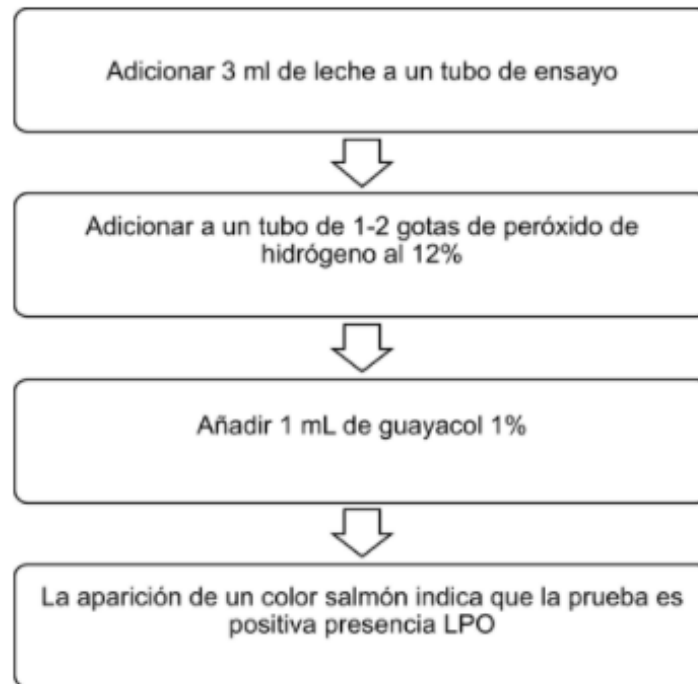


Figura 3. Diagrama de detección de la enzima LPO mediante la adición de guayacol/H₂O₂.

El procedimiento se realizó por triplicado para cada muestra, tomando como controles a las muestras de leche Santa Clara y la leche Cruda utilizada.

1.3 Determinación de Sólidos Totales (ST)






Para determinar la cantidad de sólidos en cada muestra, los cuales son principalmente proteínas y lípidos, se colocó 1 mL de muestra en un tubo de ensayo y se dejó durante 5 días. Los sólidos formados en los tubos de ensayo fueron filtrados, secados en una estufa a 100°C y pesados (NMX, 1982). Las mediciones se realizaron por triplicado con ANOVA.

2. RESULTADOS

2.1 Presencia de LPO

Los resultados obtenidos en la determinación de la enzima LPO utilizando como sistema guayacol al 1%/peróxido de hidrógeno al 12%, se muestran en la Tabla 2.

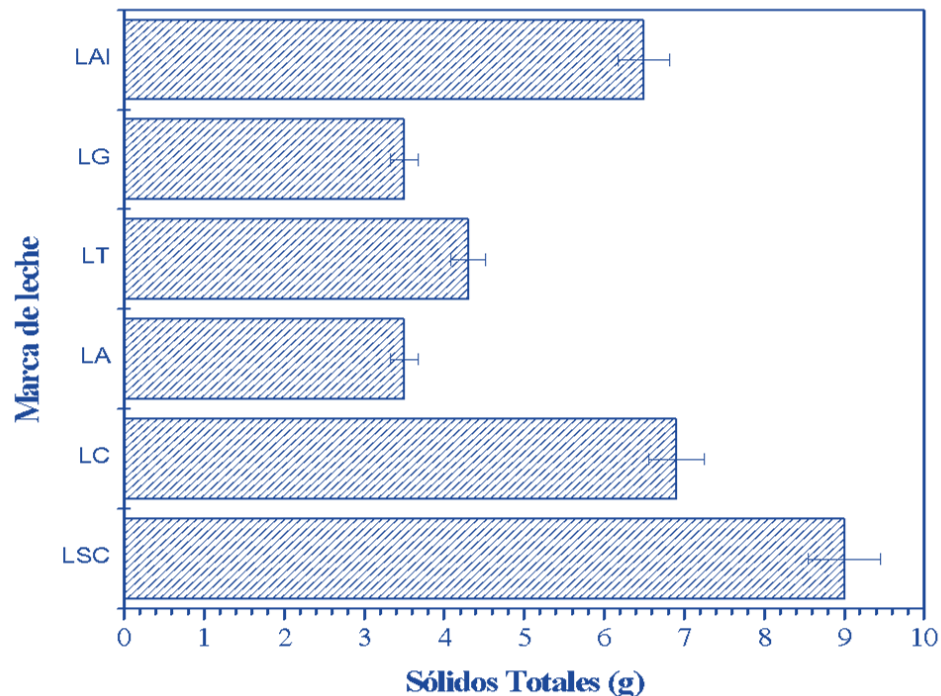
Tabla 2. Datos obtenidos de metodología cualitativa con guayacol al 1%/ H₂O₂ 12 %.

Control positivo LC	LG	Control - LSC	LAI	LA	LT
					 
Color Salmón	Miscibilidad total del sistema	Miscibilidad	Globulos color verde	Glóbulos color amarillo verdoso	Poco miscibilidad del sistema

La adición del sistema guayacol 1%/H₂O₂ 12%, la muestra leche Cruda generó el color salmón esperado, seguida de una menor intensidad para la leche Great Valué y la leche Santa Clara. La muestra leche Alpura presentó menor coloración que las antes mencionadas, las muestras de leche Aurrerá y leche Tamariz tuvieron ausencia de desarrollo de coloración. Los resultados sugieren que existe presencia de la LPO en la leche Cruda, Great Valué y Santa Clara y en la leche Alpura, el resto de las muestras no presentaron indicios de esta.

2.2 Sólidos Totales presentes en las muestras de Leche

En la gráfica 1 muestra la masa en gramos de los sólidos totales obtenidos en cada muestra de leche ($V_{\text{inicial}} = 100 \text{ mL}$).



Gráfica 1. Sólidos totales de las seis marcas de leche.

3. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados se observa que la leche Cruda desarrollo el color salmón, siendo este indicativo de la presencia de la enzima LPO de forma natural como parte de los factores antimicrobianos y antivirales inespecíficos que deben caracterizar a la leche (FoodLab (2020), estos son importantes para el sistema de defensa conferidos al consumir leche, debido a que actúa sinérgicamente con anticuerpos específicos. En la leche la lactoferrina y lactoperoxidasa son los antimicrobianos inespecíficos dominantes y mejor estudiados *in vitro* (Hailu *et al.*, 2016).

Con respecto a la cantidad de sólidos totales, de acuerdo con el artículo “Factores que influyen el porcentaje de sólidos totales de la leche”, la leche posee del 85-90 % de agua y solo del 10-15% de sólidos totales. Los sólidos totales están directamente

relacionados con la composición química de la leche basada en el contenido de grasa (4.2%), proteínas (3.3%), lactosa (4.7%) y en menor proporción vitaminas y minerales (Castro, 2014; PROFECO, 2020b).

Son estos componentes los que determinan el valor de la leche, este mismo parámetro es estudiado bajo la Norma Oficial Mexicana (1982) en PROFECO, sin embargo, no se encontraron estudios actualizados en esta revisión durante los últimos 15 años.

La cantidad de sólidos totales en las diferentes marcas de leches ordenadas de mayor a menor es, LSC (9 g), LC (6.9 g), LA (6.5 g), LT (4.3 g), LG (3.5 g) y LA (3.5 g). Comprobamos que la leche Santa Clara (LSC) contiene la mayor cantidad de sólidos totales, sin embargo, no es la leche que presenta mayor presencia de LPO. La segunda leche con mayor cantidad de sólidos totales fue la leche Alpura (LAI) que tiene valores muy cercanos a la leche Cruda (LC) observando que los ST en esta leche procesada tampoco corresponde a una muestra que tenga la mayor intensidad de coloración por presencia de la LPO, por lo que los ST no son un buen indicador de calidad complementario a la LPO, como mencionamos anteriormente los ST son un valor que puede variar por los diferentes factores durante su procesamiento y el origen de la leche, a lo que la LPO es un mejor indicador de calidad (Forbes, 2019).

De acuerdo con la (NMX, 1982 y Saborio, 2011) el valor de los sólidos totales en leche es de 11.5 a 12.5 por ciento. Tomando como base este rango las seis muestras de leche se encuentran por debajo del valor normal.

Basados en el informe “Beneficios y riesgos potenciales del sistema de la lactoperoxidasa en la conservación de la leche cruda” de la FAO y la OMS (2005) y en los resultados obtenidos, podemos resumir las siguientes observaciones:

1. A pesar de que no fue posible identificar de forma cuantitativa la enzima LPO con la adición del sistema guayacol/H₂O₂ las muestras de leche evaluadas no presentan un riesgo toxicológico significativo para la salud pública.
2. Diversos estudios han determinado que la eficacia antibacteriana del sistema LPO tiene una correlación inversamente proporcional a la densidad de células bacterianas. Por lo que la calidad bacteriológica de la leche también depende de las buenas prácticas

higiénicas (RM, 1998). Se debe considerar que se ha reportado que las bacterias como *Escherichia coli* han desarrollado una mayor tolerancia al sistema LPO y a penicilinas (García y col, 1997; Van Hooijdonk *et al.*, 2000; Valbuena y col., 2004). Por lo que es requerido verificar la calidad bacteriológica de la leche actualizando los estudios realizados a la fecha.

En las muestras de leche se observaron diferencias en cuanto a la miscibilidad del guayacol, el cual se sabe es un aceite aromático. El guayacol es diluido por las partículas de grasa de la leche, al ser de naturaleza hidrofóbica, las moléculas de guayacol se unirán a la grasa. Por lo tanto, la miscibilidad del guayacol/peróxido de hidrógeno se favorece en las muestras con mayor concentración de glóbulos de grasa en la leche, en las muestras LG, LSC y LAI se observó una mayor miscibilidad, lo que sugiere una mayor cantidad de grasa en las muestras, y para las muestras LA y LT un menor contenido en grasas. Esta enzima es indicativa de calidad en leche por conservar su valor nutrimental, así como características inmunológicas importantes (Peralta y col., 2015; Ramírez, 2020).

Los resultados obtenidos con respecto a la LPO nos dicen que la leche procesada de mejor calidad es la leche marca Great Value (LG) y de la menor calidad es la leche Tamariz (LT). Estos resultados coinciden con lo reportado por PROFECO (Forbes, 2019) en la calidad de sus pruebas en otros estudios de leche como “suficiente” para salir a mercado. Este estudio indica que la calidad higiénica y nutricional del producto lácteo es importante y el no atender la evaluación periódica de los productos lácteos va en contra de la salud pública y economía de cualquier país.

CONCLUSIONES

La importancia de este método radica en usar una técnica alternativa viable, fácil y económica, que permita detectar la calidad de la leche en tiempos donde son poco accesibles los laboratorios, por ejemplo, en tiempos de pandemia, donde las restricciones a las técnicas instrumentales son limitadas. Con los resultados obtenidos podemos establecer que, si la prueba es lactoperoxidasa negativo, entonces la leche se sometió a procesos de sobrecalentamiento ($>77.8^{\circ}\text{C}$) y destrucción de la enzima peroxidasa durante la pasteurización. Perdiendo con esto, características de su estado

natural y, por lo tanto, su valor nutricional ha disminuido. La persistencia de la actividad lacto-peroxidasa en la leche pasteurizada proporciona una buena indicación de la calidad de un producto, ya que solo se puede poner una leche cruda de buena calidad microbiológica a través de un proceso de pasteurización suave para no inactivar esta enzima. A menudo son cualitativos (presente / no presente) y, por lo tanto, pueden indicar si se ha realizado el proceso térmico en la leche pasteurizada, permitiendo determinar la calidad nutricional de la leche. A mayor presencia de peroxidasa significa que la leche ha conservado sus características originales.

Finalmente, la cantidad de sólidos no representó ser un indicativo complementario de la detección de LPO para evaluar la calidad de la leche procesada.

REFERENCIAS

Borrego, J. T., de la Rosa, I. I., Navero, P. P., & Navero, J. L.P.(1998). Ingestión letal de peróxido de hidrógeno. Anales españoles de pediatría: Publicación oficial de la Asociación Española de Pediatría (AEP), 48(6): 647-649.

Carbone, GG, Serra, A., Buccolieri, A. y Manno, D.(2019). Sensor colorimétrico basado en nanopartículas de plata y poli (metacrilato de metilo) para la detección de peróxido de hidrógeno. Heliyon, 2019, 5 (11): e02887. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02887>.

Campos C., Cruz N, Gómez J. & Jiménez J. (2019). Evaluación de parámetros de calidad de diferentes marcas comerciales de leche y yogurt, y cambios durante el almacenamiento. Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSa. Publicación semestral. 14:32-38.

Castro Hernández H. (2014). Tesis de doctorado. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10223> [Internet].

Food and Agriculture Organization FAO (1991) Directrices para la conservación de la leche cruda mediante la aplicación del sistema de la lactoperoxidasa. Leche y productos lácteos (2ª ed).

Food and Agriculture Organization y Organización Mundial de la Salud (FAO y OMS) (2005) Beneficios y riesgos potenciales del sistema de la lactoperoxidasa en la conservación de la leche cruda. Informe de la reunión técnica de la FAO/OMS. Roma, Italia: Ediciones de la OMS. Consultado diciembre 2020.

FoodLab (2020). *Análisis de leche y productos lácteos: determinación de peroxidasa (Proteína de suero) en leche* [Internet]. <https://www.cdrfoodlab.es/alimentos-bebidas-analisis/peroxidasa-leche/> Recuperado 23 de noviembre de 2020.

Forbes, (2019). Estas 'leches' no son realmente leches, revela estudio de Profeco [Internet]. Sitio web: <https://www.forbes.com.mx/estas-leches-no-son-realmente-leches-revela-estudio-de-profeco/> Recuperado 23 de noviembre de 2020.

García Sánchez JE, Fresnadillo MJ, García García MI, Muñoz Bellido JL. (1997) Resistencia a los antimicrobianos que no inhiben la síntesis de la pared celular. En: Tratamiento Antimicrobiano. Madrid. Emisa. pp 35-50.

Hailu Y., Hansen E., Seifu E., Eshetu M., Ipsen R. y Kappeler S. (2016). Propiedades funcionales y tecnológicas de las proteínas de la leche de camello: una revisión. *Revista de investigación de productos lácteos*, 82(4): 422-429. doi: <https://doi.org/10.1017/S000711450000235X> . Consultado enero 2021.

Harmonía (2019). Guía de leches. Harmonia. Sitio web: <https://harmonia.la/cuerpo/alimentacion/sabes-si-la-leche-de-vaca-que-consumes-es-la-mejor-averiguelo-aqui> consultado 23 de febrero de 2021.

Manual Sobre el uso de la lactoperoxidasa en la manipulación y Conservación de la leche (2000). Servicio de Producción Animal Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN, Roma. ISBN 92-5-304254-0 pp 1-2.

Mendoza, R. & Herrera, A. O. (2012). Cinética de Inactivación de la Enzima Peroxidasa, Color y Textura en Papa Criolla (*Solanum tuberosum* Grupo phureja) sometida a tres Condiciones de Escaldado. *Información tecnológica*, 23(4), 73-82. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000400009> Consultado 06 diciembre 2020.

National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 100957511, Tetraguaiacol. Consultado 13/09, 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tetraquaiacol>.

Nicholson, L. B. (2016) "The immune system." *Essays in biochemistry* 60, 3: 275-301. In Jawahar Swaminathan and MSD staff at the European Bioinformatics. <https://doi.org/10.1042/EBC20160017>.

Norma Mexicana (1982). NMX-F-426-1982, Productos alimenticios para uso humano. Determinación de sólidos totales en leche fluida 1982.

Norma Oficial Mexicana (2002) NOM-184-SSA1-2002, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.

Peralta, F., Maldonado, E., y Centeno, M. (2015). Práctica 6.15. Presencia de peróxido de hidrógeno en leches (cualitativo). Manual de prácticas de los laboratorios de alimentos [Internet]. http://www.archivos.ujat.mx/2015/div_rios/MP-DAMR-LIN-R01.pdf.

Procuraduría Federal del Consumidor PROFECO, (2010) Estudio de calidad: leches, fórmulas lácteas y productos lácteos de 200 a 310 ml. 2010; (28-44) consultado diciembre 2020.

Procuraduría Federal del Consumidor PROFECO, (2014). Productos y servicios. Leches, fórmulas lácteas y productos lácteos combinados. pp 18-19 consultado diciembre 2020.

Procuraduría Federal del Consumidor PROFECO (2020)a. Estudio de calidad: leche en polvo y productos lácteos combinados en polvo. [Internet] 2018 (28-39) consultado 05 diciembre 2020. Procuraduría Federal del Consumidor PROFECO (2020)b. Estudios de calidad. Gobierno de México. [Internet]. Sitio web: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/estudios-de-calidad-2020?state=published>.

Ramírez, C. (2020). Estudio Experimental de la Desactivación de la Enzima Peroxidasa Durante el Proceso de Escaldado de Papas (*Solanum tuberosum*) y el Almacenamiento a -18°C. Noviembre 07, 2020, de UACH Sitio web: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/far173e/doc/far173e.pdf> consultado 02 febrero 2021.

Rentería, D.(2016) Efecto de algunos inhibidores sobre la fermentación láctica. Manual de prácticas de aseguramiento de la calidad de los productos pecuarios. <https://www.uv.mx/pozarica/cba/files/2017/09/5-Manual-de-practicas-de-aseguramiento-I.pdf>.

Rivas Montes J., Baltasar Arenas M., Moreno Molina V., Sánchez L., Figueroa-García (2021) Determinación de actividad peroxidasa en extractos crudos de diferentes vegetales. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería [Internet] Disponible https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_I/Carteles/CI-16.pdf Consultado 23 de febrero de 2021.

RM, D. P. (1998) Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 22, 57-67.

Saborio A. (2011) Factores que influyen el porcentaje de sólidos totales de la leche, Costa Rica. *Revista Ecag*, 56:(70-76). Disponible en: http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/Publicaciones/articulo_ecag_solidos_revista_56.pdf.

Taticuán, J., & Eugenia, S. (2015). Determinación del tiempo de eliminación del peróxido de hidrógeno en leche cruda, en 5 concentraciones, en el laboratorio de control de calidad de leches de Agrocalidad." (Bachelor's thesis, Quito: UCE). <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10223>.

Trejo E. (2019) Incrementar la productividad lechera en México. *El economista* [Internet]. <https://www.economista.com.mx/opinion/Incrementar-la-productividad-lechera-en-Mexico-I-20191118-0047.html> Consultado 22 noviembre 2020.

Van Hooijdonk, AC, Kussendrager, KD y Steijns, JM. (2000) Actividad antimicrobiana y antiviral in vivo de componentes en leche bovina y calostro implicados en defensa inespecífica. *British Journal of Nutrition*. 84 (S1):127-134.

Valbuena, E., Castro, G., Lima, K., Acosta, W., Bríñez, W. & Tovar, A. (2004) Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica*, XIV (1). [Internet] 2004 ISSN: 0798-2259. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=959/95911219009>.