

Artículo Revisión / Review Article

Efectos fisiológicos de los péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero en la salud: Una revisión

Physiological health effects of whey protein-derived bioactive peptides: A review

RESUMEN

El lactosuero es un subproducto derivado de la elaboración de queso. La calidad de la composición química de las proteínas del lactosuero las convierte en un sustrato ideal para la generación de péptidos con actividad biológica. La presente revisión tiene por objetivo analizar y discutir los efectos fisiológicos de los péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero (PBDL) en la salud. Asimismo, este trabajo muestra detalladamente las estructuras químicas de las secuencias de los PBDL capaces de ejercer efectos favorables *in vitro* e *in vivo* e influir positivamente en los sistemas cardiovascular, endócrino e inmunológico. Sin embargo, las metodologías para generar PBDL de manera controlada, la dosificación y las concentraciones óptimas han sido poco exploradas. Por lo que es importante llevar a cabo investigación de frontera que permita avanzar el umbral del conocimiento vislumbrando la posibilidad de utilizar los PBDL como coadyuvantes en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Palabras clave: Beneficios a la salud; Péptidos bioactivos; Proteínas derivadas del lactosuero.

ABSTRACT

Whey is a by-product of cheese production. The relevant chemical composition of whey proteins makes them an ideal substrate to release peptides with biological activity. The objective of this manuscript was to analyze and discuss the effects of whey-derived proteins bioactive peptides in health. Moreover, this review shows in detail sequences able to benefit human systems. Several *in vitro* and *in vivo* studies showed the capacity of these bioactive peptides to positively influence cardiovascular, endocrine and immune systems. However, the methodologies to obtain them in a controlled way, as well as dose and optimum concentrations have been scarcely explored. Therefore, it is necessary to conduct new research to improve knowledge that focuses on the possibility of using whey-derived bioactive peptides in the prevention and treatment of diseases.

Keywords: Bioactive peptides; Health benefits; Whey-derived proteins.

Ana Luisa Herrera-Ponce¹, Alma Delia Alarcón-Rojo¹, Iván Salmeron², José Carlos Rodríguez-Figueroa³.

1. Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chihuahua, México.
2. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chihuahua, México.
3. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.

Dirigir correspondencia a: Dr. José Carlos Rodríguez Figueroa. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n. Col. Centro. Hermosillo, Sonora, México. Tel.: 614 24 36 003. Email: jose.rodriguez@unison.mx

Este trabajo fue recibido el 04 de abril de 2018.
Aceptado con modificaciones: 27 de julio de 2018.
Aceptado para ser publicado: 11 de noviembre de 2018.

INTRODUCCIÓN

El lactosuero es un subproducto generado durante la elaboración de queso. Este contiene los componentes químicos hidrofílicos de la leche¹. En general, 1 kg de queso se produce a partir de 10 litros de leche, lo que genera 9 litros de lactosuero. Por otro lado, el consumo de queso va en aumento, por lo que se estima un incremento de 130 millones de toneladas de lactosuero por año^{2,3}.

El lactosuero se caracteriza por la calidad de los componentes químicos que lo conforman. Este subproducto está constituido por agua (93%, v/v), lactosa (4.5–5%, p/v), proteína (0.6-0.8%, p/v), lípidos (0.4-0.5%, p/v) y minerales (8–10% extracto seco)⁴, tales como calcio, magnesio, sodio, potasio, fosfato, citrato y cloruro⁵.

Las proteínas del lactosuero juegan un papel importante en la nutrición, funcionalidad y actividad biológica^{1,5}. El perfil proteico se muestra en la tabla 1. Estudios previos han reportado que las proteínas séricas presentan el mayor valor biológico⁶. Estas poseen péptidos encriptados que podrían ser liberados a través de procesos fermentativos⁷ o utilizando enzimas propias de la digestión natural o comerciales⁸. La especificidad de la relación enzimas-proteínas del lactosuero condiciona factores tales como composición, hidrofobicidad del C-terminal, masa molecular y orden de los aminoácidos en las secuencias peptídicas⁸, lo que impacta en la actividad biológica⁹. La interacción de estos factores puede generar péptidos inmunomoduladores, antihipertensivos, hipolipidémicos, antimicrobianos, antidiabéticos, anticarcinogénicos y antioxidantes, entre otros^{10,11} capaces de beneficiar la funcionalidad de los sistemas cardiovascular, endócrino e inmunológico¹⁰.

El presente trabajo tiene por objetivo analizar y discutir los efectos fisiológicos de los péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero en la salud, así como explorar las características de las estructuras químicas de las secuencias peptídicas asociadas a las actividades biológicas.

Las bases de datos de Elsevier, Springer, Wiley, Pubmed-NCBI, Scielo y Nature fueron consultadas para la elaboración de esta revisión. Los términos de búsqueda incluyeron: "whey peptides, angiotensin I-converting enzyme, antioxidant peptides, bioactive peptides sequences, cheese whey, antihypertensive activity, dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, type 2 diabetes, immune function and whey protein hydrolysate". Se seleccionaron los artículos publicados en inglés y español durante los años 1997 y 2018.

Sistema cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial¹². Un tercio de la población mundial padece hipertensión arterial¹³. En la actualidad, para controlar esta enfermedad se prescriben fármacos tales como captopril,

enalapril, lisinopril y alacepril. Sin embargo, se ha demostrado que la medicación a largo plazo puede tener efectos secundarios adversos¹⁰. Por lo que es importante explorar alternativas innovadoras que permitan mitigar este padecimiento¹⁴.

En los últimos años se ha estudiado el efecto de los péptidos en la salud. Los péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero (PBDL) han demostrado influir positivamente sobre el sistema cardiovascular¹⁵. Estos han mostrado actividades hipocolesterolémica, antitrombótica, antioxidante y antihipertensiva¹⁶, por lo que su empleo podría coadyuvar en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Además, se ha reportado que los péptidos bioactivos de origen natural tienen alta afinidad por tejidos celulares por lo que son lentamente eliminados lo que les confiere mayor efecto antihipertensivo que las sustancias sintéticas¹⁷.

Uno de los principales mecanismos que regulan la presión arterial es el Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. En donde la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) hidroliza la angiotensina I en angiotensina II, la cual es un potente vasoconstrictor que incrementa la presión arterial¹⁸. En consecuencia, esta reacción produce la inactivación de la bradiquinina, que es un péptido vasodilatador¹¹. Estudios previos han reportado la capacidad de los PBDL para inhibir competitivamente la actividad de la ECA, impidiendo así la liberación de angiotensina II y con ello vasodilatar el sistema. Cabe señalar que estos péptidos también pueden disminuir la alta presión arterial a través de otros mecanismos tales como la inhibición de la enzima convertidora de la endotelina, regulación inducida por efecto opiode, inhibición de la renina, inmunomodulación y antioxidación¹⁹.

La efectividad antihipertensiva de las secuencias de los PBDL está asociada a las características estructurales. En general, estos se constituyen por 2-20 aminoácidos¹¹, peso molecular (PM) menor a 3 kDa²⁰ e incluyen residuos hidrofóbicos y con carga positiva en el C-terminal²¹. El efecto *in vivo* e *in vitro* de estas secuencias sobre el sistema cardiovascular se muestra en las tablas 2 y 3. Estas muestran el origen de la fracción proteica

Tabla 1. Perfil proteico del lactosuero.

Proteína	Concentración (mg/L)	Peso molecular (kDa)	Cantidad de aminoácidos ⁴⁹
β-lactoglobulina	1300 ⁴⁹	18,277 ⁵⁰	162
α-lactoalbúmina	1200 ⁵⁰	14,175 ⁴⁹	123
Seroalbúmina	400 ⁴⁹	66,267 ⁴⁹	582
Inmunoglobulinas	300-600 ⁴⁸	25,000 – 50,000 ⁴⁹	N R
Lactoferrina	50-70 ⁴⁸	80,000 ⁴⁹	700
Lactoperoxidasa	8-20 ⁴⁸	70,000 ⁴⁹	612
Glicomacropéptido	1200 ⁵⁰	6700 ⁴⁹	64
Factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF I)	<0.001 ⁴⁸		
	N R	N R	
Factor de crecimiento insulínico tipo 2 (IGF II)	<0.001 ⁴⁸	N R	N R
Factor de crecimiento transformante beta (TGF-β)	<0.01 ⁴⁸	N R	N R
Betacelulosa	<0.002 ⁴⁸	N R	N R

N R= No reportado. (48= Simthers, 2008, 49= Eigel et al., 1984, 50= Brew et al., 1970)

del lactosuero, la enzima hidrolítica, así como la secuencia peptídica liberada asociada al mecanismo de acción y a la magnitud en la que ejerce la bioactividad.

Hasta el momento, las secuencias peptídicas constituidas principalmente por aminoácidos hidrofóbicos IPA e YGLF han generado la máxima reducción de la presión arterial sistólica, 31²² y 23²³ mm Hg, respectivamente (Tabla 2). Cabe señalar que ambas secuencias se derivaron de la fracción α -lactoalbúmina. Por otro lado, se demostró que la presión arterial sistólica y diastólica no fue diferente significativamente entre los animales que ingirieron fracciones proteicas de leche fermentada con *L. lactis* NRRL B-5057 y captopril durante 2 semanas²⁰. Asimismo, estudios *in vitro* demostraron que el péptido GYGGVSLPEW proveniente de la fracción α -lactoalbúmina, fue el que presentó la mayor capacidad para inhibir la actividad de la ECA (Tabla 3). Sin embargo, es necesario llevar a cabo ensayos *in vivo* que permitan establecer la magnitud de su potencial antihipertensivo.

Otra de las actividades biológicas que impactan positivamente al sistema cardiovascular es la hipocolesterolemia. La suplementación con proteína de lactosuero hidrolizada aumentó el colesterol de alta densidad en un modelo murino. De igual forma, los péptidos HIRL (f146-149) o β -lactotensina e IIAEK (f71-75) o lactostatina, ambos derivados de la β -lactoglobulina, disminuyeron los niveles de colesterol sérico y aumentaron la cantidad de colesterol de alta densidad en ratas²⁴. También se ha reportado que este último péptido induce la transcripción de la enzima colesterol 7- α -hidroxilasa (CYP7A1), lo que genera un efecto hipocolesterolemico por la estimulación de la secreción de ácido biliar²⁵.

Sistema endócrino

La diabetes tipo 2 es una enfermedad constituida por un desorden crónico metabólico. Esta se caracteriza por la resistencia y la disminución de los niveles de insulina¹¹,

la cual es la más prevalente y está considerada como un problema de salud pública a nivel mundial. En el año 2000 se estimó que había 171 millones de diabéticos en el mundo, sin embargo, esta cifra podría alcanzar los 366 millones para el año 2030²⁶.

En los últimos años se ha encontrado que la ingesta de proteínas de lactosuero ejerce un efecto fisiológico benéfico en el control del metabolismo de la glucosa. Estudios han reportado propiedades insulínótropicas y reductoras de glucosa de las proteínas del lactosuero en sujetos sanos y con diabetes tipo 2. Las proteínas del lactosuero al parecer actúan vía aminoácidos y PBDL una vez liberados tras la digestión gastrointestinal. Estos últimos estimulan la liberación de diversas hormonas gastrointestinales tales como colecistoquinina, péptido YY, péptidos inhibidores de las incretinas gástricas y el péptido similar al glucagón tipo 1, lo que potencializa la secreción de insulina a partir de las células β ²⁷.

Otra importante estrategia terapéutica en el tratamiento de la diabetes tipo 2 es la inhibición de la dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV). Investigaciones previas han demostrado que estos péptidos bioactivos podrían ser utilizados por presentar capacidad inhibitoria endógena de la actividad de la enzima DPP-IV en el tracto gastrointestinal, previniendo la degradación de las incretinas insulínótropicas GLP-1 y GIP^{27, 28}.

Diversas investigaciones *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad de los péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero para reducir los niveles de glucosa. Hasta el momento no se conoce con exactitud el mecanismo de acción que se ejerce sobre la actividad enzimática de la DPP-IV. Sin embargo, las características estructurales juegan un papel clave en la inhibición de esta enzima¹¹. Estos péptidos bioactivos presentan un PM < 2 kDa²⁷, poseen grupos hidrofóbicos e incluyen prolina, alanina, leucina y valina en la segunda posición del grupo amino terminal²⁸. Los

Tabla 2. PBDL evaluados *in vivo* con influencia en el sistema cardiovascular.

Proteína	Enzima	Fragmento peptídico	Secuencia de aminoácidos	Masa (Da)	IC ₅₀ (μ M)	Disminución de presión (mm Hg)		Referencia
						PS	PD	
β -lactoglobulina bovina	Termolisina	103-105	LLF	392	79.8	20.0	N R	51
	Proteinasa K	78-80	IPA	300	N R	31.0	N R	22
α -lactoalbúmina bovina	Pepsina y tripsina	50-53	YGLF	N R	126.0	23.0	17.0	23, 52
Lactosuero	Bacterias ácido lácticas y flavorizima	N R	YPYY	N R	90.9	15.9	15.6	53

PBDL= Péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero

WPDBP= Whey protein-derived bioactive peptide

PS= Presión arterial sistólica

PD= Presión arterial diastólica

N R= No reportado

IC₅₀= Concentración peptídica necesaria para inhibir la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) en un 50%.

Tabla 3. PBDL evaluados *in vitro* con influencia en el sistema cardiovascular.

Proteína	Enzima	Fragmento peptídico	Secuencia de aminoácidos	Masa (Da)	Fundamento	IC ₅₀ (µM)	Referencia
β-lactoglobulina bovina	Tripsina	142-148	ALPMHIR	837		42.6	54
β-lactoglobulina bovina	Pepsina y Corolasa PP®	11-14 40-42 76-80 77-80 78-83 96-100 122-124 146-148	DIQK RVY TKIPA KIPA IPAVFK DTDYK LVR HIR	502 436 528 427 674 640 386 424	IECA	580 205.6 141 141 1029 946 14 42.6	55
β-lactoglobulina bovina	Proteasas (<i>Lactobacillus helveticus</i> LB10)	148-153	RLSFNP	N R	IECA	177.4	56
β-lactoglobulina bovina	Tripsina	15-20 139-141 9-14 125-135 78-83	VAGTWY ALK GLDIQK TPEVDDEALEK IPAVFK	700 331 673 1240 674	IECA	1682.0 >1000 580.0 >1000 144.8	46
β-lactoglobulina bovina	Termoasa, Accelerzyme® CPG, Peptidasa R y ProteAX	10-19 12-19 95-99 140-147 149-155	LDIQKVAGTW IQKVAGTW LDTDY LKALPMH LSFNPTQ	N R N R N R N R N R	IECA	21.0 51 121 11 106	57
β-lactoglobulina bovina	Corolasa PP®	24-26 15-18	MAA VAGT	292 347	IECA	515.5 610	58
β-lactoglobulina caprina	Termolisina	46-53 122-125 103-105 58-31	LKPTPEGN LVRT LLF LQKW	854 488 392 573	IECA	>2700 2470 79.8 34.7	59
β-lactoglobulina caprina	Pepsina	113-122	PEQSLACQCL	N R	IECA	4.5	15
β-lactoglobulina ovina	Tripsina	1-8 71-77 84-91 92-100 (61-69) S-S(149-162) (61-70) S-S(149-162) 21-40 41-60 102-124 71-75	IIVTQTMK IIAEKTK IDALNENK VLVLDTDYK WENGCEAEK (S-S) LAFNPTQLNGECHV WENGCEAEKK (S-S) LAFNPTQLNGECHV SLAMAASDISLLDAQSAPLR VYVEELKPTPEGNLEILLQK YLLFCMENSAPPEQSLACQCLVR IIAEKb	933 803 916 1064 2618 2748 2030 2311 2648 574	IECA	70.8 67.6 71.2 56.4 56.5 56.5 50.7 50.7 43.6 67.6	60
α-lactoalbúmina bovina	Termoasa PC10F, Peptidasa R, ProteAX y Accelerzyme® CGP	17-26 104-110	GYGGVSLPEW WLAHKAL	N R	IECA	57	
α-lactoalbúmina caprina	Proteasas (<i>Candida parapsilosis</i> y <i>Lactobacillus paracasei</i>)	104-108 17-26	WLAHK GYGGVSLPEW	IECA IECA		N R 2.0	61
Lactoferrina bovina	Pepsina y tripsina	130-135 186-192	GILRPY REPYFGY	717 930	IECE	52.0 40.0	62

PBDL= Péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero. WPDDBP= Whey protein-derived bioactive peptide. IC₅₀= Concentración peptídica necesaria para inhibir la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) en un 50%. N R= No reportado. *IC₅₀= µg/ml. *También posee la capacidad de supresión de la absorción de colesterol IECA= Inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina. IECE= Inhibición de la enzima convertidora de endotelina (ECE) expresado como porcentaje.

PBDL que inhiben la actividad de la DPP-IV se muestran en el Tabla 4. La máxima capacidad inhibitoria reportada es de 86% y 73%, la cual está asociada a las secuencias NLEILR y

LKPTPEGDL, respectivamente (Tabla 4). Ambas secuencias peptídicas fueron producto de la hidrólisis de la fracción β -lactoglobulina con papaína y pepsina, respectivamente.

Tabla 4. PBDL evaluados *in vitro* con influencia en el sistema endócrino^a.

Proteína	Enzima	Fragmento peptídico	Secuencia de aminoácidos	Masa (Da)	Inhibición (%)	IC ₅₀ (μ M)	Referencia
β -lactoglobulina bovina	Tripsina	78-82	IPAVF	540	50	44.7	63
		125-135	TPEVDDEALEK	1240	50	319.5	
		78-83	IPAVFK	670	50	143	
		92-100	VLVLDTDYK	1060	50	424.4	
β -lactoglobulina bovina	Pepsina	78-86	IPAVFKIDA	973	38	191	28
		46-57	LKPTPEGDLLEIL	1325	67	57	
		46-54	LKPTPEGDL	969	73	45	14
		1-9	LIVTQTMKG	990	10	N R	
		1-11	LIVTQTMKGLD	1219	9	N R	
		1-13	LIVTQTMKGLDIQ	1460	8	N R	
		2-11	IVTQTMKGLD	1105	22	N R	
		2-13	IVTQTMKGLDIQ	1347	20	N R	
		41-53	ELKPTPEGD	985	3	N R	
		123-130	VRTPEVDD	930	20	N R	
β -lactoglobulina bovina	Tripsina	71-75	IIAEK	574	50	>1000	46
		9-14	GLDIQK	673	50	>1000	
		125-135	TPEVDDEALEK	1240	50	578.7	
		142-148	ALPMHIR	837	50	>1000	
		78-83	IPAVFK	670	50	149.1	
		139-141	ALK	331	50	>1000	
β -lactoglobulina bovina	Papaína	71-77	NLEILR	870	86	N R	64
		143-155	TQMVDEEIMEKFR	1,656	70	N R	
β -lactoglobulina bovina	Termoasa Peptidasa, ProteAX y Accelerzima®	46-55	LKPTPEGDL	N R	N R	42	57
		46-57	LKPTPEGDLLEIL	N R	N R	57	
		94-99	VLDTDY	N R	N R	471	
		140-147	LKALPMH	N R	N R	193	
α -lactoalbúmina bovina	Pepsina	104-117	WLAHKALCSEKLDQ	1642	44	141	28
		105-115	LAHKALCSEKL	1212	41	165	
		105-117	LAHKALCSEKLDQ	1455	22	N R	
		104-117	AHKALCSEKLDQ	1342	9	N R	
		106-117	KALCSEKLDQ	1134	14	N R	
		107-117	ALCSEKLDQ	1006	9	N R	
		110-117	LCSEKLDQ	935	46	186	
		4-9	TKCEVF	725	23	N R	
		4-11	TKCEVFRE	1011	41	166	
		10-18	RELKDLKGY	1121	2	N R	
		10-19	RELKDLKGYG	1178	3	N R	
		10-20	RELKDLKGYGG	1235	9	N R	
		10-23	RELKDLKGYGGVSL	1535	11	N R	
		N R	TFHTSGYDTQA	1227	6	N R	
		40-49	AIVQNNNDSTE	1090	5	N R	
		41-49	IVQNNNDSTE	1019	13	N R	
		41-50	IVQNNNDSTEY	1182	23	N R	
		95-103	ILDKVGINY	1034	34	263	
		41-53	IVQNNNDSTEYGLF	1500	37	337	
		10-22	RELKDLKGYGGVS	1422	7	N R	
α -lactoalbúmina bovina	Termoasa PC10F, Peptidasa R, ProteAX y Accelerzima® CGP	12-25	LKGYGGVSLPE	N R	N R	486	57

^aPBDL inhibidores de la enzima dipeptil peptidasa-IV. PBDL= Péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero. WPDBP= Whey protein-derived bioactive peptide
N R= No reportado.

Sistema inmunológico

Los PBDL han demostrado efectos inmunomoduladores tanto a nivel de la respuesta inmune adaptativa como innata. Algunos ejemplos incluyen activación y proliferación de linfocitos, regulación de citoquinas, incremento de la síntesis de anticuerpos, aumento de la habilidad fagocítica de los macrófagos y estimulación de la generación de inmunoglobulinas^{29,30}. El mecanismo de acción aún no ha sido dilucidado del todo, sin embargo se ha reportado que estos efectos podrían establecerse a nivel molecular a través de enlaces químicos entre los péptidos y los receptores de la superficie de las células del sistema inmunológico³¹.

La capacidad inmunomoduladora de los PBDL está en función de la estructura química. Aminoácidos, secuencia, longitud, carga, hidrofobicidad y estructura molecular del péptido definen esta capacidad. En general, los péptidos inmunomoduladores presentan 2-10 aminoácidos y naturaleza hidrofóbica³⁰.

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la efectividad de los PBDL en el sistema inmunológico. Por ejemplo, Tang et al. (2009) incrementaron los niveles de IgA, IgG e IgM en cerdos tras la suplementación de la dieta con lactoferrina y lactoferrampina mejorando así la función inmune e intestinal³². Además, la lactoferrina ha mostrado capacidad para bloquear la actividad de la interleucina-6 (IL-6), citoquina relacionada con los procesos inflamatorios de la artritis reumatoide³³. Saint-Sauveur et al. (2009) reportaron el aumento de la cantidad de IgA en ratones que fueron alimentados por 7 días con fracciones peptídicas del lactosuero induciendo la producción de interleucina-2 (IL-2) e interferón gama (IFN γ) que generan la activación de monocitos y neutrófilos³⁴. Asimismo, se ha reportado que los PBDL mejoran la proliferación de linfocitos⁷, inhiben la liberación de la citoquina pro-inflamatoria IL-8³⁵ y la cantidad de especies reactivas de oxígeno en ratones²⁹. Es importante señalar que los péptidos DIQKVAGTWYSLAMAASDIS (f11-30) y AMAASDISLLDAQSAPL (f23-39) indujeron la proliferación de células T³⁶.

Adicionalmente, la capacidad antioxidante de los PBDL ha demostrado influir positivamente en la función inmunológica³⁷. Estudios *in vivo* han demostrado que la administración de hidrolizados del lactosuero aumentó los niveles de la enzima superóxido dismutasa (SOD), que inhibe radicales libres y aniones superóxidos³⁸.

La principal relevancia de estos péptidos reside en la capacidad para reducir el estrés oxidativo, lo cual está relacionado con el envejecimiento y daño celular³⁹. Existen diferentes mecanismos mediante los cuales se ejerce la capacidad antioxidante. Estos incluyen quelación de iones metálicos pro-oxidantes⁴⁰, captación de radicales libres, inhibición de la peroxidación de lípidos, inactivación de especies reactivas de oxígeno, así como la combinación de éstas³⁹. Los péptidos con gran capacidad antioxidante se han caracterizado por presentar una masa molecular menor a 3 kDa⁴¹, por lo que el tamaño y la composición de los aminoácidos que conforman las secuencias peptídicas

juegan un papel importante^{42,43}. En este sentido, aminoácidos tales como fenilalanina, tirosina, triptófano e histidina actúan como queladores de iones metálicos; lisina dona átomos de hidrógeno y cisteína secuestra radicales libres⁴⁴.

Las secuencias peptídicas derivadas de las fracciones proteicas del lactosuero con mayor efecto en el sistema inmunológico se muestran en la Tabla 5. Estas presentan un IC₅₀ (concentración peptídica necesaria para inhibir la actividad oxidante en un 50%) < 1 μ M, provienen de la β -lactoglobulina, han sido liberadas por las enzimas corolasa PP⁴⁵ y tripsina⁴⁶ y están conformadas principalmente por aminoácidos hidrofóbicos, i.e. GLDIQK e IPAVFK.

Los PBDL también influyen en el sistema inmunológico mediante la actividad antimicrobiana⁴⁷. En general, estos péptidos tienen una masa molecular <10 kDa, punto isoeléctrico mayor de 10 y están compuestos por aminoácidos básicos, alifáticos y polares^{1,9}. El mecanismo de acción de los péptidos con actividad antimicrobiana está basado en interacciones electrostáticas. La carga positiva de estos péptidos reacciona con la carga negativa de la membrana celular. Esto bloquea los sitios específicos en la interacción con calcio y magnesio, responsables de la integridad de la membrana, y forma poros que causan la pérdida de metabolitos y aumenta la permeabilidad a moléculas tóxicas con la consecuente muerte celular⁴⁷.

Los hidrolizados de lactoferrina con pepsina han mostrado ejercer actividades biológicas. Las actividades antimicrobianas, antifúngica y una débil actividad antiviral representan las más importantes. Estas propiedades se deben a que forman estructuras anfipáticas⁴⁸. Asimismo, se ha demostrado que los péptidos derivados de la hidrólisis del glicomacropéptido, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas⁷.

CONCLUSIONES

Los PBDL presentan relevantes efectos fisiológicos benéficos en la salud favoreciendo la función de los sistemas cardiovascular, endócrino e inmunológico. Las estructuras químicas de las secuencias peptídicas representan un punto clave en la ejecución de la bioactividad. Estas últimas están íntimamente relacionadas con la fracción proteica del lactosuero y la especificidad enzimática. Hoy en día los avances tecnológicos han permitido generar e identificar una amplia gama de secuencias peptídicas derivadas de las proteínas del lactosuero capaces de ejercer diversas funcionalidades. Sin embargo, las metodologías para liberarlos de manera controlada, la dosificación y las concentraciones óptimas han sido poco exploradas. Por lo que es importante llevar a cabo investigación de frontera que permita avanzar el umbral del conocimiento que permita el uso de los PBDL como coadyuvantes en la prevención y tratamiento de enfermedades de nuestros tiempos.

Agradecimientos. Los autores agradecen el financiamiento otorgado por CONACYT a través del Fondo Sectorial correspondiente al proyecto 258483 para la realización de este trabajo.

Tabla 5. PBDL evaluados *in vitro* con influencia en el sistema inmunológico.

Proteína	Enzima	Fracción peptídica	Secuencia de aminoácidos	Masa (Da)	Fundamento	IC ₅₀ (µM) o cepa evaluada	Referencia
β-lactoglobulina bovina	Corolasa PP®	19-29 145-149 42-46	WYSLAMAASDI MHIRL YVEELb	1225 667 650	Antioxidante	2.6ª 0.3ª 0.8ª	45
β-lactoglobulina bovina	Termolisina	58-61 95-101 151-155	LQKW LDTDYKK FNPTQ	573 881 605	Antioxidante	N R N R N R	16, 65
β-lactoglobulina bovina	Alcalasa	19-22 N R N R 81-82 20-22 N R 104-105	WYSL AHLW GTSV VF YSL LAHL LF	567 525 362 265 381 452 278	Antioxidante	84.8 74.0 31.5 19.7 48.2 63.0 19.9	66
β-lactoglobulina bovina	Flavorzima	92-100 84-91	VLVLDTDYK IDALNEK	1066 915	Antioxidante	N R N R	39
β-lactoglobulina bovina	Alcalasa	146-150 75-82 24-32	HIRLS KTKIPAVF MAASDISLL	624 903 936	Antioxidante	N R N R N R	39
β-lactoglobulina bovina	Corolasa	43-49 43-51	VEELKPT VEELKPTPE	815 1041	Antioxidante	N R N R	39
β-lactoglobulina bovina	Tripsina	15-20 139-141 71-75 9-14 125-135 142-148 78-83	VAGTWY ALK IIAEK GLDIQK TPEVDDEALEK ALPMHIR IPAVFK	700. 331 574 673 1240 837 674	Antioxidante	5.6 a 0.01 a 0.02 a 0.02 a 0.004 a 0.04 a 0.002 a	46
β-lactoglobulina ovina	Proteasa de Bacillus sp. P7	142-149	LAFNPTQLEGQCHV	N R	Antioxidante	74.4	67
α-lactoalbúmina bovina	Flavorzima	99-108	VGINYWLAHK	1201	Antioxidante	N R	39
β-lactoglobulina bovina	Tripsina	15-20 25-40 78-83 92-100	VAGTWY AASDISLLDAQSAPLR IPAVFK VLVLDTDYK	700 1630 670 1060	Antimicrobiano	Bacterias G +	68
β-lactoglobulina bovina	Tripsina y quimotripsina	36-42	SAPLRVY	805	Antimicrobiano	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	69
β-lactoglobulina bovina	Pepsina	14-18 147-149 123-125 143-146 134-136 50-54	KVAGT IRL VRT LMPH EKF PEGDL	475 401 375 497 423 530	Antimicrobiano	Bacterias G+ Bacterias G-	8
β-lactoglobulina caprina	Proteasas digestivas humanas	1-8 9-18 21-32 33-39 43-55 71-82 92-100 125-134 139-147	IIVTQTMK GLDIQKVAGT SLAMAASDISLL DAQSAPL VEELKPTPEGDLE IIAEKTKIPAVF VLVLDTDYK TPEVDDEALE ALKALPMHI	933 N R N R N R N R N R 1064 N R N R	Antimicrobiano	<i>E. coli</i>	71

... continuación Tabla 5.

Proteína	Enzima	Fracción peptídica	Secuencia de aminoácidos	Masa (Da)	Fundamento	IC ₅₀ (µM) o cepa evaluada	Referencia
α- lactoalbúmina bovina	Tripsina	1-5 (17-31)S- S(109-114)	EQLTK GYGGVSLPEWVCTTF	620 2250	Antimicrobiano	Bacterias G+ y G-	71
	Quimotripsina	(61-68)S- S(75-80)	ALCSEK CKDDQNP HISCDFK	1650	Antimicrobiano	Bacterias G+ y G-	72
α- lactoalbúmina bovina	Pepsina	117-121	KVGIN	530	Antimicrobiano	<i>L. ivanovii</i>	8
Glicomacro-péptido caprino	Proteasas digestivas humanas	106-124	N R	N R	Antimicrobiano	<i>E.coli</i> y <i>B. cereus</i>	70
		109-121	N R	N R			
		126-133	N R	N R			
		130-139	N R	N R			
		141-153	N R	N R			

PBDL= Péptidos bioactivos derivados de las proteínas del lactosuero

WPDBP= Whey protein-derived bioactive peptide

^a µM equivalentes Trolox /mg de péptido^b También presenta actividad osteoblástica

N R= No reportado

IC₅₀= Concentración peptídica necesaria para inhibir la actividad oxidante en un 50%.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smithers GW. Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. *Int Dairy J* 2015; 48: 2-14.
2. OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2013*, OECD Publishing. http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2013en
3. Prazeres AR, Carvalho F, Rivas J. Cheese whey management: A review. *J Environ Manage* 2012; 110: 48-68.
4. Jeličić I, Božanić R., Tratnik Lj. Whey based beverages-a new generation of dairy products. *Mljekarstvo* 2008; 58(3): 257-274.
5. Nishanthi M, Vasiljevic T, Chandrapala J. Properties of whey proteins obtained from different whey streams. *Int Dairy J* 2017; 66:76-83.
6. Wijayanti HB, Bansal N, Deeth HC. Stability of Whey Proteins during thermal processing: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2014; 13: 1235-51.
7. Alvarado Carrasco C, Guerra M. Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *An venez nutr* 2010; 23(1): 45-50.
8. Théolier J, Hammami R, Labelle P, Fliss I, Jean J. Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate. *J Funct Foods* 2013; 5: 706-14.
9. Esmailpour M, Ehsani MR, Aminlari M, Shekarforoush S, Hoseini E. Antimicrobial peptides derived from goat's milk whey proteins obtained by enzymatic hydrolysis. *J -Food Biosci Technol* 2017; 7(1): 65-72.
10. Adjonu R, Doran G, Torley P, Agboola S. Screening of whey protein isolate hydrolysates for their dual functionality: Influence of heat pre-treatment and enzyme specificity. *Food Chem* 2013; 136(3-4): 1435-1443.
11. Brandelli A, Daroit DJ, Corrêa APF. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Res Int* 2015; 73: 149-161.
12. World Health Organization. The top 10 causes of death. 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
13. Onuh JO, Girgih AT, Malomo S, Aluko RE, Aliani M. Kinetics of in vitro renin and angiotensin converting enzyme inhibition by chicken skin protein hydrolysates and their blood pressure lowering effects in spontaneously hypertensive rats. *J Funct Foods* 2015; 14: 133-143.
14. Daliri EBM, Lee BH, Oh DH. Current trends and perspectives of bioactive peptides. *Crit. Rev Food Sci Nutr* 2017; 12: 1-12.
15. Ibrahim HR, Ahmed AS, Miyata T. Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk. *J Adv Res* 2017; 8(1): 63-71.
16. Contreras MDM, Hernández-Ledesma B, Amigo L, Martín-Álvarez PJ, Recio I. Production of antioxidant hydrolysates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology. *LWT - Food Sci Technol* 2011; 44(1): 9-15.
17. Koyama M, Hattori S, Amano Y, Watanabe M Nakamura K. Blood pressure-lowering peptides from neo-fermented buckwheat sprouts: a new approach to estimating ACE-inhibitory activity. *PLoS One*. 2014; 9(9):e105802.
18. Moslehishad M, Reza Ehsani M, Salami M, Mirdamadi S, Ezzatpanah H, Niasari A, Naslaji A, Akbar Moosavi-Movahedi A. The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637. *Int Dairy J* 2013; 29(2): 82-87.
19. Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. *Petides* 2015; 73: 20-34.
20. Rodríguez-Figueroa JC, González-Córdova AF, Torres-Llanez MJ, García HS, Vallejo-Córdova B. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *J Dairy Sci* 2012; 95(10): 5536-5543.
21. O'Loughlin IB, Murray B, Brodtkorb A, FitzGerald RJ, Kelly PM. Production of whey protein isolate hydrolysate fractions with enriched ACE-inhibitory activity. *Int Dairy J* 2014; 38(2): 101-103.

22. Abubakar A, Saito T, Kitazawa H, Kawai Y, Itoh T. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion. *J Dairy Sci* 1998; 81(12): 3131-3138.
23. Nurminen ML, Sipola M, Kaarto H, Pihlanto-Leppala A, Piilola K, Korpela R, Tossavainen O, Korhonen H, Vapaatalo H. α -Lactorphin lowers blood pressure measured by radiotelemetry in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 2000; 66(16): 1535-1543.
24. Nagaoka S, Futamura Y, Miwa K, Awano T, Yamauchi K, Kanamaru Y, Tadashi T, Kuwata T. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk beta-lactoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281(1): 11-17.
25. Morikawa K, Kondo I, Kanamaru Y, Nagaoka S. A novel regulatory pathway for cholesterol degradation via lactostatin. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352(3): 697-702.
26. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27(5): 1047-1053.
27. Jakubowicz D, Froy O. Biochemical and metabolic mechanisms by which dietary whey protein may combat obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem* 2013; 24(1): 1-5.
28. Lacroix IME, Li-Chan ECY. Isolation and characterization of peptides with dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity from pepsin-treated bovine whey proteins. *Peptides* 2014; 54: 39-48.
29. Badr G, Sayed LH, Omar HE-DM, Abd El-Rahim AM, Ahmed EA, Mahmoud MH. Camel whey protein protects B and T cells from apoptosis by suppressing activating transcription factor-3 (ATF-3)-mediated oxidative stress and enhancing phosphorylation of AKT and I κ B- α in type I diabetic mice. *Cell Physiol Biochem* 2017; 41-54.
30. Chalamaiah M, W. Yu, J. Wu. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food Chem* 2018; 245: 205-222.
31. Maestri E, Marmiroli M, Marmiroli N. Bioactive peptides in plant-based foodstuffs. *J Proteomics* 2016; 147: 104-155.
32. Tang Z, Yin Y, Zhang Y, Huang R, Sun Z, Li T, Chu W, Kong X, Li L, Geng M, Tu Q. Effects of dietary supplementation with an expressed fusion peptide bovine lactoferricin lactoferrampin on performance, immune function and intestinal mucosal morphology in piglets weaned at age 21 d. *Br J Nutr* 2009; 101: 998-1005
33. Barros de Oliveira CM, Kimiko Sakata R, Machado Issy A, Gerola LR, Salomão R. Citocinas y dolor. *Rev Bras Anestesiol* 2011; 61(2): 137-42.
34. Saint-Sauveur D, Gauthier SF, Boutin Y, Montoni A, Fliss I. Effect of feeding whey peptide fractions on the immune response in healthy and *Escherichia coli* infected mice. *Int Dairy J* 2009; 19: 537-544.
35. Piccolomini AF, Iskandar MM, Lands LC, Kubow S. High hydrostatic pressure pre-treatment of whey proteins enhances whey protein hydrolysate inhibition of oxidative stress and IL-8 secretion in intestinal epithelial cells. *Food Nutr Res* 2012; 56: 1-10.
36. Gouw JW, Jo J, Meulenbroek LAPM, Heijjer S, Kremer E, Sandalova E, Knulst AC, Jeurink P, Garssen J, Rijniense A, Knippels LMJ. Identification of peptides with tolerogenic potential in a hydrolyzed whey-based infant formula. *Clin Exp Allergy* 2018, doi: 10.1111/cea.13223.
37. Tarango-Hernández S, Alarcón-Rojo AD, Robles-Sánchez M, Guitérrez-Méndez N, Rodríguez-Figueroa JC. Short communication : Potential of Fresco-style cheese whey as a source of protein fractions with antioxidant and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities. *J Dairy Sci* 2015; 98(11): 7635-7639.
38. Peng X, Kong B, Yu H, Diao X. Protective effect of whey protein hydrolysates against oxidative stress in D-galactose-induced ageing rats. *Int Dairy J* 2014; 34: 80-85.
39. Mann B, Kumari A, Kumar R, Sharma R, Prajapati K, Mahboob S, Athira S. Antioxidant activity of whey protein hydrolysates in milk beverage system. *J Food Sci Technol* 2014; 52(6): 3235-3241.
40. Peng X, Kong B, Xia X, Liu Q. Reducing and radical-scavenging activities of whey protein hydrolysates prepared with Alcalase. *Int Dairy J* 2010; 20(5): 360-365.
41. Rocha GF, Kise F, Rosso AM, Parisi MG. Potential antioxidant peptides produced from whey hydrolysis with an immobilized aspartic protease from *Salpichroa origanifolia* fruits. *Food Chem* 2017; 237: 350-355.
42. Abadía-García L, Castaño-Tostado E, Ozimek L, Romero-Gómez S, Ozuna C, Amaya-Llano SL. Impact of ultrasound pretreatment on whey protein hydrolysis by vegetable proteases. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2017; 37:84-90
43. Daliri EBM, Lee BH, Park BJ, Kim SH, Oh DH. Antihypertensive peptides from whey proteins fermented by lactic acid bacteria. *Food Sci Biotechnol* 2018, doi https://doi.org/10.1007/s10068-018-0423-0.
44. Ashok NR, Aparna HS. Empirical and bioinformatic characterization of buffalo (*Bubalus bubalis*) colostrum whey peptides & their angiotensin I- converting enzyme inhibition. *Food Chem* 2017; 228:582-594.
45. Hernández-Ledesma B, Dávalos A, Bartolomé B, Amigo L. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *J Agric Food Chem* 2005; 53(3): 588-593.
46. Power O, Fernandez A, Norris R, Riera F, FitzGerald RJ. Selective enrichment of bioactive properties during ultrafiltration of a tryptic digest of β -lactoglobulin. *J Funct Foods* 2014; 9: 38-47.
47. Sah BNP, Vasiljevic T, McKechnie S, Donkor ON. Antioxidative and antibacterial peptides derived from bovine milk proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2016; 58(5): 726-740.
48. Smithers GW. Whey and whey proteins—from 'gutter-to-gold'. *Int. Dairy J* 2008; 18: 695-704.
49. Eigel WN, Butler JE, Ernstrom CA, Farrell HM, Harwalkar VR, Jenness R, McL Whitney R. Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J Dairy Sci.* 1984; 67:1599-1631.
50. Brew K, Castellino FJ, Vanaman TC, Hill RL. The complete amino acid sequence of bovine α -lactalbumin. *J Biol Chem* 1970; 10: 4570-4582.
51. Hernández-Ledesma B, Miguel M, Amigo L, Aleixandre MA, Recio I. Effect of simulated gastrointestinal digestion on the antihypertensive properties of synthetic beta-lactoglobulin peptide sequences. *J Dairy Res* 2007; 74(3): 336-339.
52. Sipola M, Finckenberg P, Vapaatalo H, Pihlanto-Leppälä A, Korhonen H, Korpela R, Nurminen ML. Alpha-lactorphin and beta-lactorphin improve arterial function in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 2002; 71: 1245-1253.
53. Tsai JS, Chen TJ, Pan BS, Gong S Da, Chung MY. Antihypertensive effect of bioactive peptides produced by protease-facilitated lactic acid fermentation of milk. *Food Chem* 2008; 106: 552-558.
54. Mullally MM, Meisel H, Fitzgerald RJ. Identification of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides

- corresponding to a tryptic fragment of bovine β -lactoglobulin. *FEBS Lett* 1997; 402: 99-101.
55. Hernández-Ledesma B, Amigo L, Ramos M, Recio I. Release of angiotensin converting enzyme-inhibitory peptides by simulated gastrointestinal digestion of infant formulas. *Int Dairy J* 2004; 14(10): 889-898.
 56. Pan D, Guo Y. Optimization of sour milk fermentation for the production of ACE-inhibitory peptides and purification of a novel peptide from whey protein hydrolysate. *Int Dairy J* 2010; 20(7): 472-479.
 57. Lacroix IME, Meng G, Cheung IWY, Li-Chan ECY. Do whey protein-derived peptides have dual dipeptidyl-peptidase IV and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities? *J Funct Foods* 2016; 21: 87-96.
 58. O'Keefe MB, Conesa C, FitzGerald RJ. Identification of angiotensin converting enzyme inhibitory and antioxidant peptides in a whey protein concentrate hydrolysate produced at semi-pilot scale. *Int J Food Sci Technol* 2017; 52(8): 1751-1759.
 59. Hernández-Ledesma B, Recio I, Ramos M, Amigo L. Preparation of ovine and caprine-lactoglobulin hydrolysates with ACE-inhibitory activity. Identification of active peptides from caprine-lactoglobulin hydrolyzed with thermolysin. *Int Dairy J* 2002; 12(10): 805-812.
 60. Korhonen H, Pihlanto A. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int Dairy J* 2006; 16(9): 945-960.
 61. Didelot S, Bordenave-Juchereau S, Rosenfeld E, Fruitier-Arnaudin I, Piot JM, Sannier F. Preparation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory hydrolysates from unsupplemented caprine whey fermentation by various cheese microflora. *Int Dairy J* 2006; 16: 976-983.
 62. Fernández-Musoles R, Salom JB, Martínez-Maqueda D, López-Díez JJ, Recio I, Manzanares P. Antihypertensive effects of lactoferrin hydrolysates: Inhibition of angiotensin- and endothelin-converting enzymes. *Food Chem* 2013; 139(1-4): 994-1000.
 63. Silveira ST, Martínez-Maqueda D, Recio I, Hernández-Ledesma B. Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides generated by tryptic hydrolysis of a whey protein concentrate rich in β -lactoglobulin. *Food Chem* 2013; 141(2): 1072-1077.
 64. Song JJ, Wang Q, Du M, Ji XM, Mao XY. Identification of dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides from mare whey protein hydrolysates. *J. Dairy Sci* 2017; 100: 1-10.
 65. Pandey M, Kapila R, Kapilka S. Osteoanabolic activity of whey-derived anti-oxidative (MHIRL and YVEEL) and angiotensin-converting enzyme inhibitory (YLLF, ALPMHIR, IPA and WLAHK) bioactive peptides. *Peptides* 2018; 99:1-7.
 66. Zhang QX, Wu H, Ling YF, Lu RR. Isolation and identification of antioxidant peptides derived from whey protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and Q-TOF MS. *J Dairy Res* 2013; 80(3): 367-373.
 67. Corrêa APF, Daroit DJ, Fontoura R, Meira SMM, Segalin J, Brandelli A. Hydrolysates of sheep cheese whey as a source of bioactive peptides with antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activities. *Peptides* 2014; 61: 48-55.
 68. Pellegrini A, Dettling C, Thomas U, Hunziker P. Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine β -lactoglobulin. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 2001; 1526(2): 131-140.
 69. Demers-Mathieu V, Gauthier SF, Britten M, Fliss I, Robitaille G, Jean J. Antibacterial activity of peptides extracted from tryptic hydrolyzate of whey protein by nanofiltration. *Int Dairy J* 2013; 28(2): 94-101.
 70. Almaas H, Eriksen E, Sekse C, Comi I, Flengsrud R, Holm H, Jensen E, Jacobsen M, Langsurd T, Vegarud E. Antibacterial peptides derived from caprine whey proteins, by digestion with human gastrointestinal juice. *Br J Nutr* 2011; 106(6): 896-905.
 71. Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Hunziker P, Von Fellenberg R. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine α -lactalbumin molecule. *Biochim Biophys Acta-Gen Subj* 1999; 1426: 439-448.