



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Posgrado en Ciencias en Bioprocesos**

**Evaluación de la hidrólisis enzimática de lactosa en leche  
bovina mediante  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae***

Tesis que para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias en Bioprocesos**

Presenta:

**Carrizales Loera Anthony**

Director de Tesis: **Dra. María Zenaida Saavedra Leos**

---

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: Agosto 2026



**UASLP-Sistema de Bibliotecas**  
**Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso**  
**DERECHOS RESERVADOS**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Determinación de los parámetros cinéticos de  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* en la hidrólisis enzimática de la lactosa de la leche bovina para el diseño de un reactor. © 2026 por Carrizales Loera, Anthony se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International

Este proyecto se realizó en Laboratorio de Química de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano (UAMRA) adscrito a Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), en el periodo comprendido entre agosto de 2024 y julio de 2026, bajo la dirección de Dra. María Zenaida Saavedra Leos y fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) mediante la beca otorgada para la realización de estudios de Maestría.

El programa de Maestría en ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONAHCYT, registro 000588. Número de la beca otorgada por CONAHCYT: 000588. Número de CVU: 2054910.

Los datos del trabajo titulado Determinación de los parámetros cinéticos de  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* en la hidrólisis enzimática de la lactosa de la leche bovina para el diseño de un reactor se encuentran bajo el resguardo de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano (UAMRA) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y pertenecen a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Programa de Maestría

Formato M12

### Solicitud de Registro de Tesis Maestría

San Luis Potosí SLP a mayo/ 12 /2025

**Comité Académico**

**En atención a: Coordinador/a del Posgrado**

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de tema de tesis de Maestría, el cual quedo definido de la siguiente manera: Obtención de leche deslactosada en polvo mediante hidrólisis enzimática y secado por aspersión

que desarrollará el/la estudiante: Anthony Carrizales Loera

bajo la dirección y/o Co-dirección de: María Zenaida Saavedra Leos

- Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación, estudios con seres humanos o muestras derivadas de los mismos, el manejo y/o generación de organismos genéticamente modificados y requiere de aval de Comité de Ética e investigación de la FCQ.

(Complete la opción que aplique en su caso):

( ) Sí debido a que: \_\_\_\_\_

( X ) No

( ) No Aplica

Sin otro particular, quedo de Usted.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Posgrado en Ciencias en Bioprocesos**

**Evaluación de la hidrólisis enzimática de lactosa en leche  
bovina mediante  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae***

Tesis que para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias en Bioprocesos**

Presenta:

**Carrizales Loera Anthony**

**SINODALES:**

**Presidente:** Dr. Alejandro Rocha Uribe

\_\_\_\_\_

**Secretario:** Dra. María Zenaida Saavedra Leos

\_\_\_\_\_

**Vocal:** Dra. Claudia Álvarez Salas

\_\_\_\_\_

**Vocal:** Dr. Edgar Enrique Lara Mota

\_\_\_\_\_

---

---

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: Agosto 2026

## **INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO**

Dra. María Zenaida Saavedra Leos: Directora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, Matehuala, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Claudia Álvarez Salas: Tutora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ingeniería, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Alejandro Rocha Uribe: Tutor de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Edgar Enrique Lara Mota: Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Programa de Maestría

Formato M5

### Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a Julio/ 21 /2026

En la ciudad de Matehuala, San Luis Potosí, el día 21 del mes de julio del año 2026.

El que suscribe, Anthony Carrizales Loera, alumno del programa de posgrado Maestría en Ciencias en Bioprocesos, adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de la Dra. María Zenaida Saavedra Leos, y cede los derechos del trabajo titulado "Determinación de los parámetros cinéticos de  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* en la hidrólisis enzimática de la lactosa de la leche bovina para el diseño de un reactor" a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial el texto, las gráficas, las imágenes o cualquier otro contenido del trabajo sin el permiso expreso del autor o de los autores. Este permiso podrá obtenerse directamente del autor escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico: [anthony.carrizales@uaslp.mx](mailto:anthony.carrizales@uaslp.mx), [zenaida.saavedra@uaslp.mx](mailto:zenaida.saavedra@uaslp.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá otorgar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Programa de Maestría

Formato M28

**Carta de Análisis de Similitud**

San Luis Potosí SLP a 11/08/2026

**LB. María Zita Acosta Nava**  
**Biblioteca de Posgrado**  
**Facultad de Ciencias Químicas**  
**Universidad Autónoma de San Luis Potosí**

**Asunto:** Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada "Determinación de los parámetros cinéticos de  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* en la hidrólisis enzimática de la lactosa de la leche bovina para el diseño de un reactor". presentada por el autor Anthony Carrizales Loera. La tesis es requisito para obtener el grado de Maestría en el Posgrado en Ciencias en Bioprocesos. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 10% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

## Resumen

La intolerancia a la lactosa representa una limitante para el consumo de leche y productos lácteos por una parte importante de la población mundial. La hidrólisis enzimática de la lactosa mediante  $\beta$ -galactosidasa constituye una alternativa eficiente para la obtención de productos con bajo contenido de lactosa. En este trabajo se determinaron los parámetros cinéticos de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* durante la hidrólisis enzimática de la lactosa presente en leche bovina, con el propósito de generar información útil para el diseño de reactores enzimáticos. Inicialmente se caracterizó la composición fisicoquímica de la leche y se cuantificaron las concentraciones de lactosa, glucosa y galactosa mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Posteriormente, se evaluó el efecto de diferentes concentraciones iniciales de lactosa sobre la velocidad de reacción y los datos experimentales se ajustaron mediante un análisis paramétrico no lineal por mínimos cuadrados utilizando el modelo de Michaelis–Menten y diferentes mecanismos de inhibición por producto. Se obtuvieron valores de  $V_{max}$  y  $K_m$ , mientras que el modelo con inhibición por producto permitió describir de manera más adecuada el comportamiento cinético del sistema. La hidrólisis alcanzó un 91.05 % de conversión de lactosa después de 200 min de reacción. Los resultados obtenidos proporcionan parámetros cinéticos confiables que pueden emplearse en el modelado, simulación, diseño y escalamiento de reactores enzimáticos destinados a la producción de leche y derivados con contenido reducido de lactosa.

**Palabras clave:**  $\beta$ -galactosidasa, hidrólisis enzimática, cinética enzimática, diseño de reactores.

## Abstract

Lactose intolerance limits the consumption of milk and dairy products for a significant portion of the world's population. Enzymatic lactose hydrolysis using  $\beta$ -galactosidase has emerged as an effective alternative for producing low-lactose dairy products. The objective of this study was to determine the kinetic parameters of *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -galactosidase during the enzymatic hydrolysis of lactose in bovine milk to provide fundamental information for enzymatic reactor design. Initially, the physicochemical composition of milk was characterized, and lactose, glucose, and galactose concentrations were quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC). Enzymatic assays were subsequently performed at different initial lactose concentrations, and the experimental data were fitted by nonlinear parametric least-squares analysis using the Michaelis–Menten model and different product inhibition mechanisms. The kinetic parameters obtained were  $V_{\max}$  and  $K_m$ . The enzymatic hydrolysis process reached 91.05% lactose conversion after 200 min of reaction, while product inhibition models provided a more accurate description of the enzymatic behavior than the classical Michaelis–Menten equation. The kinetic parameters determined in this study constitute a useful basis for the modeling, simulation, scale-up, and design of enzymatic reactors intended for the production of lactose-reduced dairy products.

**Keywords:**  $\beta$ -galactosidase, enzymatic hydrolysis, enzyme kinetics, reactor design.

## Índice general

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Resumen</b> .....                                                                  | ix  |
| <b>Abstract</b> .....                                                                 | x   |
| <b>Índice de figuras</b> .....                                                        | xii |
| <b>Introducción</b> .....                                                             | 1   |
| <b>Antecedentes</b> .....                                                             | 2   |
| Producción de leche y suero de leche a nivel internacional .....                      | 2   |
| Producción de leche y suero de leche a nivel nacional .....                           | 4   |
| Producción de leche y suero de leche a nivel Estatal, el caso de San Luis Potosí..... | 5   |
| Producción de alimentos deslactosados en la industria .....                           | 6   |
| Hidrólisis de la lactosa vía enzimática.....                                          | 8   |
| Principales enfermedades por intolerancia a la lactosa.....                           | 10  |
| <b>Justificación</b> .....                                                            | 11  |
| <b>Hipótesis</b> .....                                                                | 12  |
| <b>Objetivos</b> .....                                                                | 12  |
| Objetivo General.....                                                                 | 12  |
| Objetivos específicos.....                                                            | 13  |
| <b>Materiales y métodos</b> .....                                                     | 13  |
| Materiales .....                                                                      | 13  |
| Caracterización fisicoquímica de la leche .....                                       | 14  |
| Cuantificación de lactosa, glucosa y galactosa por HPLC.....                          | 14  |
| Determinación de las condiciones de hidrólisis (diseño factorial).....                | 14  |
| Hidrólisis enzimática de la lactosa .....                                             | 15  |
| Estudio cinético de la hidrólisis enzimática de la lactosa.....                       | 15  |
| Determinación de los parámetros cinéticos .....                                       | 15  |
| <b>Resultados</b> .....                                                               | 16  |
| Determinación fisicoquímica de la leche bovina .....                                  | 16  |
| Selección de las condiciones de operación para la hidrólisis enzimática .....         | 16  |
| Cuantificación de lactosa, glucosa y galactosa mediante HPLC .....                    | 17  |
| Evaluación de la hidrólisis enzimática de la lactosa .....                            | 17  |
| Modelos cinéticos .....                                                               | 17  |

|                                                                   |           |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| Evaluación de los modelos de inhibición de Michaelis–Menten ..... | 18        |
| <b>Discusión .....</b>                                            | <b>18</b> |
| <b>Bibliografía.....</b>                                          | <b>22</b> |

## Índice de figuras

|                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b><i>Figura 1. Diagrama de proceso de ultrafiltración .....</i></b> | <b>8</b>  |
| <b><i>Figura 2. Hidrólisis de la lactosa. ....</i></b>               | <b>10</b> |

## Introducción

La leche es la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, es una fuente rica en proteínas, glúcidos, grasa, minerales (sodio, potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, fósforo, fluoruros, yoduros) (NOM-243-SSAI-20210). La leche de vaca es un alimento de primera necesidad y, fundamentalmente, en los primeros períodos de vida del hombre, empleándola ya sea directamente o transformándola para la obtención de productos lácteos. Autores como Chebykim et al 2024 indican que más de 6,000 millones de personas en todo el mundo consumen leche; sin embargo, a pesar de su fácil digestibilidad, más de la mitad de la población mundial no puede consumir productos lácteos por intolerancia a la lactosa. Cuando el organismo de una persona no es capaz de asimilar correctamente la lactosa, el individuo es diagnosticado con hipolactasia, los principales síntomas de la hipolactasia son dolor o malestar abdominal, meteorismo etc. Los individuos con hipolactasia disminuyen significativamente su calidad de vida (enfermedades comunes el raquitismo, osteoporosis etc) y requieren el uso regular de medicación. Autores como Looijesteijn et al 2023, Chebykim et al 2024, han reportado diferentes terapias de sustitución enzimática para tratar la intolerancia a la lactosa: I) administración oral de la  $\beta$ -galactosidasa comprimidos o gotas de venta libre., II) limitar el consumo productos lácteos. Teniendo como antecedente que la leche, por su valor nutricional y la cantidad de personas que son intolerantes a la lactosa, el principal carbohidrato en la leche, la industria alimentaria ha incursionado en diversas alternativas para producir productos libres de lactosa, tales como la leche, yogurt, queso deslactosado, etc. El costo monetario de estos productos es más elevado que los productos con lactosa. Empresas como Pasteurizadora La Laguna (Grupo Lala, S.A.B. de C.V.), Ganaderos Productores de Leche Pura (Alpura S.A.P.I. de C.V.), entre otros, producen leche y productos lácteos deslactosados a través de un proceso de ultrafiltración (UF) y nanofiltración (NF). La UF retiene partículas del tamaño de proteínas y

glóbulos de grasa, mientras que la NF retiene partículas del tamaño de azúcares como sacarosa y lactosa. Una alternativa poco estudiada por el sector industrial es la hidrólisis de la lactosa (enzimática). La  $\beta$ -galactosidasa, ejerce un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según:  $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$ . En este trabajo de investigación se diseñará un proceso para la producción de leche deslactosada, manteniendo las características nutricionales y fisicoquímicas similares a las versiones comerciales disponibles en el mercado, y que sea accesible por la mayoría de la población. Este proceso aprovechará la leche entera, como materia prima principal (sistema modelo- Industria), y utilizará el suero de leche (un subproducto residual- impacto Social).

## **Antecedentes**

### *Producción de leche y suero de leche a nivel internacional*

- i) La producción de leche, a nivel internacional, es una de las actividades más importantes en el sector agroalimentario. La leche es considerada uno de los productos agrícolas más producidos y valiosos del mundo. Se estima que en el 2013 hubo una producción total de 770,000 millones de litros, valorada en 328,000 millones de dólares estadounidenses. En 2013 fue el producto agrícola más relevante dentro del mercado global de productos lácteos. Los países con mayor índice de producción fueron India, Estados Unidos, así como también la Unión Europea.
- ii) La producción de queso fresco constituye una de las actividades más relevantes dentro de la industria láctea a nivel mundial. De acuerdo con la Food and Agriculture Organization, la producción global de queso supera los 22 millones de toneladas anuales, siendo el queso fresco uno de los productos de mayor consumo debido a su bajo tiempo de maduración y alta demanda en mercados locales (FAO, 2022). Este proceso industrial genera grandes volúmenes de lactosuero como subproducto; se estima

que por cada kilogramo de queso producido se generan entre 8 y 9 litros de suero de leche, lo que representa aproximadamente el 85–90% del volumen inicial de la leche procesada (Gallegos-Daniel et al., 2023). A nivel mundial, la producción de lactosuero se estima en más de 180 millones de toneladas anuales, de las cuales cerca del 50% no es aprovechado adecuadamente, siendo descargado como efluente industrial (Carvalho et al., 2013). A nivel nacional, la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural reportó que en 2023 se generaron más de 2.4 millones de toneladas de suero de leche, de las cuales solo aproximadamente la mitad es valorizada dentro de la industria alimentaria, mientras que el resto representa un residuo con alto potencial contaminante. El lactosuero posee una elevada carga orgánica, caracterizada por valores de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que pueden oscilar entre 30,000 y 50,000 mg/L, lo que lo convierte en un contaminante significativo si es vertido sin tratamiento adecuado (Carvalho et al., 2013). Sin embargo, este subproducto presenta un alto valor nutricional, ya que contiene aproximadamente 4.5–5% de lactosa, 0.6–0.8% de proteínas de alto valor biológico, además de lípidos, minerales y vitaminas. Se estima que cerca del 20% de las proteínas originales de la leche permanecen en el lactosuero, principalmente en forma de  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina (Lizárraga-Chaidez, 2020). Debido a estas características, el aprovechamiento y valorización del lactosuero ha cobrado gran relevancia en los últimos años, ya que permite no solo mitigar el impacto ambiental asociado a su disposición, sino también generar productos de alto valor agregado, como concentrados proteicos, bebidas funcionales y derivados fermentados (Smithers, 2008).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), la leche y suero de leche presentan un alto potencial para lograr el cumplimiento de los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS), adoptados por la ONU, los cuales buscan, entre otros, los siguientes vínculos dentro del sector lácteo: I) fin de la pobreza (ODS 1), el sector lechero directa e indirectamente contribuye al sustento de 150 millones de ganaderos y genera oportunidades de empleo en toda la cadena de valor; II) hambre cero y seguridad en los alimentos (ODS 2), por la importancia de la leche y suero de leche como fuente de energía, proteínas y micronutrientes; III) producción y consumo responsables (ODS 12); IV) acción por el clima (ODS 13), protección y restauración de los ecosistemas terrestres.

#### *Producción de leche y suero de leche a nivel nacional*

- i) La industria láctea en México desempeña un papel fundamental en la economía nacional, posicionándose como la tercera actividad más importante dentro del sector alimentario. En 2023, la producción de leche de bovino alcanzó 13,333 millones de litros, siendo los principales estados productores Jalisco con un 19.5% de la producción total, Coahuila con el 11.5%, Durango el 11.3% y Chihuahua el 9.3% (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).
- ii) La producción de queso fresco es una de las principales actividades dentro de la industria láctea. En México, se estima que la producción anual de queso fresco es aproximadamente de 400,000 toneladas. La producción de queso genera cifras significativas de suero de leche; se estima que, por cada kilogramo de queso elaborado, se generan nueve litros de suero de leche como residuo o subproducto (Gallegos-Daniel et al., 2023). Según la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, para el año 2023 se generaron más de 2.4 millones de toneladas de suero de leche, de

lo cual se estima que solo la mitad es aprovechada como subproducto en la industria alimentaria. El desaprovechamiento del suero de leche representa un impacto ambiental debido a su carga orgánica. El suero de leche tiene un alto valor nutricional, ya que contiene biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos, minerales, etc. Aproximadamente 20% de las proteínas presentes en la leche permanecen en la composición del lactosuero. Por ello, su valorización y aprovechamiento en la industria alimentaria y otros sectores se presenta como una oportunidad para mitigar su impacto ambiental y generar productos de alto valor añadido (Lizárraga-Chaidez, 2020).

*Producción de leche y suero de leche a nivel Estatal, el caso de San Luis Potosí*

- i) Leche; Según la Secretaría de Desarrollo Agropecuario y Recursos Hidráulicos de San Luis Potosí, en el año 2013, la producción de leche a nivel estatal se estimó en aproximadamente 132.1 millones de litros, con una marcada concentración en municipios con vocación ganadera como Tamuín, Villa de Reyes, Ébano, San Vicente Tancuayalab y San Luis Potosí (Rodríguez-Gallegos et al., 2022). En años recientes, la producción lechera ha mostrado una tendencia relativamente estable con ligeros incrementos. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, en el año 2023 la producción de leche bovina en el estado fue de 10,978.81 miles de litros a nivel estatal (SIAP, 2023).
- ii) En el estado de San Luis Potosí, la generación de lactosuero está estrechamente vinculada a la transformación de leche en productos lácteos, particularmente queso fresco, el cual representa uno de los principales destinos de la producción lechera regional. Durante este proceso, el lactosuero se obtiene como el principal subproducto líquido derivado de la coagulación de la leche y la

separación de la cuajada. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, en el año 2023 la producción de leche bovina en el estado fue de 10,978,810 litros, lo que permite dimensionar la magnitud potencial de generación de lactosuero a nivel estatal (SIAP, 2023). A partir de este volumen, y considerando que aproximadamente entre el 85% y 90% del volumen inicial de la leche procesada se convierte en lactosuero, es posible estimar que en San Luis Potosí se generan grandes cantidades de este subproducto (aproximadamente entre 9.3 y 9.9 millones de litros anuales).

### *Producción de alimentos deslactosados en la industria*

En la actualidad, la industria láctea ha desarrollado diversas tecnologías para lograr el proceso de deslactosado de la leche entera. La tecnología más utilizada es la ultrafiltración (a través de peso molecular). Al respecto, algunos hallazgos científicos son los siguientes: I) Llerena Ramírez, 2021, investigó las condiciones de hidrólisis de las lactasas Lactozym Pure 6500 L y Saphera 2600 L para la producción de leche deslactosada de cabra, concluyendo que el uso de estas enzimas comerciales es eficiente para el proceso de deslactosado a nivel industrial, haciendo énfasis que, para maximizar la conversión de lactosa en glucosa y galactosa, el grado de hidrólisis obtenido depende de condiciones óptimas de pH, temperatura y tiempo de reacción. II) Solís Oba et al. (2023) realizaron una propuesta para el aprovechamiento industrial del lactosuero, llevaron a cabo un proceso de ultrafiltración con el objetivo de obtener agregados proteicos a partir del suero de leche, como producto obtuvo un polvo asilado de proteína de suero de leche con un contenido de proteínas del 47% (p/p) del producto. En su trabajo, agregaron el aislado de proteína al proceso de elaboración de queso Oaxaca, mejorando el rendimiento y la consistencia del producto final. La adición de 0.5% de lactosuero concentrado en polvo durante la producción de queso incrementó el rendimiento en un 4.16% en comparación con el uso de 1% de leche en

polvo. III) Rinaldoni, Campderrós y Pérez Padilla (2010), desarrollaron yogures deslactosados elaborados con concentrados de leche bovina y de soja obtenidos por ultrafiltración. Sus resultados muestran que el yogurt presentó un 37 % mayor de proteínas, aumentó en un 37% y una reducción significativa del 32% de lactosa, por lo que este producto sirve como alternativa para combatir el padecimiento de hipolactasia.

El proceso de ultrafiltración y nanofiltración utilizado actualmente en la industria láctea para la producción de leche deslactosada.

La ultrafiltración (UF) es una técnica de separación cuyo fundamento se basa en la retención de partículas a través de membranas semipermeables según su peso molecular, con la finalidad de retener partículas y macromoléculas de interés. En la industria alimentaria, este método es ampliamente usado. Principalmente se utiliza en la industria láctea, para llevar a cabo la separación de las proteínas del suero de leche, obteniendo proteínas como la beta-lactoglobulina, la alfa-lactalbúmina, la albúmina de suero bovino y la inmunoglobulina. Este método permite el aislamiento de componentes específicos sin modificar sus características fisicoquímicas (Ramírez-Navas et al., 2018). La eficiencia de la tecnología de ultrafiltración depende de factores como la temperatura, el pH y la presión transmembrana. Según Solís-Carvajal et al., 2017 el tamaño de partícula de la molécula de interés define la membrana que se utilice como: microfiltración, nanofiltración, electrodiálisis y diafiltración, con el fin de mejorar la selectividad y la eficiencia de separación.

Por otro lado, la nanofiltración es una tecnología de membranas cuyo fundamento es la separación por diferencia de peso molecular. Según Chacón-Villalobos (2006), el uso de la tecnología de nanofiltración mejora la eficiencia de los procesos industriales y se obtiene una mejor calidad del producto final. Esta técnica es utilizada en la industria láctea en el tratamiento de la leche para separar la lactosa o proteínas presentes. De igual forma, este proceso permite la concentración y desmineralización del lactosuero, facilitando la recuperación de componentes valiosos como proteínas y

lactosa. El uso de suero de leche contribuye a reducir el impacto ambiental de la elaboración de quesos, haciendo énfasis en que a partir de un residuo se puede transformar en un subproducto que contribuye a la implementación de alimentos con alto valor nutricional (Posada David, 2018).

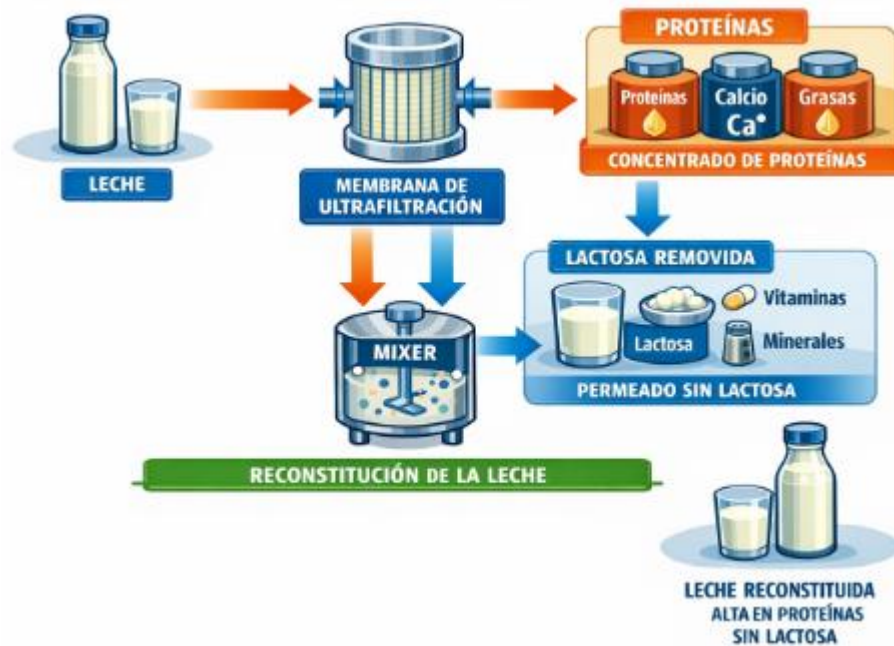


Figura 1. Diagrama de proceso de ultrafiltración  
Fuente: Elaboración propia (Copilot)

### Hidrólisis de la lactosa vía enzimática

Las enzimas son compuestos químicos orgánicos que, estructuralmente, cumplen con la organización molecular de una proteína, la enzima hace referencia a una proteína catalizadora (biocatalizador). Dichos compuestos son esenciales en procesos de metabolismo en los seres vivos y se les conoce como catalizadores debido a su capacidad para acelerar reacciones químicas sin degradarse en el proceso. La eficacia de las enzimas se debe a las condiciones de temperatura, presión y fuerza iónica. Una de las características de las enzimas es su especificidad, es decir, cada enzima cataliza una reacción en particular. La actividad catalítica de las enzimas depende de que mantengan su estructura tridimensional y que no sufran

despegamiento. En esta estructura tridimensional se forman cavidades llamadas “sitio activo”, las cuales muestran afinidad por las moléculas específicas (sustratos) que se convertirán en productos. El uso de enzimas en la industria alimentaria es de gran importancia y tiene una amplia gama de aplicaciones. Una de ellas es el uso de la glucosa oxidasa, lo cual tiene el objetivo de eliminar el oxígeno en los envases, prolongando así la vida de anaquel del producto y mejorando la calidad de los productos envasados (González González et al., 2021). Autores como González González et al., s.f. y Corrales Ramírez, Caycedo Lozano & Quijano Duarte, (2022) clasifican las enzimas según su aplicación como biocatalizador en diferentes reacciones químicas. I) Oxidorreductasas: Catalizan reacciones de óxido-reducción; en este grupo se encuentran, las deshidrogenasas, oxidasas, peroxidasas, oxigenasas y/o reductasas, entre otras. II) Transferasas: Catalizan las reacciones en las que se cambia de posición un radical químico dentro de una molécula y para cumplir con su función la mayoría de veces requieren un cofactor. III) Hidrolasas: Estas enzimas pueden considerarse como un subgrupo de las transferasas puesto que catalizan la hidrólisis con el consecuente cambio en la posición de un grupo químico, como es el caso del grupo  $PO_4$ . IV) Liasas: Catalizan reacciones de eliminación que implican formación de dobles enlaces en el sustrato; mientras que las sintasas catalizan reacciones de adición. V) Isomerasas: Catalizan reacciones en las que en el sustrato un grupo cambia de posición y se forma un isómero, como la glucosa-6 fosfato isomerasa que cataliza la reacción reversible de glucosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato. VI) Ligasas: Catalizan reacciones de síntesis en las que se unen dos sustratos, también se les asigna el nombre de sintetasas.

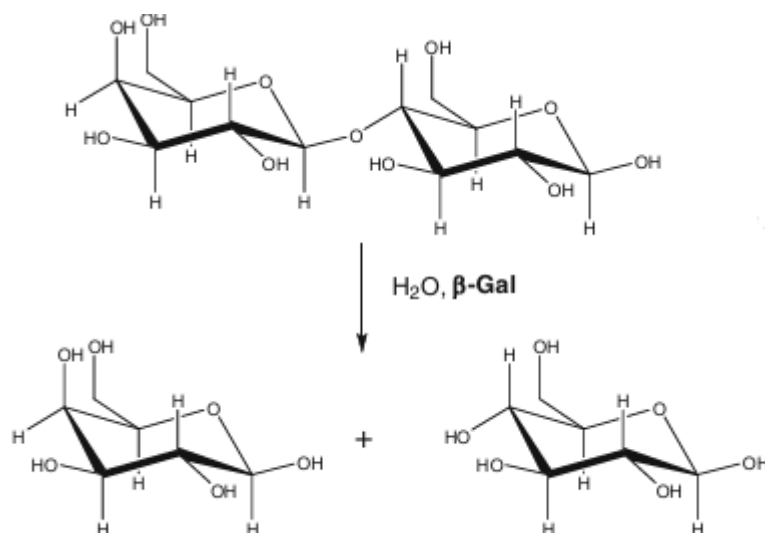


Figura 2. Hidrólisis de la lactosa.

Fuente: Adaptado de Fornera, Yazawa y Walde (2010).

### Principales enfermedades por intolerancia a la lactosa.

La intolerancia a la lactosa es un trastorno digestivo caracterizado por la incapacidad parcial o total del organismo para digerir la lactosa, principal carbohidrato presente en la leche y sus derivados, debido a una deficiencia en la enzima b-galactosidasa también llamada lactasa en el intestino delgado. Esta condición provoca una absorción incompleta de la lactosa, la cual es fermentada por el microbiota intestinal, generando síntomas como distensión abdominal, flatulencia, dolor y diarrea (Martínez-Vázquez et al., 2020). Desde el punto de vista clínico, la intolerancia a la lactosa se considera un síndrome con diversas formas según su etiología. La más frecuente es la intolerancia primaria o hipolactasia, causada por una disminución progresiva de la actividad de la lactasa. Esta condición tiene un componente genético y presenta alta prevalencia en poblaciones de origen africano, asiático, hispano y nativo americano, lo que la convierte en un problema relevante de salud pública. Por otra parte, la intolerancia secundaria se desarrolla como consecuencia de enfermedades que afectan la mucosa del intestino delgado. El daño a los enterocitos reduce la producción de lactasa, generando una incapacidad temporal o permanente para digerir la lactosa. Entre las principales causas se encuentran infecciones gastrointestinales,

enfermedades inflamatorias intestinales y otros trastornos que comprometen la integridad del epitelio intestinal (PROFECO, 2021).

Autores como (Gómez-Gómez et al., 2007) describen la intolerancia transitoria a la lactosa, como una forma de intolerancia secundaria frecuente en población pediátrica. Esta se produce tras infecciones intestinales que alteran temporalmente la función del epitelio intestinal y la actividad de la lactasa. Aunque es reversible, puede contribuir a cuadros de deshidratación y desnutrición si no se trata adecuadamente. Asimismo, la intolerancia a la lactosa puede coexistir con otros trastornos gastrointestinales funcionales, como el síndrome de intestino irritable, lo que dificulta su diagnóstico y puede llevar a la eliminación innecesaria de productos lácteos, incrementando el riesgo de deficiencias nutricionales (Martínez-Vázquez et al., 2020).

### **Justificación**

La leche es un alimento esencial por su alto valor nutricional; sin embargo, más de la mitad de la población mundial presenta intolerancia a la lactosa, lo que limita su consumo y puede afectar su calidad de vida. Los productos deslactosados disponibles actualmente suelen tener un costo elevado debido a los procesos utilizados para su producción, como la ultrafiltración y la nanofiltración. Por ello, este proyecto propone una alternativa más accesible mediante la hidrólisis enzimática de la lactosa utilizando  $\beta$ -galactosidasa, permitiendo obtener leche deslactosada con características nutricionales similares a las de la leche convencional.

Para que este proceso pueda implementarse a mayor escala, es necesario conocer el comportamiento de la enzima durante la hidrólisis de la lactosa. Por ello, en este trabajo se determinaron los parámetros cinéticos de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae*, los cuales sirven como base para el diseño de un reactor enzimático y para la optimización del proceso. La información obtenida puede contribuir al desarrollo de procesos más eficientes para la producción de leche deslactosada y facilitar el acceso a este tipo de productos para las personas con intolerancia a la lactosa.

## **Hipótesis**

Es posible obtener leche y suero de leche deslactosado por hidrólisis de la lactosa de la leche, lo cual permitiría el acceso de este alimento nutritivo a toda la población, haciéndolo accesibles (seguridad alimentaria). Esto se alcanzará, determinando la composición fisicoquímica de la leche y suero de leche de la industria (una empresa), determinando la actividad enzimática de  $\beta$ -galactosidasa, (parámetros de pH, temperatura, fuerza iónica, etc,) a nivel escala. Para la aplicación en la industria, se determinará la composición de la leche y suero de leche (sólidos totales) y se realizará la estandarización de la leche y suero. Se asesorará y se ofrecerá el seguimiento a empresas interesadas en utilizar esta investigación como alternativa para producir leche y suero deslactosado.

## **Objetivos**

### *Objetivo General*

Diseñar un proceso para la producción de leche deslactosada y suero de leche deslactosado mediante hidrólisis enzimática, manteniendo las características nutricionales y fisicoquímicas similares a la leche deslactosada y suero de leche deslactosado, comerciales disponibles en el mercado. Este proceso aprovechará la leche entera como materia prima principal, convirtiéndolo en una alternativa valiosa de estos alimentos nutricionales. El propósito es ofrecer una opción de leche deslactosada, accesible para la mayoría de la población mexicana, contribuyendo así a la seguridad alimentaria.

### Objetivos específicos

I) Determinar la composición fisicoquímica de la leche industria productos Medellín S.A. de C.V., en la ciudad de Matehuala S.L.P., México (LAS SEVILLANAS). Una empresa como sistema modelo disminuyendo las interrogantes de la composición de leche depende de la raza bovina, temporada de lluvia, alimentación etc.

II) Determinar la actividad enzimática de b-galactosidasa, utilizando lactosa como sustrato a diferentes parámetros de pH, temperatura, fuerza iónica, etc.

III) Hidrolizar la lactosa presente en la leche a escala (laboratorio) para producir leche y suero de leche deslactosado.

## **Materiales y métodos**

### Materiales

Para el desarrollo de la presente investigación se empleó  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* (BulkSupplements, Estados Unidos) como biocatalizador para la hidrólisis enzimática de la lactosa. Como sustrato se utilizó leche bovina pasteurizada comercial (Alpura S.A.P.I. de C.V., México). Asimismo, se emplearon  $\alpha$ -lactosa monohidratada ( $\geq 99\%$ ), glucosa grado analítico y galactosa grado analítico (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) para la preparación de soluciones patrón y el desarrollo de los análisis correspondientes. Durante la realización de los experimentos se utilizó agua destilada (Apolo Lab, México), ácido cítrico grado reactivo (Kelve, México), empleados para el ajuste de las condiciones experimentales y la preparación de las soluciones requeridas.

Para la cuantificación de lactosa, glucosa y galactosa mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se utilizaron reactivos grado HPLC, incluyendo agua grado HPLC (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, Estados Unidos). La separación y cuantificación de los carbohidratos se realizó utilizando una

columna Agilent Hi-Plex H, adecuada para el análisis de azúcares presentes en la leche. Con el propósito de reducir la variabilidad experimental asociada a factores biológicos y ambientales, se empleó leche comercial pasteurizada como sistema modelo durante todos los ensayos. La utilización de este tipo de materia prima permitió minimizar las variaciones en la composición de la leche ocasionadas por factores como la raza del ganado, la alimentación, la época del año y las condiciones ambientales, favoreciendo así una mayor reproducibilidad de los resultados obtenidos.

#### *Caracterización fisicoquímica de la leche*

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos se utilizó un analizador ultrasónico de leche Lactoscan SP Ultrasonic Modelo S (Milkotronic Ltd., Nova Zagora, Bulgaria). Previamente a cada serie de análisis, el equipo fue calibrado utilizando soluciones de limpieza alcalina y ácida, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, con el fin de garantizar la precisión y confiabilidad de las mediciones.

#### *Cuantificación de lactosa, glucosa y galactosa por HPLC*

El grado de hidrólisis de la lactosa se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cuantificando las concentraciones de lactosa, glucosa y galactosa presentes en las muestras obtenidas durante el proceso de hidrólisis enzimática. Este análisis permitió evaluar el avance de la reacción, identificar los tiempos de retención de cada carbohidrato y determinar la conversión de la lactosa en los monosacáridos glucosa y galactosa.

#### *Determinación de las condiciones de hidrólisis (diseño factorial)*

Con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura y el pH sobre la hidrólisis enzimática de la lactosa, se empleó un diseño experimental factorial

(2<sup>2</sup>). Este diseño permitió estudiar de manera simultánea la influencia de ambos factores, así como la posible interacción entre ellos, sobre el porcentaje de hidrólisis de la lactosa.

### Hidrólisis enzimática de la lactosa

La hidrólisis enzimática de la lactosa se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por (Correa et al., 2019) y (Beltrán & Acosta, 2012), con algunas modificaciones para adecuarla a las condiciones experimentales de la presente investigación. Los ensayos cinéticos se realizaron con el propósito de evaluar el avance de la reacción de hidrólisis enzimática de la lactosa. Los experimentos se desarrollaron a escala de laboratorio empleando un sistema de reacción por lotes, el cual consistió en un tubo de ensayo colocado en un baño seco digital AccuBlock Digital Dry Bath Modelo D1200 (Labnet International Inc., Edison, NJ, Estados Unidos). Este equipo permitió mantener una temperatura constante y controlada durante todo el desarrollo de la reacción enzimática.

### Estudio cinético de la hidrólisis enzimática de la lactosa

Con el propósito de evaluar el comportamiento cinético de la hidrólisis enzimática de la lactosa, se realizó una serie de experimentos manteniendo constantes las condiciones de operación, incluyendo el volumen de trabajo, la concentración de enzima, el pH y la temperatura. En estos ensayos, el tiempo de reacción se consideró como la variable independiente y se evaluó en un intervalo de 0 a 200 min, realizando muestreos cada 20 min, siguiendo la metodología descrita por (Beltrán & Acosta, 2012).

### Determinación de los parámetros cinéticos

Para la determinación de los parámetros cinéticos de la hidrólisis enzimática de la lactosa, los datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones iniciales de sustrato se ajustaron mediante el modelo

cinético de Michaelis–Menten, el cual describe la relación existente entre la velocidad de reacción y la concentración de sustrato. Este modelo constituye una de las herramientas más ampliamente utilizadas para caracterizar el comportamiento cinético de reacciones catalizadas por enzimas y permite estimar parámetros fundamentales relacionados con la actividad enzimática.

Los parámetros cinéticos correspondientes a la constante de Michaelis–Menten ( $K_m$ ), que representa la afinidad de la enzima por el sustrato, y la velocidad máxima de reacción ( $V_{max}$ ), fueron estimados mediante un análisis paramétrico no lineal por mínimos cuadrados utilizando la herramienta (Solver) de Microsoft Excel

## **Resultados**

### *Determinación fisicoquímica de la leche bovina*

La calidad de la leche bovina utilizada como sustrato en los ensayos de hidrólisis enzimática se evaluó mediante la determinación de sus principales parámetros fisicoquímicos.

### *Selección de las condiciones de operación para la hidrólisis enzimática*

Los resultados obtenidos del diseño experimental factorial ( $2^2$ ) permitieron evaluar el efecto de la temperatura y el pH sobre el porcentaje de hidrólisis de la lactosa. Las condiciones de 40 °C y pH 6.6 permitieron obtener el mayor porcentaje de hidrólisis. Por esta razón, dichas condiciones fueron seleccionadas para la realización de los ensayos posteriores de hidrólisis enzimática y para la determinación de los parámetros cinéticos de la  $\beta$ -galactosidasa.

### Cuantificación de lactosa, glucosa y galactosa mediante HPLC

La hidrólisis enzimática de la lactosa se evaluó mediante la cuantificación del sustrato (lactosa) y de los productos de reacción (glucosa y galactosa) utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Esta técnica permitió monitorear el consumo de lactosa y la formación de los monosacáridos durante el desarrollo de la reacción enzimática.

Estos autores observaron una disminución progresiva de la concentración de lactosa acompañada de un incremento en las concentraciones de glucosa y galactosa durante el transcurso de la reacción enzimática, comportamiento similar al observado en la presente investigación.

### Evaluación de la hidrólisis enzimática de la lactosa

La evolución de la hidrólisis enzimática de la lactosa se evaluó mediante el seguimiento de las concentraciones de lactosa, glucosa y galactosa durante el transcurso de la reacción.

Conforme avanzó la reacción, la concentración de ambos monosacáridos aumentó de forma continua.

En conjunto, estos estudios describen un comportamiento cinético caracterizado por una fase inicial de hidrólisis rápida, seguida por una disminución gradual de la velocidad de reacción y la acumulación progresiva de los productos de hidrólisis, comportamiento que fue igualmente observado en la presente investigación.

### Modelos cinéticos

La cinética de la hidrólisis enzimática de la lactosa se evaluó mediante el modelo de Michaelis–Menten, el cual describe la relación entre la concentración de sustrato y la velocidad de reacción en procesos catalizados por enzimas, considerando la formación del complejo enzima–sustrato como etapa fundamental del mecanismo catalítico (Orten & Neuhaus, 2013). Este

modelo ha sido ampliamente utilizado para describir la hidrólisis de la lactosa catalizada por  $\beta$ -galactosidasa, debido a que permite caracterizar el comportamiento cinético del sistema y estimar parámetros representativos de la actividad enzimática.

Para la obtención de los parámetros cinéticos, la velocidad de reacción se calculó a partir de la variación de la concentración de sustrato con respecto al tiempo ( $-r_s = dC_s/dt$ ) para cada uno de los puntos experimentales. Posteriormente, los datos experimentales fueron ajustados mediante regresión no lineal utilizando el modelo de Michaelis–Menten.

### *Evaluación de los modelos de inhibición de Michaelis–Menten*

Con el propósito de identificar el mecanismo de inhibición asociado a los productos de reacción durante la hidrólisis enzimática de la lactosa, los datos experimentales se ajustaron a los modelos de inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva derivados del modelo de Michaelis–Menten mediante un análisis paramétrico no lineal por mínimos cuadrados.

El desempeño de cada modelo se evaluó utilizando el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), la suma de cuadrados de los errores (SSE) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE). Debido a que los valores de  $R^2$  obtenidos para los diferentes modelos fueron muy similares, la selección del modelo cinético se realizó principalmente con base en los estadísticos de error (SSE y RMSE), ya que estos permitieron discriminar con mayor precisión el mecanismo de inhibición que mejor describió el comportamiento experimental.

## **Discusión**

Las características fisicoquímicas de la leche utilizada en el presente estudio se encontraron dentro de los intervalos establecidos para la leche bovina por el Codex Alimentarius y la norma mexicana NOM-155-SCFI-2012. Esto indica que la leche empleada presentó características adecuadas para su utilización

como matriz experimental y permitió reducir posibles variaciones asociadas con la composición inicial de la materia prima.

La determinación de lactosa, glucosa y galactosa mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) permitió dar seguimiento a la transformación del sustrato y a la formación de los productos durante la hidrólisis enzimática. La disminución de lactosa, acompañada por la formación de glucosa y galactosa, confirmó la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* durante el proceso. Este comportamiento coincide con lo reportado por Erich et al. (2012), quienes demostraron la utilidad de la HPLC para el seguimiento de estos compuestos durante la hidrólisis enzimática de la lactosa en leche.

La evolución de la hidrólisis en función del tiempo presentó un comportamiento característico de los procesos enzimáticos, con una mayor velocidad de reacción durante las primeras etapas y una disminución progresiva conforme avanzó el proceso. Este comportamiento puede relacionarse con la disponibilidad inicial del sustrato y con la actividad de la enzima. Conforme transcurrió la reacción, la disminución de la concentración de lactosa y la formación de los productos contribuyeron a modificar la velocidad de conversión. Este comportamiento es consistente con lo reportado por Ladero et al. (2000), Carrara y Rubiolo (1996) y Das et al. (2015), quienes observaron tendencias similares durante la hidrólisis enzimática de lactosa.

El análisis cinético permitió caracterizar el comportamiento de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* durante la hidrólisis de lactosa. Los parámetros determinados mediante análisis paramétrico no lineal por mínimos cuadrados permitieron describir la relación entre la concentración de sustrato y la velocidad de reacción bajo las condiciones experimentales evaluadas. La comparación de estos resultados con otros estudios debe realizarse considerando que los parámetros cinéticos pueden variar de

acuerdo con el origen y concentración de la enzima, el tipo de sustrato, la temperatura, el pH y las condiciones experimentales utilizadas. Ladero et al. (2000) y Carrara y Rubiolo (1996) señalaron que las características del sistema enzimático y las condiciones de operación pueden influir de manera importante en el comportamiento cinético de la hidrólisis de lactosa.

En conjunto, los resultados obtenidos muestran que la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* fue capaz de llevar a cabo la hidrólisis de lactosa presente en leche bovina. El comportamiento observado durante el proceso permitió identificar cambios en la velocidad de reacción conforme avanzó la hidrólisis, lo que evidencia la importancia de considerar las condiciones de operación y la evolución del sistema durante el proceso enzimático.

Finalmente, la caracterización cinética realizada constituye una base para el desarrollo de modelos matemáticos orientados a la descripción de la hidrólisis enzimática de la lactosa. Esta información puede ser útil para estudios posteriores relacionados con la simulación, diseño y escalamiento de procesos enzimáticos, así como para evaluar la posible aplicación de la  $\beta$ -galactosidasa en procesos de hidrólisis de lactosa a mayor escala.

## **Conclusiones**

La leche bovina utilizada en el presente estudio presentó características fisicoquímicas adecuadas de acuerdo con la normativa mexicana, por lo que pudo emplearse como matriz para el desarrollo de los ensayos de hidrólisis enzimática.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) demostró ser una técnica adecuada para el seguimiento de la lactosa y de los productos generados durante la hidrólisis enzimática. La disminución de lactosa y la formación de

glucosa y galactosa permitieron confirmar la actividad catalítica de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae*.

Bajo las condiciones experimentales seleccionadas, la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* permitió llevar a cabo la hidrólisis de la lactosa presente en la leche bovina. El proceso presentó una mayor velocidad de conversión durante las primeras etapas, seguida de una disminución progresiva conforme avanzó la reacción, comportamiento característico de los procesos enzimáticos.

El ajuste de los datos experimentales al modelo de Michaelis–Menten mediante análisis paramétrico no lineal por mínimos cuadrados permitió caracterizar el comportamiento cinético de la  $\beta$ -galactosidasa bajo las condiciones evaluadas. Los resultados obtenidos constituyen una base para la descripción matemática del proceso de hidrólisis enzimática.

En conjunto, el estudio permitió caracterizar el comportamiento de la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* durante la hidrólisis de lactosa en leche bovina. La información generada puede contribuir al desarrollo de modelos matemáticos y servir como referencia para futuras investigaciones relacionadas con el diseño y escalamiento de procesos enzimáticos orientados a la reducción del contenido de lactosa en productos lácteos.

## Bibliografía

- Albuquerque, T. L., Sousa, M. B., Girão Neto, C. A. C., Silva, N. C. G., Gonçalves, L. R. B., Fernandez-Lafuente, R., & Rocha, M. V. P. (2021).  $\beta$ -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, 588–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>
- Arauco Villar, F., Guzmán Estremadoyro, L., Pantoja Esquivel, R., Mayorga Sánchez, N., Unchupaico Payano, I., & Huamán De La Cruz, A. (2025). Assessment of physicochemical, microbial, and hygienic quality of raw cow milk produced in dairy herds from the Peruvian Andes. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 41(1), 115–129. <https://doi.org/10.17163/lgr.n41.2025.08>
- Badui Dergal, S. (2013). *Química de los alimentos* (5.<sup>a</sup> ed.). Pearson Educación.
- Beltrán, L. J., & Acosta, A. (2012). Empleo de una  $\beta$ -galactosidasa comercial de *Kluyveromyces lactis* en la hidrólisis de lactosuero. *Hechos Microbiológicos*, 3(2), 25–35.
- Bobe, G., Lindberg, G. L., Freeman, A. E., & Beitz, D. C. (2007). Short communication: Composition of milk protein and milk fatty acids is stable for cows differing in genetic merit for milk production. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3955–3960. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0099>
- Capdevila, V., Vales, M. E., Gely, C., & Pagano, A. (2020). Análisis de la etapa de hidrólisis de la lactosa del suero lácteo para la obtención de bioetanol. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 11(4), 1–17.
- Carrara, C. R., & Rubiolo, A. C. (1996). Determination of kinetic parameters for free and immobilized  $\beta$ -galactosidase. *Process Biochemistry*, 31(3), 243–248. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)00056-9](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)00056-9)
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the Total Environment*, 445–446, 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>
- Codex Alimentarius Commission. (2011). *Milk and milk products* (2nd ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization. <https://www.fao.org/4/i2085e/i2085e00.pdf>
- Correa, M., Santos, M., Vélez, A., & Albrecht, C. (2019). Deslactosado de permeado de lactosuero: Comparación de método enzimático y en medio subcrítico. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 6(2), 41–49.
- Das, B., Roy, A. P., Bhattacharjee, S., Chakraborty, S., & Bhattacharjee, C. (2015). Lactose hydrolysis by  $\beta$ -galactosidase enzyme: Optimization using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2675–2682. <https://doi.org/10.1016/j.jecoenv.2015.03.024>

- Erich, S., Anzmann, T., & Fischer, L. (2012). Quantification of lactose using ion-pair RP-HPLC during enzymatic lactose hydrolysis of skim milk. *Food Chemistry*, 135(4), 2393–2396. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.059>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, & World Health Organization. (2011). *Milk and milk products* (2nd ed.). FAO.
- Fornera, S., Yazawa, K., & Walde, P. (2011). Spectrophotometric quantification of lactose in solution with a peroxidase-based enzymatic cascade reaction system. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(7), 2307–2310. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5312-9>
- Gómez-Gómez, M., Danglot-Banck, C., & Vega-Franco, L. (2007). Intolerancia transitoria a lactosa: Criterios y procedimientos de diagnóstico. *Revista Mexicana de Pediatría*, 74(1), 24–31.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2024). Anuario estadístico y geográfico por entidad federativa 2024. <https://www.inegi.org.mx>
- Jensen, R. G., Ferris, A. M., & Lammi-Keefe, C. J. (1991). The composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 74, 3228–3243. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78509-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78509-3)
- Ladero, M., Santos, A., & García-Ochoa, F. (2000). Kinetic modeling of lactose hydrolysis with an immobilized  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 583–592. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00244-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00244-1)
- Martínez-Vázquez, S. E., Nogueira de Rojas, J. R., Remes-Troche, J. M., Coss-Adame, E., Rivas-Ruiz, R., & Uscanga-Domínguez, L. F. (2020). Importancia de la intolerancia a la lactosa en individuos con síntomas gastrointestinales. *Revista de Gastroenterología de México*, 85(3), 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2020.03.002>
- Morales, M. S., Paredes, M. R., & Guevara, G. (2014). Evaluación de la calidad fisicoquímica, microbiana e higiénica de la leche de vaca producida por rebaños en los Andes peruanos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(3), 368–375.
- Orten, J. M., & Neuhaus, O. W. (2013). *Principios de bioquímica*. McGraw-Hill Interamericana.
- Pedraza Medina, C. F. (2021). Desarrollo del modelo cinético para la producción de galactooligosacáridos (GOS) a partir del lactosuero usando la enzima  $\beta$ -galactosidasa libre e inmovilizada proveniente de *Aspergillus oryzae* (Tesis de licenciatura, Universidad de La Salle). Repositorio Institucional Universidad de La Salle.
- Procuraduría Federal del Consumidor. (s. f.). Intolerancia a la lactosa. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/profeco/articulos/intolerancia-a-la-lactosa>
- Rosolen, M. D., Gennari, A., Volpato, G., & de Souza, C. F. V. (2015). Lactose hydrolysis in milk and dairy whey using microbial  $\beta$ -galactosidases. *Enzyme Research*, 2015, 806240. <https://doi.org/10.1155/2015/806240>

- Sánchez-Manzanares, J. A., Fernández-Villacañas, M. R., Marín-Iniesta, F., & Laencina, J. (1993). Determination of lactose by an enzymatic method. *Food Chemistry*, 48(3), 315–319. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90016-9](https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90016-9)
- Secretaría de Economía. (2012). NOM-155-SCFI-2012. Leche—Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. <https://dof.gob.mx/normasOficiales/4692/seeco/seeco.htm>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2022). Producción agropecuaria estatal. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/siap>
- Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins—From "gutter-to-gold". *International Dairy Journal*, 18(7), 695–704. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.008>
- Strelow, J., Dewe, W., Iversen, P. W., Brooks, H. B., Radding, J. A., McGee, J., & Weidner, J. (2012). Mechanism of action assays for enzymes. In G. S. Sittampalam, N. P. Coussens, K. Brimacombe, A. Grossman, M. Arkin, D. Auld, C. P. Austin, J. Baell, T. D. Y. Chung, N. J. Dahlin, V. Devanaryan, T. L. Foley, M. Glicksman, J. V. Haas, M. D. Hall, S. D. Hoare, J. Inglese, P. W. Iversen, M. D. Kahl, ... B. Weidner (Eds.), *Assay Guidance Manual*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92001/>
- Yang, S. T., & Okos, M. R. (1989). A new graphical method for determining parameters in Michaelis–Menten-type kinetics for enzymatic lactose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 34, 763–773. <https://doi.org/10.1002/bit.260340606>