



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**ESTABILIDAD QUÍMICA DE LA
 β -LACTOSA EN FUNCIÓN DE
LA HUMEDAD RELATIVA**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

ING. Edgar Enrique Lara Mota

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. Claudia Álvarez Salas

CO-DIRECTOR DE TESIS

DRA. María Zenaida Saavedra Leos



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

**ESTABILIDAD QUÍMICA DE LA
 β -LACTOSA EN FUNCIÓN DE
LA HUMEDAD RELATIVA**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

ING. Edgar Enrique Lara Mota

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. Claudia Álvarez Salas

CO-DIRECTOR DE TESIS

DRA. María Zenaida Saavedra Leos

SINODALES:

PRESIDENTE:

DRA. Claudia Álvarez Salas

SECRETARIO

DRA. María Zenaida Saavedra Leos

VOCAL:

DR. Alejandro Rocha Uribe

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Investigación de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí y en el Laboratorio de Análisis Térmico y Laboratorio de Rayos X del Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) Unidad Monterrey, Nuevo León, México.

Con financiamiento de:

Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), mediante el proyecto No. 1007834

El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 000588, en el Nivel Maestría (Consolidado).

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 1007834



Estabilidad química de la β -lactosa en función de la humedad relativa por Edgar Enrique Lara Mota esta obra está bajo una licencia de [creative commons reconocimiento-nocomercial-sinobraderivada 4.0 internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mis directoras de tesis, la Dra. Claudia Alvarez Salas y la Dra. María Zenaida Saavedra Leos, por la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo. Quiero expresar mi gratitud por todo el apoyo y dedicación durante la realización de mi trabajo, por el tiempo que compartieron conmigo, por cada uno de los momentos en que me guiaron y aconsejaron, para aclarar dudas, pero principalmente me siento agradecido por su confianza. He vivido una gran experiencia durante mi trabajo de maestría y fue en gran medida por la energía que me transmiten, por cultivar en mi el deseo de crecer como persona, así como también, promover mi la inquietud de generar y compartir mis conocimientos con el mundo.

Agradezco al Dr. Alejandro Rocha Uribe por formar parte de mi comité tutorial, por sus atinados comentarios y sugerencias para fortalecer mi proyecto de investigación, de igual manera agradezco por los ánimos brindados para salir adelante y terminar este trabajo a pesar de las circunstancias.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Dedico el presente trabajo mi familia porque es la piedra angular en mi vida. Agradezco a mis padres por ser los primero en apoyar mis sueños y estar para mí en todo momento, gracias por siempre confiar en mí y alentarme en mis proyectos. Gracias, madre por cuidar siempre de mí, por ser mi principal apoyo, por brindarme tus opiniones y consejos. Gracias, padre por estar siempre ahí, por enseñarme valores y respetar a los demás, eres un ejemplo de que se puede salir adelante sin importar lo que vivas. Ambos han sido mi mayor motivación para ser mejor.

Agradezco a mis hermanos y mis sobrinos por todo su amor, sus palabras de aliento y por darme la certeza de que siempre estarán ahí para apoyarme. Hemos vivido tantas aventuras, siempre riendo y cuidándonos, son mi motivación para ser una persona de bien y un ejemplo para ustedes.

También quiero agradecer a las personas que pude conocer durante esta etapa, he tenido la suerte de convivir con personas grandiosas, he aprendido mucho de ustedes y me llevo gratos recuerdos porque han hecho de esta experiencia una aventura extraordinaria. De manera particular quiero agradecer a mis compañeras de generación Citlalli y Paola, por compartir su tiempo, experiencias y conocimiento. En poco tiempo se ganaron mi confianza, amistad y respeto. Las admiro muchísimo, son personas extraordinarias, de las que te encuentras una vez en la vida, sé que en un futuro cercano serán muy exitosas, les deseo lo mejor siempre y le agradezco a dios por haberlas conocido, siempre estaré para ustedes.

Finalmente quiero agradecer a mis compañeros de licenciatura Diana L., Eduardo, Diana Elizabeth, Iliana, Paloma y Andrés, a pesar de no vernos tan seguido hemos mantenido la buena amistad, les agradezco por siempre alentarme a seguir adelante, son personas maravillosas, fueron los primeros en los que pude confiar y siempre les agradeceré por ello. Especialmente agradezco a Claudia por estar siempre conmigo y por compartir tantas experiencias, lo que hemos vivido ha sido de lo mejor en vida, estoy inmensamente agradecido contigo, te admiro como a nadie más, sé que cumplirás todos tus sueños y estaré ahí contigo apoyándote.

INDICE GENERAL

Abstract	1
Abstract traducido al español	2
Resumen.....	3
Introducción.....	3
Objetivos.....	5
Materiales y métodos.....	5
1.1 Materiales.....	5
1.2 Preparación de β-lactosa ($L\beta$).....	6
1.3 Isotermas de sorción.....	6
1.4 Caracterización fisicoquímica de $L\beta$.....	7
1.4.1 Espectroscopia Raman.....	7
1.4.2 Difracción de Rayos X (DRX).....	7
1.4.3 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).....	7
1.4.4 Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDSC)...	7
Resultados y discusión.....	8
Conclusiones	10
Bibliografía.....	11
Reseña del artículo: Cutting-edge advances on the stability and state diagram of pure β-lactose.....	12
ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO.....	13

ABSTRACT

A state diagram is a useful tool to visualize the stability limits of a material subjected to different conditions. In this work, the equilibrium state diagram for pure anhydrous beta lactose ($L\beta$) stability is reported. For this, adsorption isotherms were built at three storage temperatures (15, 25 and 35 ° C) in a wide range of water activity (0.07-0.972). The powders obtained were characterized by Raman spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and modulated differential scanning calorimetry (MDSC). The results showed a high stability of $L\beta$ at the storage temperatures, indicating an adsorption similar to the monolayer content. Conversely, the mutarotation process was triggered by the adsorption of water beyond the monolayer content. Under these conditions, the presence of alpha lactose ($L\alpha$) was observed. Furthermore, the T_g of the $L\beta$ was determined in the range of -15 to -1.4 °C at the storage conditions. The present work contributes to the study of the stability of $L\beta$ to establish its technological application as a carrier agent or in the microencapsulation of active ingredients.

Keywords: β -lactose stability, lactose mutarotation, equilibrium state diagram, thermal characterization, technological application.

Abstract traducido al español

Un diagrama de estado es una herramienta útil para visualizar los límites de estabilidad de un material sometido a diferentes condiciones. En este trabajo, se informa el diagrama de estado de equilibrio para la estabilidad de la lactosa beta anhidra pura ($L\beta$). Para ello, se construyeron isotermas de adsorción a tres temperaturas de almacenamiento (15, 25 y 35 ° C) en un amplio rango de actividad del agua (0,07-0,972). Los polvos obtenidos se caracterizaron mediante espectroscopía Raman, difracción de rayos X (XRD), microscopía electrónica de barrido (SEM) y calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC). Los resultados mostraron una alta estabilidad de $L\beta$ a las temperaturas de almacenamiento, lo que indica una adsorción similar al contenido de monocapa. Por el contrario, el proceso de mutarrotación se desencadenó por la adsorción de agua más allá del contenido de monocapa. En estas condiciones, se observó la presencia de alfa lactosa ($L\alpha$). Además, la T_g de $L\beta$ se determinó en el intervalo de -15 a -1,4 ° C en las condiciones de almacenamiento. El presente trabajo contribuye al estudio de la estabilidad de $L\beta$ para establecer su aplicación tecnológica como agente portador o en la microencapsulación de principios activos.

Palabras clave: Estabilidad de β -lactosa, mutarrotación de lactosa, diagrama de estado de equilibrio, caracterización térmica, aplicación tecnológica

Resumen

Cutting-edge advances on the stability and state diagram of pure β -lactose

Introducción

La lactosa C12-H22-O11 (β -D-galactopiranosil-D-glucopiranososa) está formada por una molécula de galactosa y otra de glucosa, unidas por un enlace glucosídico β (1,4). Al igual que otros azúcares reductores, la lactosa existe parcialmente como una cadena abierta con un grupo aldehído libre, mediante el cual pueden formar un enlace hemiacetal para formar una estructura cíclica. Con la formación del enlace hemiacetal se genera un nuevo centro quiral, con el cual se da origen a dos tipos de isómeros o anómeros: α o β . Las formas α y β de la lactosa son estereoisómeros que difieren en el arreglo espacial del grupo -OH del carbono anomérico de la molécula de glucosa. En solución, el proceso de transformación entre las formas α y β es denominado mutarrotación y, a temperatura ambiente existen en una proporción aproximada de un 63 % en la forma β y 37 % en la forma α (Fox, 2009). La lactosa se encuentra en estado cristalino, amorfo o en una mezcla de ambos. Con relación a la lactosa amorfa, las moléculas no están organizadas en un patrón regular, predominando las formas esféricas lisas con diferentes tamaños. Por otro lado, en la lactosa cristalina se presenta una estructura bien ordenada, con la forma exacta de un cristal liso bien definido el cual depende de las condiciones de cristalización (Walstra y Jenness, 1984).

La lactosa cristalina se encuentra predominantemente en la forma α -lactosa monohidratada ($L\alpha \cdot H_2O$, relación molar de agua a lactosa 1:1), pero también puede existir en 3 formas diferentes de anhidrato polimórfico: β -lactosa anhidra ($L\beta$), α -lactosa anhidra higroscópica inestable ($L\alpha H$) y α -lactosa anhidra estable ($L\alpha S$). La forma cristalina que la lactosa pueda adquirir dependerá de las condiciones de proceso y almacenamiento: humedad relativa (HR), la actividad del agua (a_w) y la temperatura (Allan et al., 2020). Con relación a la estructura cristalina de la $L\alpha \cdot H_2O$, cristaliza en forma de celdas monoclinicas, así mismo, las celdas pueden tener diferentes formas dependiendo de la sobresaturación: cuando la sobresaturación es alta se forman

prismas, en cambio, si la sobresaturación es baja se forman cristales en forma de diamante, pirámide o en forma de hacha de guerra o “tomahawk”. Con relación a la estructura cristalina de $L\beta$, presenta forma de diamante de lados irregulares cuando se cristaliza en agua y prismas con forma de aguja curva cuando se utiliza alcohol en la cristalización (Listiohadi et al. 2005).

β -lactosa anhidra

La industria farmacéutica invierte cantidades considerables de tiempo y dinero en desarrollar y verificar métodos que aseguren la calidad final de sus productos, determinando los componentes y la distribución de estos en la matriz del producto farmacéutico, la cual está constituida por el principio activo o fármaco y los excipientes. La estabilidad de las formulaciones farmacéuticas que utilizan polimorfos de lactosa como excipientes en formas sólidas orales, puede verse afectada por varias razones, entre las más importantes se encuentran: la variación de la cantidad de los diferentes polimorfos, el cambio de la estructura del estado sólido (cristalino, amorfo, amorfo-cristalino) y el apelmazamiento. Estas tres situaciones pueden ocurrir dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura durante el procesamiento y almacenaje del producto (Villafuerte, 2007).

La $L\beta$ se forma cristalizando la lactosa en soluciones saturadas de $L\alpha \cdot H_2O$ a temperaturas superiores a 93.5 °C o en soluciones alcohólicas de sales inorgánicas. Por otro lado, se ha demostrado que este polimorfo también puede producirse, a partir de la $L\alpha \cdot H_2O$, a temperatura ambiente mediante la acción de soluciones deshidratantes, como el metanol, el etanol y la acetona, obteniendo rendimientos superiores al 90%. Sin embargo, independientemente del método utilizado, la obtención de un polvo anomérico completamente libre del otro parece ser un proceso complicado; no obstante, estudios recientes han demostrado que puede obtenerse la β -lactosa totalmente libre del anomero α a temperatura ambiente y, mediante el empleo de soluciones alcohólicas de sales inorgánicas (Lara-Mota et al, 2021).

Existe evidencia de que la composición anomérica afecta las propiedades físicas y funcionales del producto final debido a las diferentes propiedades individuales de estos anómeros. Un ejemplo de la diferencia en las propiedades físicas entre los anómeros es que la solubilidad y la dulzura es diferente siendo mayor para β L que para $L\alpha\cdot H_2O$. Además, la proporción anomérica en una muestra de polvo afecta indirectamente la fluidez y el comportamiento de compactación del producto debido a cambios en la morfología de la superficie del material cristalizado (Beebe y Gilpin, 1983). Por lo tanto, es importante resaltar que después de una extensa búsqueda en la literatura, este es el primer trabajo donde se determinan las condiciones de humedad relativa y temperatura para β -lactosa pura, con el propósito de evaluar su estabilidad y conocer si existe una interconversión hacia otros polimorfos.

Objetivos

- Evaluar el efecto de la humedad relativa y la temperatura de almacenamiento sobre β -lactosa mediante la determinación de las isothermas de sorción.
- Caracterizar espectroscópicamente la β -lactosa mediante Espectroscopia Raman (RS) y Difracción de Rayos X (XRD).
- Caracterizar morfológicamente la β -lactosa mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Caracterizar térmicamente la β -lactosa mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

Materiales y métodos

1.1 Materiales

α -lactosa monohidratada, ($L\alpha\cdot H_2O$, pureza $\geq 99,9\%$) adquirido de Sigma-Aldrich Chemical Co., metanol (MeOH, grado reactivo $\geq 99,8$) de J.T. Baker, hidróxido de sodio (KOH, grado reactivo $\geq 90\%$) de Fermont y agua destilada se emplearon como

reactivos para obtener β -lactosa pura. Las sales inorgánicas utilizadas para someter los polvos de lactosa a diferentes condiciones de humedad fueron de la marca Fermont con una pureza $\geq 90\%$: hidróxido de sodio (NaOH), acetato de potasio (CH₃COOK), cloruro de magnesio (MgCl₂), carbonato de potasio (K₂CO₃), magnesio. Nitrato [Mg (NO₃)₂], Nitrato de Sodio (NaNO₃), Cloruro de Potasio (KCl) y Sulfato de Potasio (K₂SO₄).

1.2 Preparación de β -lactosa (L β)

La obtención del anómero L β puro se realizó a partir de las metodologías descritas por Lara-Mota et al. 2021. Se prepararon soluciones metanólicas de KOH en relación 1:10 que contenían 15 g de L α •H₂O, la solución fue sometida a reflujo por dos horas a una temperatura de 65°C y posteriormente se filtró. Adicionalmente, se realizaron lavados de la muestra con una solución metanólicas de HNO₃ a una concentración de 0.00014 M hasta ajustar a pH neutro. Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente.

1.3 Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción se determinaron mediante el método gravimétrico a 15, 25 y 35 °C. Los microambientes utilizados se seleccionaron en un intervalo de a_w de 0.07 a 0.972. Se equilibraron 7 días a cada temperatura, para posteriormente agregar 2g de L β a las diferentes condiciones de humedad relativa. Se realizó el pesaje de las muestras cada 24 horas hasta alcanzar peso constante con diferencia $\pm 0,001$ g. Se determinó el contenido de humedad de equilibrio y los datos obtenidos se ajustaron al modelo matemático propuesto por Guggenheim, Anderson y Boer (GAB) (Ecuación 1).

$$X_e = \frac{X_m C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde: X_e es el contenido de humedad en el equilibrio (g H₂O/g m.s.), X_m es el contenido de humedad en la monocapa (g H₂O/g m.s.), a_w es la actividad de agua, K y C son las constantes del modelo.

1.4 Caracterización fisicoquímica de L β

1.4.1 Espectroscopia Raman

La caracterización de L β mediante espectroscopia Raman se realizó utilizando un oriba LabRam HR Evolution con un espectrómetro Jobin Yvon y un láser rojo de He-Ne de 633 nm de longitud de onda. Se utilizó un microscopio Olympus BXFM-ILHS con un objetivo de 100x para enfocar el rayo láser en la muestra. Los espectros Raman se recogieron en un rango de 50 a 1500 cm⁻¹.

1.4.2 Difracción de Rayos X (DRX)

El análisis DRX de L β se llevó a cabo en un difractómetro D8 Advance ECO (Bruker, Karlsruhe, Alemania) equipado con radiación Cu-K ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) operado a 45 kV. Las muestras se analizaron en un intervalo de 2θ de 5-50 °, con un tamaño de paso de 0,016° y 20s por paso.

1.4.3 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Para determinar la morfología de las muestras se utilizó un microscopio electrónico de barrido JSM-7401F (JEOL, Japón) operado a 2 kV. Las muestras de L β fueron dispersadas en una película de carbono de doble cara y se cubrieron con una capa de oro mediante para minimizar los efectos de carga.

1.4.4 Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDSC)

El análisis térmico de L β se realizó en un calorímetro diferencial de barrido modulado (MDSC) modelo Q200, (TA Instruments, Lukens Drive, New Castle, DE), equipado con un sistema de refrigeración RCS90. La temperatura y entalpía se calibró utilizando indio como estándar, mientras que para la capacidad calorífica se utilizó zafiro. Como gas de purga se utilizó nitrógeno grado HPLC con un flujo de 100 ml/min, para generar una atmósfera inerte. Fueron pesados 10 mg de L β en celdas de aluminio TzeroTM selladas. Las rampas de calentamiento y enfriamiento del programa térmico se realizaron con una modulación de 40 s, y una amplitud de 1,5 °C. Los termogramas se adquirieron siguiendo el siguiente procedimiento: (i) isotérmico a -50 °C durante 1

minuto, (ii) calentamiento de -50 a 190 °C a 20 °C/min, (iii) isotérmico a 190 °C durante 1 minuto, (iv) enfriamiento de 190 a -50 °C a 10 °C/min, (v) calentamiento de -50 a 300 °C a 10 °C / min. El análisis de los termogramas se realizó mediante el software Universal Analysis 2000, versión 4.4A, para determinar la transición vítrea de enfriamiento (TgC) y la transición vítrea de calentamiento (TgH).

Resultados y discusión

La $L\beta$ se mantuvo estable en un amplio intervalo de a_w , independientemente de la temperatura a la que se sometieron las muestras. El contenido de humedad en las muestras fue constante en un intervalo de a_w de 0.07 a 0.742, absorbiendo en promedio 0.07 g H₂O/g m.s. Cuando la a_w fue superior a 0.742 aumentó de manera exponencial la adsorción de agua, en estas condiciones se vio un efecto de la temperatura en el contenido de humedad final, absorbiendo 2.58, 1.25 y 0.55 g H₂O/g m.s., para 15, 25 y 35 °C, respectivamente. Las isotermas de $L\beta$ presentaron la forma tipo III de isotermas, de acuerdo con la clasificación propuesta por Brunauer, Deming, Deming y Teller en 1940. En la tabla 1 se muestran los parámetros ajustados al modelo de GAB.

Tabla 1. Valores de los parámetros ajustados al modelo de GAB para $L\beta$

Parámetro	Temperatura		
	15 °C	25 °C	35 °C
Xm	0.0387	0.0409	0.0219
C	38098.7591	38093.7514	38093.7514
K	1.0187	0.9987	0.9953
R ²	0.986	0.994	0.995

Después de alcanzar el equilibrio, las muestras de $L\beta$ a las diferentes a_w fueron caracterizadas para evaluar el efecto de la humedad relativa sobre la estabilidad en la estructura cristalina de $L\beta$. Mediante la técnica de espectroscopia Raman se pudieron observar los modos vibracionales característicos de $L\beta$ en un intervalo de a_w de 0.07 a 0.742, sin importar la temperatura a la cual fueron almacenadas las muestras, las

vibraciones se presentaron como un doble pico a 357 cm^{-1} y una doble vibración de baja intensidad a 1100 cm^{-1} . Para valores de a_w por arriba de 0.742, se presentaron vibraciones de alta intensidad a longitudes de onda de 357 y 1086 cm^{-1} correspondientes a $L\alpha\cdot H_2O$. Los resultados obtenidos de DRX mostraron las difracciones características para $L\beta$ a las tres temperaturas evaluadas, en un intervalo de a_w de 0.07 a 0.742, las difracciones se presentaron en un ángulo 2θ a 10.5 , 19 y 21° , a partir de la a_w de 0.742, las muestras presentaron las difracciones distintivas de $L\alpha\cdot H_2O$. El estudio de las muestras mediante SEM confirmó los resultados obtenidos a partir de espectroscopia Raman y DRX, se observa en las micrografías que para el intervalo de a_w de 0.07 a 0.742, sin importar la temperatura evaluada, la morfología de $L\beta$ se conserva con forma de prima de tipo aguja curvo y para valores de a_w superiores a 0.742, la morfología de las muestras cambio por partículas de forma irregular correspondientes a $L\alpha\cdot H_2O$. Estos resultados indican que el punto límite de estabilidad para $L\beta$ se observa a valores de a_w por arriba de 0.742, cuando la a_w supera este valor la molécula de $L\beta$ absorbe una mayor cantidad de agua, favoreciendo el proceso de mutarrotación, así como la interconversión del anómero $L\beta$ a $L\alpha\cdot H_2O$, este proceso no solo afecta la composición química de la molécula, sino que también tiene un efecto en la morfología de las partículas.

El análisis de $L\beta$ mediante la técnica de MDCS se utilizó para determinar los eventos térmicos reversibles e irreversibles. En los termogramas obtenidos se analizaron las transiciones de primer y segundo orden, en el presente trabajo nos enfocamos en las transiciones de segundo orden, las cuales son asociadas al reordenamiento molecular, principalmente en la temperatura de transición vítrea (T_g). El valor de la T_g para $L\beta$ se estableció en promedio como $-12.7\pm 0.43\text{ }^\circ\text{C}$, para las muestras en intervalo de a_w de 0.07 a 0.742, independientemente de la temperatura de almacenamiento. La molécula de $L\beta$ en estado puro presentó un solo evento térmico, mientras que para las muestras almacenadas a una a_w superior a 0.742 se observaron dos eventos térmicos, que están relacionados con la presencia de los anómeros $L\beta$ y $L\alpha\cdot H_2O$. El valor de la T_g para $L\alpha\cdot H_2O$ fue de 80.3 , 63.9 y $79.8\text{ }^\circ\text{C}$, para 15 , 25 y $35\text{ }^\circ\text{C}$ respectivamente.

Los datos obtenidos de las isotermas de sorción y la caracterización fisicoquímica de $L\beta$, se utilizaron para construir un diagrama de estado, a partir de este se determinó visualmente que la a_w de 0.742 delimita la región de estabilidad entre los anómeros $L\beta$ y $L\alpha \cdot H_2O$. Para a_w de 0.742 y 0.848 a 15 y 25 °C, se observó una región en donde coexiste los dos anómeros. Con relación a las muestras sometidas a a_w de 0.742 hasta 0.972 y 35 °C, se determinó como la región de $L\alpha \cdot H_2O$, que se caracteriza como la región en donde las muestras absorbieron una cantidad de agua más allá del contenido de agua en la monocapa. El diagrama de estado corrobora la información obtenida de las diferentes técnicas de caracterización, demostrando la gran estabilidad de $L\beta$, así como también, contribuye a establecer las condiciones de almacenamiento en cuanto a humedad relativa y temperatura donde se mantiene estable este anómero.

Conclusiones

El estudio de las formas cristalinas de la lactosa se ha realizado desde hace años, sin embargo, en la mayoría de los trabajos realizados el principal impedimento es la obtención de sus anómeros 100% puros. En este trabajo se puso a prueba la estabilidad de $L\beta$ en estado puro a diferentes condiciones de humedad relativa y temperatura. Las muestras de $L\beta$ fueron almacenadas en un intervalo de a_w de 0.07 hasta 0.972, a tres diferentes temperaturas 15, 25 y 35 °C, para su posterior caracterización fisicoquímica. Con ayuda de las técnicas de caracterización fue posible determinar que a valores de a_w superiores a 0.742 se llevó a cabo el proceso de mutarrotación, generando la interconversión de anómero $L\beta$ al anómero $L\alpha \cdot H_2O$. El diagrama de estado demostró las regiones donde el anómero $L\beta$ se conservaba estable, así como también, la región donde existe la mezcla de ambos anómeros y la región donde solo existe la presencia de $L\alpha \cdot H_2O$, como resultado del proceso de mutarrotación. Adicionalmente se determinó la T_g de $L\beta$ a partir de MDSC, obteniendo un valor $T_g = -12.7 \pm 0.43$ °C. Este estudio contribuye con la generación de información sobre el comportamiento de $L\beta$ puro sometida a diferentes condiciones de almacenamiento y el efecto de la humedad en la interconversión entre los anómeros de lactosa.

Bibliografía

1. Allan, M. C., Grush, E., & Lisa J. Mauer, L. J. (2020). RH-temperature stability diagram of α - and β -anhydrous and monohydrate lactose crystalline forms. *Food Research International*, 127, 108717. doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108717
2. Beebe, J. M., & Gilpin, R. K. (1983). Determination of α - and β -lactose in dairy products by totaly aqueous liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 146, 255-259. [doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)80613-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)80613-3)
3. Brunauer, S., Deming, LS, Deming, WE y Teller, E. (1940). Sobre una teoría de la adsorción de gases de van der Waals. *Revista de la sociedad química estadounidense*, 62 (7), 1723-1732. <https://doi.org/10.1021/ja01864a025>
4. Fox, P. F. (2009). Lactose: Chemistry and properties. In *Advanced dairy chemistry* (pp. 1-15). Springer, New York, NY.
5. Lara-Mota, E. E., Nicolás-Vázquez, M. I., López-Martínez, L. A., Espinosa-Solis, V., Cruz Alcantar, P., Toxqui-Teran, A., & Saavedra-Leos, M. Z. (2021). Phenomenological study of the synthesis of pure anhydrous β -lactose in alcoholic solution. *Food Chemistry*, 340, 128054. doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128054
6. Listiohadi, Y. D., Hourigan, J. A., Sleigh, R. W., & Steele, R. J. (2005a). Properties of lactose and its caking behaviour. *Australian Journal of Dairy Technology*, 60(1), 33.
7. Villafuerte, R. (2011). Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos The excipients and their functionality in pharmaceutical solid products. *Mexican Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(1870–0195), 18–36.
8. Walstra, P. y Jenness, R. (1984). *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley and Sons, New York, pp. 27-41.

**Reseña del artículo: Cutting-edge advances on the stability and state diagram
of pure β -lactose**

El artículo correspondiente a este trabajo fue enviado para su publicación a una revista científica indexada (ANEXO)

ANEXO: MANUSCRITO ENVIADO

Confirm co-authorship of submission to Carbohydrate Polymers



em.carbpol.0.74a26f.7e252968@editorialmanager.com en

nombre de

Carbohydrate Polymers <em@editorialmanager.com>

Mié 14/07/2021 12:28

Para: EDGAR ENRIQUE LARA MOTA



This is an automated message.

Journal: Carbohydrate Polymers

Title: Cutting-edge advances on the stability and state diagram of pure β -lactose

Corresponding Author: Dr. María Zenaida Saavedra-Leos

Co-Authors: Edgar Lara- Mota, Agro-industrial Engineer; César Cutberto Leyva Porras, Ph.D; Vicente Espinoza-

Solís, Doctor; Claudia Alvares-Salas, Doctor; Alberto Toxqui-Terán, Doctor

Manuscript Number:

Dear Edgar Lara- Mota,

The corresponding author Dr. María Zenaida Saavedra-Leos has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Carbohydrate Polymers.

Submission Title: Cutting-edge advances on the stability and state diagram of pure β -lactose

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link:

<https://www.editorialmanager.com/carbpol/l.asp?i=1288160&l=0XF2MAUO>

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at www.elsevier.com/copyright; and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at zenaidasaavedra200779@gmail.com.

Thank you,

Carbohydrate Polymers

Carbohydrate Polymers

Cutting-edge advances on the stability and state diagram of pure β -lactose

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	β -lactose stability; lactose mutarotation; equilibrium state diagram; thermal characterization; technological application
Corresponding Author:	María Zenaida Saavedra-Leos, Ph.D. Autonomous University of San Luis Potosi Matehuala, MEXICO
First Author:	Edgar Lara- Mota, Agro-industrial Engineer
Order of Authors:	Edgar Lara- Mota, Agro-industrial Engineer César Cutberto Leyva Porras, Ph.D Vicente Espinoza-Solís, Doctor Claudia Alvares-Salas, Doctor Alberto Toxqui-Terán, Doctor María Zenaida Saavedra-Leos, Ph.D.
Abstract:	For this, adsorption isotherms were built at three storage temperatures (15, 25 and 35 ° C) in a wide range of water activity (0.07-0.972). The powders obtained were characterized by Raman spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and modulated differential scanning calorimetry (MDSC). The results showed a high stability of $L\beta$ at the storage temperatures, indicating an adsorption similar to the monolayer content. Conversely, the mutarotation process was triggered by the adsorption of water beyond the monolayer content. Under these conditions, the presence of alpha lactose ($L\alpha$) was observed. Furthermore, the T_g of the $L\beta$ was determined in the range of -15 to -1.4 ° C at the storage conditions. The present work contributes to the study of the stability of $L\beta$ to establish its technological application as a carrier agent or in the microencapsulation of active ingredients.
Suggested Reviewers:	LEIF H SKIBSTED, Doctor 1, Royal Veterinary and Agricultural University: Kobenhavns Universitet Sundhedsvidenskabelige Fakultet is@kvl.dk Lactose stability research Hugo Espinosa-Andrews, Doctor 2, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco: Centro de Investigacion y Asistencia en Tecnologia y Diseno del Estado de Jalisco hespinosa@ciatej.mx Works state diagrams of powdered products J S Schmidt, Doctor 3, University of Illinois at Urbana-Champaign Department of Food Science and Human Nutrition sjs@illinois.edu Works phase diagrams