



# **Revisión: Síntesis Enzimática de Galacto-oligosacáridos a partir de residuos de la industria láctea: Desafíos tecnológicos y oportunidades**

**Leopoldo M. Huerta \***

*Departamento de Biotecnología, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.*

---

## **Resumen**

Los Oligosacáridos no digeribles (NDOs) son carbohidratos de bajo peso molecular y presentan importantes propiedades fisicoquímicas y fisiológicas; contando muchos de ellos con características prebióticas. Dentro de ellos, los galacto-oligosacáridos (GOS) han ganado mayor interés tanto en la mejora de su producción, como en el estudio más a fondo de sus características propias por las que han sido catalogadas como sustancias prebióticas. Los GOS son producidos comercialmente por transgalactosilación de varias fuentes de  $\beta$ -galactosidasas (E.C. 3.2.1.23) a partir de lactosa como sustrato. La lactosa es extraída de la leche, especialmente del suero de quesería por procesos de separación y purificación, siendo posible además de ser utilizada en la producción de una gran variedad de derivados lactosados y de esta manera dar un aprovechamiento al suero, ya que como residuo de la industria láctea se convierte en un problema contaminante para el medio ambiente.

*Keywords:* Prebióticos; Galactooligosacáridos; Lactosa;  $\beta$ -galactosidasa; Suero; Industria Láctea

---

## **1. Introducción:**

Los prebióticos son definidos como ingredientes alimenticios no digeribles que benefician la salud del hospedero estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de un número limitado de bacterias en el colon [1, 2]. El establecimiento de bifidobacterias como microflora presente en el intestino de los bebés ha sido atribuido a la presencia de oligosacáridos de galactosa, los que han sido encontrados en la leche materna [2].

Los galacto-oligosacáridos (GOS) son producidos de lactosa, hecho que ha sido conocido desde hace más de 50 años; luego del descubrimiento de su actividad bifidogénica, los GOS han sido clasificados como ingredientes alimenticios prebióticos, tomando su producción industrial un mayor interés comercial [6, 10]. Estas características son atribuidas principalmente a los 4'- y 6'-galactosil-lactosa (GOS-3) y algunos oligosacáridos de peso molecular mayor (GOS-4 y GOS-5) debido a que se ha demostrado que son metabolizados completamente por la flora microbiana presente en el colon [11, 15, 18, 19].

La enzima utilizada para la producción de GOS es la  $\beta$ -galactosidasa, la cual es una glicosidasa que en un proceso convencional podrá catalizar una reacción de hidrólisis, pero bajo condiciones adecuadas de reacción tales como temperatura, pH, elevadas concentraciones de sustrato y la fuente enzimática, producirá GOS de diferente tamaño por transgalactosilación [25, 26, 27].

Algunas técnicas han sido desarrolladas para la inmovilización de la  $\beta$ -galactosidasa, obteniéndose productividades relativamente bajas pero el reuso del catalizador lo hace atractivo para ser usado en la industria alimentaria [28, 29].

Es importante resaltar que este producto de valor agregado es producido de lactosa, sustancia que es extraída de la leche, especialmente del suero de quesería, siendo posible además utilizar el suero, en la producción de una gran variedad de derivados lactosados y de esta manera darle un aprovechamiento, ya que como residuo de la industria láctea se convierte en un problema contaminante para el medio ambiente [31, 32, 34].

La presente revisión buscará abordar la síntesis de los galacto-oligosacáridos, compuestos de características prebióticas importantes, utilizando  $\beta$ -galactosidasa, enzima de fácil disponibilidad y ampliamente estudiada, a partir de lactosa como sustrato la cual es extraída del suero de quesería.

## 2. Prebióticos:

Son compuestos definidos como sustancias no digeribles (fibras dietarias) que muestran algunos efectos biológicos positivos en humanos, tales como estimulación selectiva del crecimiento o bioactividad de un número limitado de microorganismos benéficos presentes o terapéuticamente introducidos en el intestino, mejorando de esta manera la calidad de éstos. Los prebióticos resisten la fermentación por la micro flora no benéfica a lo largo del intestino (contrario a las fibras dietarias) [1, 2].

Dentro de las numerosas bacterias anaerobias presentes en el intestino, las del género *Bifidobacteria* y *Lactobacilli* son las que más utilizan los prebióticos. Además de ello, principalmente las bifidobacterias inhiben el crecimiento de bacterias putrefactivas (*Clostridium perfringens*) y patogénicas (*E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* y *Shigella*) presentes [3, 4, 5].

Bajo el criterio de seleccionar un ingrediente alimenticio con características prebióticas, Gibson et al. [1] establecieron algunos criterios que estos compuestos deberían cumplir:

1. Ser resistente a los ácidos gástricos, a la hidrólisis por enzimas presentes en el tracto gastrointestinal y a la absorción.
2. Ser fermentable por la microflora intestinal.
3. Estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de las bacterias intestinales asociado a la salud y el bienestar tales como *Bifidobacteria* y *Lactobacilli*.

Dentro de este marco los prebióticos que cumplen dicho requerimiento son: Los fructo-oligosacáridos, los galacto-oligosacáridos y la lactulosa [1].

Tradicionalmente los oligosacáridos son definidos como polímeros de monosacáridos con un grado de polimerización entre 2 y 10; cuentan además con características prebióticas debido a que no son cariogénicos, no digeribles, bajo dulzor y brindan una baja energía calórica; estimulando el crecimiento y desarrollo de la microflora gastrointestinal también llamada probiótica [6, 7].

Los carbohidratos no digeribles (NDOs) pueden ser obtenidos de diversas fuentes o procesos industriales [8]:

- Fuentes naturales: ej. Fructanos (inulina), Oligosacáridos de la Soya como Rafinosa y Estequiosa por extracción directa del concentrado de Soya.
- Hidrólisis de polisacáridos, que puede ser química o enzimática (e.j. Xilo-oligosacáridos e Isomalto-oligosacáridos).
- Síntesis química y enzimática, esta última por transglicosilación y/o hidrólisis inversa usando hidrolasas y/o glicosiltransferasas a partir de sustratos como disacáridos (e.j. lactosacarosa y galacto-oligosacáridos).

### **3. Galacto-oligosacaridos (GOS):**

El establecimiento de bífidobacterias como microflora presente en el intestino de los bebés ha sido atribuido a la presencia de oligosacáridos que contienen galactosa, los que han sido encontrados en la leche materna [2].

Los GOS son clasificados como carbohidratos no digeribles (NDOs) los cuales resisten las enzimas digestivas gastrointestinales; son además solubles, actuando de esta manera como fibra dietaria soluble (SDF). Varios estudios demuestran que estos oligosacáridos pueden aliviar problemas de constipación, mejorar la absorción de minerales tales como calcio y magnesio y retardar el desarrollo de cáncer de colon en modelos probados de ratas. Estos pueden ser aislados también en forma natural del grano de soya [9].

Luego del descubrimiento de su actividad bifidogénica, los GOS han sido clasificados como ingredientes alimenticios prebióticos, tomando su producción industrial un mayor interés comercial. Los GOS son principalmente formados por síntesis enzimática a partir de lactosa como sustrato utilizando  $\beta$ -galactosidasa (E.C.3.2.1.23) para producir varios oligómeros de longitudes de cadena diferentes [10]. Por lo general tienen un grado de polimerización entre 2 y 10 con una molécula de glucosa terminal.

Los GOS han sido reconocidos como un aditivo alimentario GRAS (Generally Recognized as Safe) debido a que son componentes de la leche materna y yogures tradicionales y son producidos de la lactosa ingerida por las bacterias residentes en el intestino. Según estudios realizados no se ha demostrado ninguna toxicidad ni mutagenicidad. El único efecto adverso conocido hasta ahora es la diarrea transitoria que ocurre cuando se consume un exceso de GOS; la cantidad de GOS que no induce este tipo de diarrea es de aproximadamente 0,3-0,4 g/kg de peso corporal, o cerca de 20g por persona [11].

En la actualidad existen productos comerciales en forma de sólido o líquido que contienen GOS en su formulación, siendo la gran mayoría producidos en Japón y algunos en Holanda, a partir de lactosa como sustrato [2, 4]:

Snow Brand F-plus, alimento para bebés, producido por Snow Brand Milk Products.

Fiber & Oligo, refresco producido por Wakodo.

Be-feel, Oligomate 55 y TOS-100; derivados lácteos producidos por Yakult Honsha.

C-100 y Seni & Oligo, bebida producida por Takeda.

Umer, producto lácteo fermentado producido por Coberco/Netherlands.  
Elix'or, Vivinal, TOS-Syrup, sólidos y bebidas producidas por Borculo Whey Products, Netherlands, Domo Ingredients/Friesland.

Estos productos tienen alta pureza en cuanto a su contenido, siendo los diversos tipos de GOS presentes un promedio entre el 55 al 60%, lactosa 20%, glucosa 20% y galactosa entre el 1 al 5%. Dentro de este contenido en GOS predomina en mayor cantidad los 4'-galactosil-lactosa (GOS-3) incluyendo algunos disacáridos no lactosados como alolactosa y galactobiosa; estos productos son relativamente dulces, teniendo un equivalente al 35% del dulzor de la sacarosa. Las soluciones de Elix'or y Oligomate 55 son ligeramente más viscosas que un jarabe de fructosa (HFCS) y tienen una presión osmótica similar a la solución de sacarosa a igual concentración [11].

En 1992, Yakult Honsha Co. (Tokio, Japón) produjo 6500 ton/año de GOS usando  $\beta$ -galactosidasa de *A. oryzae* para formulaciones en alimento para bebés. De igual forma, Snow Brand Milk Company (Tokio, Japón) adicionó GOS-3 a su formulación destinada a la alimentación para niños.

Respecto a sus aplicaciones en alimentos, estas sustancias son totalmente permitidas en formulaciones infantiles y bebidas para deportistas en diferentes países. Además son empleados en productos lácteos, bebidas fermentadas, panadería y repostería entre otros. A diferencia de los fructo-oligosacáridos, inulina y otros oligosacáridos, los GOS son estables a pH ácido (pH entre 2.5 a 8) y temperaturas de procesamiento de pasteurización y horneado [12].

Como ya se mencionó, son los países del extremo oriente los que vienen produciendo y consumiendo una variedad considerable de oligosacáridos seguido cercanamente por Europa y los EEUU; según un estudio realizado por Nakakuki [13], se observó que en Japón la demanda de estos para el año 2002 se incrementó a 70000 toneladas anuales, siendo la Trehalosa y los Isomalto-oligosacáridos los de mayor consumo, 20000 y 15000 ton/año respectivamente; encontrándose para los galacto-oligosacáridos un consumo de 8500 ton/año.

Los GOS pueden ser producidos de la lactosa encontrada en la leche, siendo ésta la materia prima principal para la producción de este producto comercial, que es por lo general obtenida del suero [14].

El suero es formado en gran cantidad como un subproducto de la industria láctea, y además debido al aumento de la producción de queso hay una necesidad de métodos más eficientes y prácticos para reducir esta sustancia catalogada como desecho. Como una alternativa se podría utilizar éste en la producción de GOS.

Como ya se mencionó, los GOS son producidos por  $\beta$ -galactosidasas, glicosidasas que a condiciones apropiadas de reacción tienen actividades de transgalactosilación, la cual origina la formación de cadenas 4' o 6'-galactosil-lactosa, entre cadenas más largas de oligosacáridos y algunos disacáridos transgalactosilados [15].

La cantidad y la naturaleza de los GOS dependerán del origen de la enzima, concentración y naturaleza del sustrato, grado de conversión de sustrato y las condiciones de reacción [16, 17].

Los enlaces encontrados son  $\beta$  (1,2),  $\beta$  (1,3) y  $\beta$  (1,4) bifurcados de los residuos de glucosa, mientras los enlaces  $\beta$  (1,4) y  $\beta$  (1,6) están presentes en el fragmento galactano. Esta variabilidad en acoplamientos glicosídicos puede ser uno de los motivos por los cuales, los GOS poseen una gran resistencia a la digestión ácida [6]. La cantidad de GOS producida de lactosa también ha mostrado depender de las concentraciones iniciales de ésta en la mezcla de reacción, y no sobre la concentración de  $\beta$ -galactosidasa. Los productos obtenidos pueden ser purificados en carbón activado, filtrados y concentrados antes de la adición a productos alimenticios.

El *Bif. adolescentis*, una de las cepas bacterianas predominantes en el colon puede degradar y metabolizar GOS-3 y de un mayor peso molecular, contrariamente a ello el *Bif. infantis* y *L. acidophilus* pueden sólo utilizar los GOS-3 [6, 11]. Un modo de aumentar la especificidad de los GOS producidos puede ser utilizando  $\beta$ -GOS sintetizados por bifidobacterias, esto podría aumentar el número de los organismos específicos. Rabiou et al. [18] demostraron que los perfiles de oligosacáridos de cinco especies de bifidobacterias (*Bif. angulatum*, *Bif. infantis*, *Bif. pseudolongum*, *Bif. angulatum*, *Bif. bifidum*), a excepción de *Bif. adolescentis*, mostraron índices de crecimiento aumentados sobre GOS por su propia  $\beta$ -galactosidasa, presentando mayor afinidad por GOS de un grado de polimerización menor (2 a 3).

De Vuyst et al. [19] demostraron que *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. johnsonii*, *L. gasseri*, *L. paracasei* y *L. plantarum* pueden metabolizar GOS-3 al igual que lactulosa.

#### 4. Síntesis Enzimática de GOS:

En cuanto al origen de la enzima se sabe que la  $\beta$ -galactosidasa producirá diferentes tamaños o tipos de GOS, la enzima de *B. circulans* producirá GOS-2 y GOS-3 y en menor cantidad GOS-4 y GOS-5; de *Kluyveromyces spp.* mayor GOS-2 y algunos GOS-3, mientras que de *A. oryzae* mayor cantidad de GOS-3 y una pequeña cantidad de GOS-4, siendo esta última muy utilizada en alimentos y de bajo costo [20, 21]. Se sabe además que existen muchas otras fuentes enzimáticas las cuales no han sido aprobadas aún para uso alimenticio, son muy costosas o no existen en cantidades suficientes [15, 22, 23].

El tipo de control que toma mayor importancia durante la reacción, es el cinético, debido a las características propias de la enzima, la cual tendrá mucha mayor afinidad por un grupo hidroxilo de un azúcar no protegido (lactosa) el que se unirá al donador glicósilo formado previamente (complejo galactosil-enzima) (reacción de quimioselectividad); aunque la selectividad no es absoluta ni predecible, la síntesis controlada cinéticamente sería más exitosa que la controlada termodinámicamente, ya que en esta última, para efectos de cambiar la dirección de la reacción hacia la síntesis se deberá recurrir al uso de solventes apolares donde los sustratos y productos de la reacción son escasamente solubles [24].

En cuanto a la temperatura de reacción, la cantidad de enzima a utilizar y el valor de pH de reacción, serán parámetros que no mejorarán la cantidad de GOS que se podrá producir en la reacción, pero serán factores que influenciarán en el aumento de la

velocidad de reacción; por consiguiente se producirá un tipo de GOS a una conversión de lactosa definida en el menor tiempo posible. Se debe tener en cuenta además que para una conversión de lactosa entre el 40 y 60% se llegaría a obtener la máxima cantidad posible de GOS debido a que luego de ello, la reacción de transgalactosilación disminuiría comenzando la hidrólisis de los oligosacáridos formados [25, 26].

Se ha demostrado que la cantidad de GOS generado estará relacionado directamente con la cantidad de lactosa presente al inicio de la reacción de transgalactosilación, se ha visto que concentraciones iguales o superiores al 20% mejorarían la producción de GOS, la que sería entre el 30 y 40%, correspondiendo al porcentaje de GOS producido a partir de una cantidad de lactosa inicial [3, 27].

Algunas técnicas han sido desarrolladas para la inmovilización de  $\beta$ -galactosidasa lo que incluye adsorción, unión covalente, entrapamiento y encapsulación; en general se han utilizado soportes tales como quitosano, celulosa, soportes de agarosa, agregados entrecruzados, resinas de intercambio iónico (membranas de adsorción), o del tipo fibroso como fibras de algodón, que conducen a la formación de diferentes tipos de GOS.

En la industria alimentaria el proceso más ampliamente utilizado para la síntesis enzimática de GOS es el discontinuo, el cual utiliza la enzima inmovilizada en suspensión, en condiciones estériles y de fácil control de proceso. En cuanto a procesos continuos se pueden obtener productos altamente puros pero existe la desventaja en cuanto a la dificultad en la limpieza del reactor debido al uso de concentraciones altas de sustrato [28].

Se ha observado que el tipo de inmovilización influirá directamente con el comportamiento de esta enzima en particular; en un estudio desarrollado por Gaur et al. [29] observaron que la  $\beta$ -galactosidasa de *A. oryzae* bajo la forma de agregado entrecruzado tendrá marcada tendencia a la hidrólisis que a la transgalactosilación, no observándose esto con la inmovilización covalente en quitosano.

## **5. Suero y Aplicaciones:**

El suero viene a ser un subproducto de la elaboración del queso y el procesamiento de la caseína en la industria láctea. Existen dos tipos; el suero dulce (pH 6 a 7) resultado de la fabricación de los quesos maduros tales como el Cheddar, y el suero ácido (pH 3 a 4) resultado de la producción de quesos frescos tales como el cottage [30].

La composición del suero varía considerablemente dependiendo del origen de la leche y el proceso de manufactura que lo envuelve, de ello dependerá su uso. Pero en general, el suero está compuesto principalmente por agua (cerca del 93%), lactosa (4,9 a 5,1%), proteína soluble (0,9 a 1 %), minerales (0,5 a 0,7%), lípidos (0,1 a 0,3%) y ácido láctico (0 a 0,2%). Hacer 1 kg de queso, generará aproximadamente 9 kg de suero, la producción mundial de queso genera más de  $145 \times 10^6$  ton de suero líquido al año del cual  $6 \times 10^6$  ton es lactosa [31].

Las industrias lácteas han visto como solución en el transporte y manejo del suero evaporar la gran cantidad de agua presente y/o por un proceso de ultrafiltración (UF) separar la mayor cantidad de sólidos posibles, en este caso el retentato o la proteína de suero concentrado (WPC) del permeado, el cual es un subproducto que contiene una pequeña cantidad de proteínas pero es rico en lactosa, minerales y vitaminas; haciéndolo potencialmente más manejable para posteriores procesos. En la tabla 1 se muestra la composición del suero dulce y ácido y los permeados.

Tabla 1. Composición del suero y los sueros permeados. Adaptado de Yang y Silva, [32].

	<b>Humedad (%)</b>	<b>Proteína Cruda (%)</b>	<b>Lactosa (%)</b>	<b>Ac. Láctico (%)</b>	<b>Lípidos (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>
<b>Suero Dulce</b>	3,2	12,8 – 15,2	74 - 81	1,8 - 2,2	1,1	8,4
<b>Suero Ácido</b>	3,5	9,9 – 15,5	65 - 80	7,0-10,0	0,5	7 - 10,8
<b>Permeado de suero dulce</b>	3,2	0,2	86	1,8	0,5	8,8
<b>Permeado de suero ácido</b>	3,5	0,3	74	7,5	0,3	8,4 - 9,7

(%) referido a materia seca.

La lactosa es el único disacárido presente y es recuperada directamente de la leche; investigaciones sugieren que la lactosa promovería el crecimiento de las bacterias benéficas del colon. Entre los minerales presentes se encuentran, el sodio, potasio, calcio, magnesio e iones cloruro, citrato y fosfato. Los lípidos presentes incluyen glicéridos, fosfolípidos y lipoproteínas.

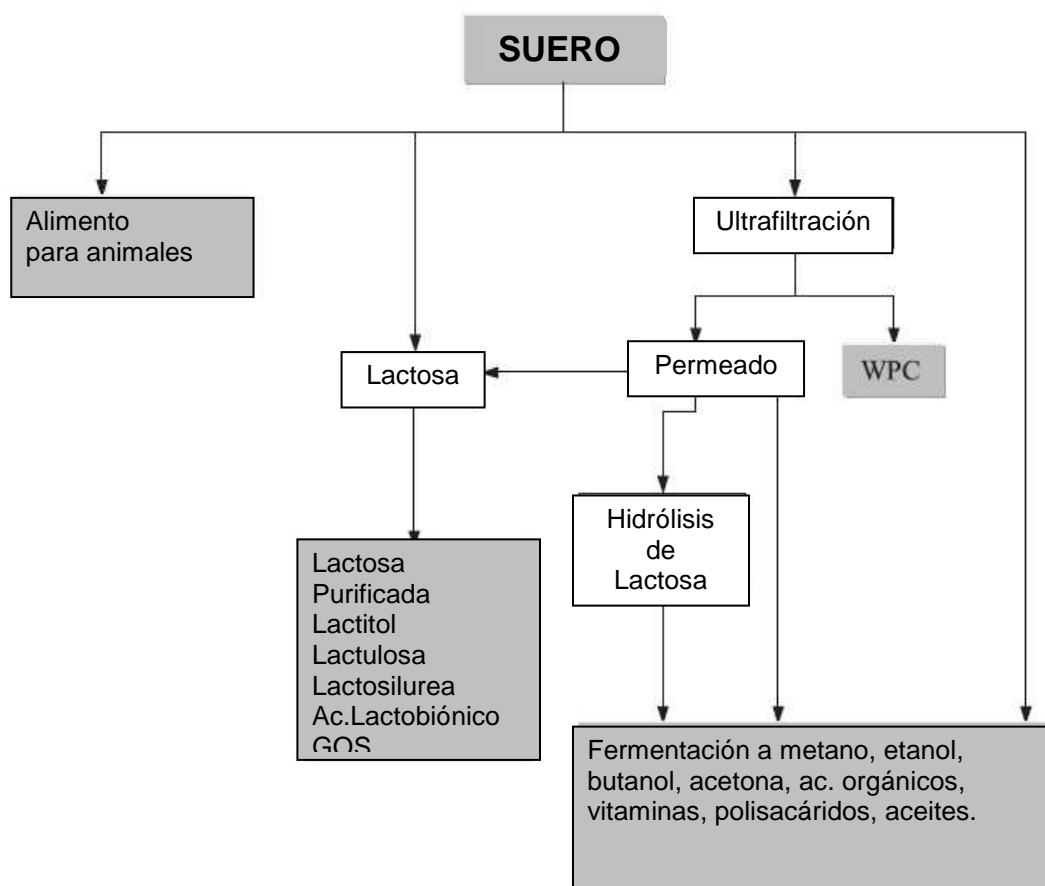
El suero ácido contiene una alta concentración de minerales, mayor que el suero dulce debido a la disolución del fosfato de calcio coloidal componente de las miscelas de caseína durante la acidificación y/o el cultivo de leche con bacterias ácido lácticas.

En cuanto al contenido de proteínas, estas tienen un beneficio nutricional por lo que pueden ser usados como ingredientes alimenticios; la alfa-lactoalbúmina segunda proteína del suero más abundante presente tiene un alto contenido de triptófano, precursor de la vitamina niacina, la cual funciona como coenzima en la síntesis de lípidos y la utilización de carbohidratos; además funciona mejorando la tonicidad de la piel y la función digestiva [31].

En general las proteínas del suero son recuperadas por ultrafiltración y la lactosa es recuperada por procesos de concentración posteriores como evaporación, cristalización, separación, refinación, sequedad y molienda. En algunas industrias lecheras se utiliza la osmosis inversa para preconcentrar el suero permeado luego de la ultrafiltración a un porcentaje de sólidos de 12 a 15%. No toda la lactosa presente en el suero permeado puede ser económicamente recuperado por cristalización; cerca del 20 al 40% de la lactosa original esta contenida conjuntamente con las sales en el licor madre, que generalmente no tiene ningún empleo industrial debido a su alto contenido en sal. Tal como se muestra en la figura 1, en un proceso alternativo debe separarse estos minerales de la lactosa del suero permeado por nanofiltración y por intercambio iónico antes de la dispersión a sequedad; de esta manera se recuperaría una cantidad de lactosa de mayor

pureza, la que podría ser utilizada en la producción de derivados lactosados y además se generaría muy poco efluente en este proceso [32].

Mientras que el porcentaje de lactosa remanente rica en sales será utilizada en forma hidrolizada en fermentación y producción de otras sustancias de interés.



**Fig. 1.** Utilización del suero (WPC: proteína concentrada de suero). Adaptado de Audic et al. [31].

En cuanto a la composición de la proteína concentrada de suero (WPC), ésta presentará aproximadamente del 75 al 78 % de proteína, una humedad del 4,6%, lípidos 6,6%, cenizas 3,3% y carbohidratos 7,2% [33].

En la actualidad se sabe de diversos procesos enfocados al aprovechamiento del suero, ya que como residuo de la industria láctea se convierte en un problema contaminante para el medio ambiente, siendo el principal responsable de la elevada demanda bioquímica de oxígeno (DBO) (entre 35 a 45 mg/L de suero) como efluente o permeado de la ultrafiltración [34].

Como ya se mencionó la lactosa es el único disacárido presente en el suero; este es formado por la unión  $\beta$  (1,4) glucosa-galactosa (4-O- $\beta$ -D-galactopiranosil- $\beta$ -D-glucopiranos), con una solubilidad en agua del 25% p/v a 25°C; se encuentra en la leche (4,8 – 5,2%). El suero contiene más de la mitad de los sólidos originales de la leche, representando la lactosa el 70-80 % de los sólidos totales.

La aplicación de la lactosa en alimentos es limitada, ya que existe un gran número de personas que muestran intolerancia, produciendo en algunos casos deshidratación, pobre



absorción del calcio, diarreas, flatulencia. Su baja solubilidad y la tendencia a cristalizar en agua a bajas temperaturas la convierten en un problema como parte de la formulación de algunos derivados lácteos tales como leche condensada, leche evaporada, helados, etc [35].

Viendo ello, se buscó hidrolizar la lactosa utilizando la enzima  $\beta$ -galactosidasa y de esta manera extender el mercado de venta de productos lácteos que en una primera instancia se vieron limitadas.

En la actualidad existen cuatro fuentes enzimáticas disponibles en el mercado; las provenientes de hongos filamentosos (*A. oryzae* y *A. niger*), y de levaduras (*Kluyveromyces marxianus var lactis* y *Kluyveromyces marxianus var marxianus*), teniendo las fungales un pH óptimo de 2,5 a 4,5 y de 6,0 a 7,0 para las levaduras. Las enzimas fungales son particularmente adecuadas para ser usadas en suero ácido, pero presentan inhibición por galactosa mucho mayor que las de levadura que son adecuadas para hidrolizar sueros dulces; por ello no pueden alcanzar el grado de hidrólisis obtenido con estas últimas; e.j. la  $\beta$ -galactosidasa de *Aspergillus oryzae* posee un valor de pH óptimo ácido (4,5) y una temperatura óptima de reacción entre 50° y 55°C, siendo apta en la hidrólisis de suero ácido y permeado de suero [34].

Paralelamente a ello existe un gran interés en darle un uso no alimenticio, siendo entonces utilizada como excipiente en la formulación de tabletas en la industria farmacéutica, como sustrato para la fermentación de varios productos tales como metano, etanol, ácidos orgánicos, exopolisacáridos como goma xantana, entre otros. Se sabe además que puede ser utilizada como sustrato en la síntesis de derivados alimenticios como lactitol, lactulosa, lactosacarosa y galactooligosacáridos (GOS), estos últimos con propiedades prebióticas, lo que sería su aplicación más novedosa y la que esta teniendo en los últimos años mayor interés [31].

En la tabla 2 se observa el potencial que tienen algunos productos derivados del suero permeado a partir de 50000 kg el cual contiene 5% de lactosa:

Tabla 2. Comparación de varios productos derivados del suero permeado. Adaptado de Yang y Silva [32].

Producto	Cantidad	Precio Unitario (\$)	Valor (\$)	Uso	Mercado y producción
Lactosa	1500 kg	0,44 /kg	660	Alimentos, Ind. Farmacéutica	95000 ton/año
Metano	780 m <sup>3</sup>	0,176/m <sup>3</sup>	138	Energía	En uso
Etanol	1340 L	0,40/L	536	Combustible	Amplio
Ac. Láctico	2250 kg	2,2/kg	4950	Alimentos, Ind. Química	30 x 10 <sup>6</sup> kg/año
Goma Xántana	1750 kg	11/kg	19250	Espesante de alimentos	20 x 10 <sup>6</sup> kg/año
GOS	1250 kg	17,6/kg	22000	Alimentos, Ind. Farmacéutica	6000 ton/año

Es interesante ver como luego de un proceso de recuperación de lactosa a partir del permeado de suero, esta podría ser vendida en \$ 0,44 el kilo, pero si esta lactosa es aún procesada por un tratamiento posterior podría obtenerse derivados lactosados y ser vendidos entre \$ 2,2 y \$ 17,6 el kilo.

Dichos productos pueden ser producidos en mayor cantidad si se utiliza un permeado de suero concentrado, luego que éste haya pasado por un proceso de evaporación, eliminándose una cantidad de agua considerable y de esta manera exista una cantidad de sólidos totales entre un 20-25%, teniendo en cuenta que procesos agresivos podrían afectar la estabilidad de la lactosa presente [36].

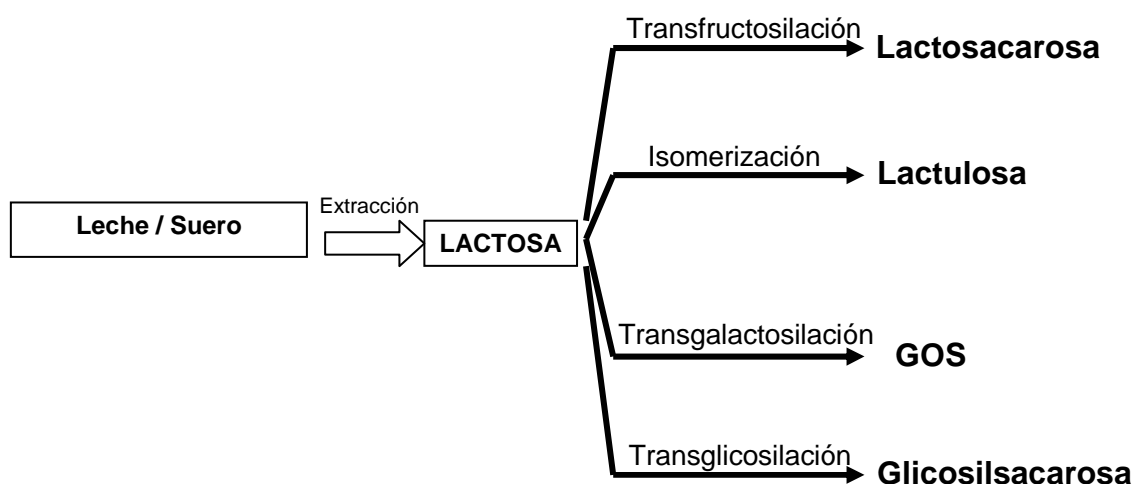
Respecto a los derivados lactosados mencionados anteriormente; en la figura 2 se muestran aquellos de gran interés, mencionándose a continuación algunas características propias de cada uno:

Lactulosa, es un isómero de la lactosa en el cual el aldehído de glucosa es convertido a una cetona (fructosa); ésta no está presente en la leche pero sí en el suero. El jarabe de lactulosa es usado ampliamente por la industria farmacéutica en Japón, Estados Unidos y algunos otros países. Tiene propiedades prebióticas valoradas y su producción anual va en aumento cada año.

Lactosacarosa, es un trisacárido producido utilizando lactosa como sustrato y sacarosa por una reacción de transfructosilación de una  $\beta$ -fructofuranosidasa.

Glicosilacarosa, es un trisacárido producido de disacáridos de maltosa y sacarosa por una reacción de transglicosilación catalizada por una ciclodextrin glucanotransferasa.

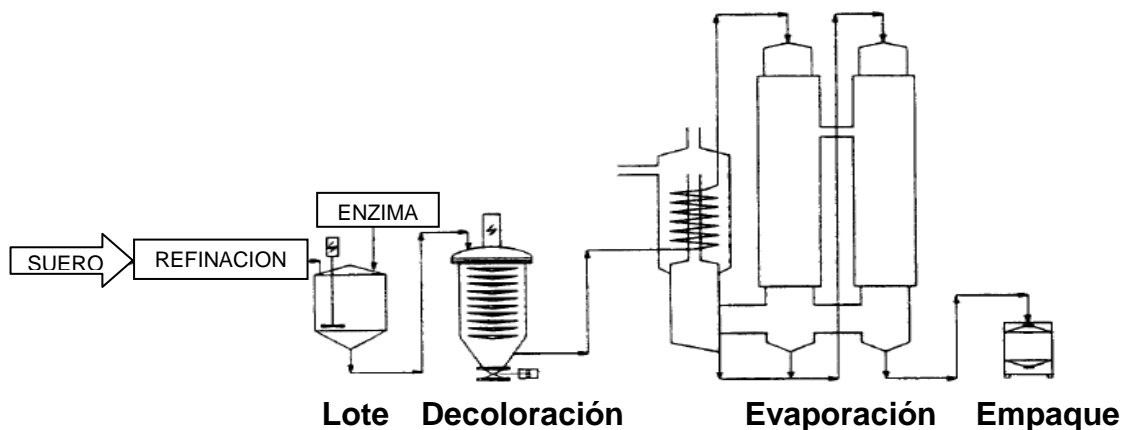
GOS, son oligosacáridos formados durante la hidrólisis de lactosa por una reacción de transgalactosilación en la cual la enzima transfiere la galactosa del medio hacia un grupo hidroxilo aceptor el cual puede ser galactosa o lactosa [37, 38].



**Fig. 2.** Esquema de producción de distintos oligosacáridos a partir de lactosa extraída de suero y/o leche. Adaptado de Sako et al. [11].

A partir de lo revisado, se sabe que muchas de las empresas productoras de GOS utilizan directamente el suero en un proceso de refinación para luego ser tratadas en un proceso discontinuo con la enzima  $\beta$ -galactosidasa y por posteriores pasos de decoloración, desmineralización, filtración y evaporación obtener un producto concentrado de GOS que puede ser procesado en forma de jarabe o secado en forma de polvo. En la figura 3 se observa un proceso de manufactura llevado a cabo por Borculo

Whey Products para la producción de una formulación llamada Elix'or, con un contenido en galactooligosacáridos entre el 55 y 60 %, y cantidades pequeñas de lactosa, glucosa y galactosa. En dicho proceso se utilizó lactosa como sustrato a partir de suero y  $\beta$ -galactosidasa de *Bacillus circulans* ATCC 4516.



**Fig. 3.** Proceso de manufactura de GOS a partir de suero de leche.

## 6. Conclusiones:

Según lo revisado, existe suficiente referencia bibliográfica que avala las propiedades beneficiosas de los galacto-oligosacáridos en la salud de los consumidores, por ello el interés en su estudio, los cuales podrán ser utilizados en alimentos y compuestos farmacéuticos lo que irá en aumento en los próximos años.

En mundo globalizado, el ser humano vive constantemente activo y expuesto a un desgaste físico diario, por ello dado el poco tiempo que se tiene para alimentarse y reponer la energía busca consumir productos agradables y saludables que tengan un bajo aporte calórico, fáciles de obtener, sin contraindicaciones y aptos para cualquier edad, haciéndose el consumo de prebióticos una alternativa aceptada en países desarrollados y poco a poco en aquellos en vías de desarrollo.

La reacción de transgalactosilación ha seguido para la síntesis de GOS se lleva a cabo a altas concentraciones de sustrato lo cual favorecería un control cinético y se dejaría de lado el uso de solventes orgánicos, los cuales no serían adecuados para el medio ambiente.

El suero como un subproducto de la industria láctea, podría convertirse en un problema contaminante dada su alta producción y en muchos casos su poco direccionamiento, pero conociendo las distintas formas de aprovechar este compuesto, sería necesario preocuparse por mejorar aquellos procesos que producirían la diversa gama de productos lactosados con valor agregado mencionados en esta revisión, especialmente la producción de galacto-oligosacáridos por sus características prebióticas comentadas.

Los avances en la tecnología buscarán mejorar procesos de producción en el downstream ya sea en los sistemas de filtración y recuperación de lactosa con un alto

grado de pureza; y en establecer sistemas continuos de producción de GOS por membranas que separen los oligosacáridos formados del medio que aún será rico en lactosa, el cual podría ser ingresado nuevamente al reactor de síntesis. Paralelamente a ello los avances en ingeniería genética mejorarán algunas características de las enzimas en cuanto a su regio y estéreo especificidad en la síntesis de oligosacáridos a gran escala; que puedan sintetizar y no hidrolizar (glicosintasas).

## 7. Referencias:

- [1] Gibson, G., Probert, H., Van Loo, J., Rastall, R. and Roberfroid, M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 2004; 17: 259–275.
- [2] Crittenden, R.G., Playne, M.J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology* 1996; 7: 353 – 361.
- [3] Iwasaki, K., Nakajima, M., Nakao, S. Galacto-oligosaccharide Production from Lactose by an Enzymic Batch Reaction Using  $\beta$ -Galactosidase. *Process Biochem.* 1996; 31 (1): 69 – 76.
- [4] Grizard, D., Barthomeuf, C. Review: Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reprod. Nutr. Dev.* 1999; 39: 563 – 588.
- [5] Mussatto, S., Mancilha, I. Non-digestible oligosaccharides: A review, *Carbohydrate Polymers.* 2007; 68: 587 – 597.
- [6] Barreteau, H., Delattre, C., Michaud, P. Production of Oligosaccharides as Promising New Food Additive Generation. *Food Technol Biotechnol* 2006; 44 (3): 323-333.
- [7] Otaka, K. Review: Functional Oligosaccharide and Its New Aspect as Immune Modulation. *J.Biol Macromol* 2006; 6 (1): 3 – 9.
- [8] Swennen, K., Courtin, C., Delcour, J. Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotics Properties. *Critical Reviews in Food Sci Nutrition* 2006; 46: 459 – 471.
- [9] Meyer PD, Tungland BC. Fate of Fiber in the Gastrointestinal Tract and Consequences. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2002; 3: 78-92.
- [10] Prenosil, J.E., Stuker, E., Bourne, J.R. Formation of Oligosaccharides during Enzymatic Lactose Hydrolysis and their Importance in a Whey Hydrolysis Process: Part II: Experimental. *Biotechnol Bioeng* 1987; 30: 1026 – 1031.
- [11] Sako, T., Matsumoto, K., Tanaka, R. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *International Dairy J* 1999; 9: 69 – 80.
- [12] Splechtna, B., Nguyen, TH., Haltrich, D. Production of Prebiotic Galacto-Oligosaccharides from Lactose using  $\beta$ -Galactosidases from *Lactobacillus reuteri*. *J. Agric. Food Chem* 2006; 54: 4999-5006.
- [13] Nakakuki, T. Present status and future of functional oligosaccharides development in Japan. *Pure Appl Chem* 2002; 74 (7): 1245 – 1251.
- [14] Yanahira, S., Kobayashi, T., Suguri, T., Ishikawa, H., Makajima, I. Formation of oligosaccharides from lactose by *Bacillus circulans*  $\beta$ -galactosidase. *Biosci Biotech Biochem* 1995; 59: 1021 – 1026.
- [15] Macfarlane, G.T., Steed, H., Macfarlane, S. Review: Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other Prebiotics. *J. Appl Microbiol* 2007; 1 – 40.

- [16] Mahoney, R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. *Food Chemist* 1998; 63 (2): 147 – 154.
- [17] Chockchaisawasdee, S., Athanasopoulos, V., Niranjana, K., Rastall, R. Synthesis of Galacto-oligosaccharide from Lactose Using  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Studies on Batch and Continuous UF Membrane-Fitted Bioreactors. *Biotechnol Bioeng* 2005; 89 (4): 434 - 443.
- [18] Rabiou, B.A., Jay, A.J., Gibson, G.R., Rastall, R.A. Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by  $\beta$ -galactosidases from *Bifidobacterium* species. *Appl Environ Microbiol* 2000; 67: 2526 – 2530.
- [19] De Vuyst, L., Makras, L., Van Acker, G. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 Degrades Inulin-Type Fructans Exhibiting Different Degrees of Polymerization. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71 (11): 6531–6537.
- [20] Cheng, C.C., Yu, M.C., Cheng, T.C., Sheu, D.C., Duan, K.J., Tai, W.L. Production of high-content galacto-oligosaccharide by enzyme catalysis and fermentation with *Kluyveromyces marxianus*. *Biotechnol Lett* 2006; 28: 793-797.
- [21] Boon, M.A., Janssen, A.E.M. Effect of temperature and enzyme origin on the enzymatic synthesis of oligosaccharide. *Enzyme and Microbial Technol* 2000; 26: 271 – 281.
- [22] Onishi, N., Tanaka, T. Purification and Properties of a Galacto- and Gluco-Oligosaccharides producing  $\beta$ -glycosidase from *Rhodotulula minuta* IFO879. *J. Ferm Bioeng* 1996; 82 (5): 439 – 443.
- [23] Hansson, T., Adlercreutz, P. Optimization of Galactooligosaccharides production from lactose using  $\beta$ -glycosidases from hyperthermophiles. *Food Technol* 2001; 15: 79 – 97.
- [24] Planas, A., Faijes, M. Glycosidases and Glycosynthases in enzymatic synthesis of oligosaccharides. An overview. *Afinidad* 2002; 59: 295 – 313.
- [25] Albayrak, N., Yang, S. Production of Galacto-Oligosaccharides from Lactose by *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -Galactosidase Immobilized on Cotton Cloth. *Biotechnol Bioeng* 2002; 77: 8 – 19.
- [26] Cardelle-Cobas, A., Villamiel, M., Olano, A., Corzo Nieves. Study of galacto-oligosaccharide formation from lactose using Pectinex Ultra SP-L. *J. Sci Food Agric* 2008; 88: 954 – 961.
- [27] Yang, S., Okos, M.R. A new graphical method for determining parameters in Michaelis-Menten type kinetics for enzymatic lactose hydrolysis. *Biotechnol Bioeng* 1989; 34: 763 – 773.
- [28] Engel, L., Schneider, P., Ebrahimi, M., Czermak, P. Immobilization of  $\beta$ -galactosidase in Adsorptive Membranes for the continuous production of Galacto-Oligosaccharides from Lactose. *The Open Food Sci J* 2007; 1: 17 – 23.
- [29] Gaur, R., Pant, H., Jain, R., Khare, S.K. Galacto-oligosaccharide synthesis by immobilized *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -galactosidase. *Food Chem* 2006; 97: 426 – 430.
- [30] Robert, W., Coughlin, C., Marvin, C. Applications of Lactase and immobilized lactase. En Pitche W.H. editors. *Immobilized Enzymes for Food Processing*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida; 1980. p. 153-173.
- [31] Audic, J.L., Chaufer, B., Daufin, G. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. *Sciences* 2003; 417 – 438.
- [32] Yang, S.T. y Silva, E.M. Novel Products and New Technologies for use of a Familiar Carbohydrate, Milk Lactose. *J. Dairy Sci.* 1995; 78: 2541 – 2562.
- [33] Briczinski, E.P., Roberts, R.F. Production of an Exopolysaccharide - Containing Whey Protein Concentrate by Fermentation of Whey. *J. Dairy Sci.* 2002; 85: 3189 – 3197.

- [34] Gekas, V., López-Leiva, M. Hydrolysis of lactose: a literature review. *Process Biochem* 1985; 20: 2-12.
- [35] Zarate, S., López-Leiva, H. Oligosaccharides Formation During Enzymatic Lactose Hydrolysis: A Literature Review. *J. Food Protect.* 1990; 53 (3): 262 – 268.
- [36] Rustom, I.Y., Foda, M.I., López-Leiva, M.H. Formation of oligosaccharides from whey UF-permeate by enzymatic hydrolysis: analysis of factors. *Food Chem* 1998; 62: 141 - 147.
- [37] Aronson M. Transgalactosidation during lactose hydrolysis. *Arch. biochem. biophys.* 1952; 39: 370 - 378.
- [38] Pazur, J. The Mechanism of Enzymatic Synthesis of Galactosyl Oligosaccharides. *J. Biological Chemistry* 1953; 439 – 444.

---

\* Correspondencia Autor.

Dirección E-mail: [nestamart25@hotmail.com](mailto:nestamart25@hotmail.com)

Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.