

# Leche materna deslactosada con la enzima beta galactosidasa para lactantes intolerantes

DOI: <http://doi.org/10.15446/av.enferm.v40n3.101000>

- 1 Beatriz Estella López Marín
- 2 Nelly Patricia Castillejo Padilla
- 3 Fernando Restrepo

## Resumen

**Introducción:** los bebés deben beneficiarse de la leche materna, incluso cuando presentan intolerancia a la lactosa. Por esto, se debe recurrir a la obtención de leche materna deslactosada.

**Objetivo:** analizar el efecto de la enzima beta galactosidasa en la hidrólisis de la lactosa de leche materna madura para bebés clínicamente diagnosticados con intolerancia a la lactosa.

**Materiales y método:** estudio exploratorio, descriptivo y explicativo. El contenido de lactosa se cuantificó desde el inicio hasta el final del tratamiento, controlando temperatura, tiempos y cantidad de enzima  $\beta$ -galactosidasa adicionada en la leche materna. Se recolectaron 1000 ml de leche materna, obtenidos del Banco de Leche del Hospital General de Medellín (Antioquia, Colombia).

**Resultados:** las muestras donadas se encontraban pasteurizadas y posteriormente fueron sometidas a la acción de la enzima lactasa. Se cuantificó el contenido de lactosa sin la enzima, reportando en promedio 6,34 mg/100 ml  $\pm$  0,23. El mayor aporte de lactosa obtenido posterior a la exposición a la enzima (30 minutos) fue de 6,07 mg/ml  $\pm$  0,35 (correspondiente a 95 % del contenido inicial), finalizando con un aporte de 0,35 % a una concentración de 0,4 % tras 24 horas, porcentaje que representa 95 % de la hidrólisis total en la leche materna.

**Conclusiones:** en todas las muestras analizadas de diferentes madres se pudo obtener leche materna con bajas concentraciones de lactosa tras 24 horas de haber sido sometidas a la acción de  $\beta$ -galactosidasa. Lo anterior se establece como una alternativa para los bebés intolerantes a la lactosa, que permitiría no privarlos de todos los beneficios que ofrece este alimento.

**Descriptores:** Leche Humana; Lactosa; Lactancia Materna; Intolerancia a la Lactosa; Lactasa-Florizina Hidrolasa (fuente: DECS, BIREME).

1 Universidad de Antioquia (Medellín, Antioquia, Colombia).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9932-5360>

Correo electrónico: [beatriz.lopez@udea.edu.co](mailto:beatriz.lopez@udea.edu.co)

Contribución: elaboración, ejecución, reporte de resultados y elaboración de informes del proyecto, elaboración del artículo, sometimiento a la revista y respuesta a las solicitudes realizadas por esta.

2 Universidad CES (Medellín, Antioquia, Colombia). Hospital General De Medellín Luz Castro De Gutiérrez E. S. E. (Medellín, Antioquia, Colombia).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3765-8717>

Correo electrónico: [ncastillejo@ces.edu.co](mailto:ncastillejo@ces.edu.co)

Contribución: aporte de las muestras de leche humana donada para el estudio, previa autorización del Hospital General de Medellín, elaboración del manuscrito.

3 Universidad de Antioquia (Medellín, Antioquia, Colombia).

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8583-5028>

Correo electrónico: [frbstatistical@yahoo.es](mailto:frbstatistical@yahoo.es)

Contribución: análisis estadístico del proyecto, escritura del artículo en lo relacionado con el reporte de resultados y datos estadísticos.

Cómo citar: López BE; Castillejo NP; Restrepo F. Leche materna deslactosada con la enzima beta galactosidasa para lactantes intolerantes. 2022;(40)3:432-443. DOI: <http://doi.org/10.15446/av.enferm.v40n3.101000>

Recibido: 11/02/2022

Aceptado: 17/08/2022

Publicado: 29/08/2022

# Lactose-free breast milk with the enzyme beta galactosidase for intolerant infants

## Abstract

**Introduction:** Babies should benefit from breast milk, even when they are lactose intolerant. For this reason, parents should resort to obtaining lactose-free breast milk.

**Objective:** To examine the effect of the enzyme  $\beta$ -galactosidase on the hydrolysis of lactose in mature breast milk for babies clinically diagnosed with lactose intolerance.

**Materials and method:** Exploratory, descriptive, and explanatory study. The lactose content was quantified from the beginning to the end of the treatment, controlling variables such as temperature, times, and the amount of  $\beta$ -galactosidase enzyme added in breast milk. A total of 1.000 ml of breast milk were obtained from the milk bank at Hospital General de Medellín (Antioquia, Colombia).

**Results:** Donated samples were first pasteurized and subsequently subjected to the action of the enzyme lactase. The lactose content without the enzyme was quantified, reporting an average of 6.34 mg/100 mL $\pm$ 0.23. The highest contribution of lactose obtained after exposure to the enzyme was 6.07 mg/mL $\pm$ 0.35 (corresponding to 95% of the initial content), at 30 minutes, ending with a contribution of 0.35% at a concentration of 0.4% in 24 hours, percentage that represents 95% of total hydrolysis in breast milk.

**Conclusions:** In all the examined samples from different mothers, it was possible to obtain breast milk with low concentrations of lactose 24 hours after these were exposed to the action of  $\beta$ -galactosidase. This becomes an alternative for feeding lactose intolerant babies and not deprive them from all the benefits offered by breast milk.

**Descriptors:** Human Milk; Lactose; Breast Feeding; Lactose Intolerance; Lactase-Phlorizin Hydrolase (Source: DECS BIREME).

# Leite materno sem lactose com a enzima beta-galactosidase para lactentes intolerantes

## Resumo

**Introdução:** os bebês se devem beneficiar do leite materno, mesmo quando tenham intolerância à lactose, razão pela qual se deve recorrer à obtenção de leite materno sem lactose.

**Objetivo:** analisar o efeito da enzima beta-galactosidase na hidrólise da lactose no leite materno maduro para bebês diagnosticados clinicamente com intolerância à lactose.

**Materiais e método:** estudo exploratório, descritivo, explicativo. O teor de lactose foi quantificado do início ao fim do tratamento; temperatura, tempos e quantidade

de enzima beta-galactosidase adicionada no leite materno foram controlados; foram coletados 1000 ml de leite materno, obtidos no Banco de Leite do Hospital General de Medellín (Antioquia, Colômbia).

**Resultados:** as amostras doadas foram pasteurizadas e posteriormente submetidas à ação da enzima lactase. O teor de lactose sem a enzima foi quantificado, relatando uma média de 6,34 mg/100 ml  $\pm$  0,23. A maior contribuição de lactose obtida após a exposição à enzima foi de 6,07 mg/ml  $\pm$  0,35 (correspondendo a 95% do conteúdo inicial) em 30 minutos, finalizando com uma contribuição de 0,35% na concentração de 0,4% em 24 horas, percentual que representa 95% da hidrólise total no leite materno.

**Conclusões:** em todas as amostras analisadas de diferentes mães, foi possível obter leite materno com baixas concentrações de lactose 24 horas após ser submetido à ação da beta galactosidase, como alternativa para bebês intolerantes à lactose e não os privar de todos os outros benefícios oferecidos por esse alimento ideal.

**Descritores:** Leite Humano; Lactose; Aleitamento Materno; Intolerância à Lactose; Lactase-Florizine Hydrolase (Fonte: DECS BIREME).

## Introducción

La leche materna (LM) es el alimento idóneo para el recién nacido, ya que brinda nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo; además, lo protege de infecciones gastrointestinales y respiratorias durante la infancia y previene la hipertensión, diabetes mellitus 2, dislipidemia y obesidad en la vida adulta (1-3). Su composición nutricional cuenta con el balance ideal de macro y micronutrientes altamente biodisponibles. Entre los macronutrientes se destaca la lactosa (7 g/100 ml), cuyo contenido corresponde en promedio al 53 % del total de los sólidos aportados por la LM (13,2 g/100 ml). Este nutriente contribuye a la absorción de calcio y hierro y potencia un ecosistema favorable para el crecimiento de bacterias ácido lácticas benéficas, generando un ambiente desfavorable para bacterias patógenas (4).

Cuando la lactosa es hidrolizada por la enzima beta galactosidasa ( $\beta$ -galactosidasa) se obtienen dos moléculas, la glucosa y la galactosa, que cumplen funciones importantes para el bebé. La galactosa es indispensable para la formación de cerebrosidos, moléculas que forman parte del sistema nervioso central (4), y la glucosa es el sustrato energético para diferentes células, como las del sistema nervioso central y el periférico (5).

Cuando la lactosa es ingerida por el lactante en la leche materna madura (LMM), esta llega a la mucosa intestinal, principalmente al yeyuno e íleon proximal, donde es hidrolizada por la enzima  $\beta$ -galactosidasa, mejor conocida como lactasa. Esta enzima se encuentra presente en las microvellosidades de los enterocitos maduros del intestino delgado en compañía de otras disacaridasas (6).

Los lactantes nacen con una buena producción de las enzimas disacaridasas, entre ellas la lactasa, que le permiten realizar una buena hidrólisis de este nutriente fundamental para su desarrollo y crecimiento. Sin embargo, a pesar de los innumerables beneficios de este macronutriente provisto en la LM, hay circunstancias en el recién nacido que le impiden hidrolizar la lactosa, por lo cual debe ser privado de este alimento de manera temporal o permanente (7-9).

La deficiencia de  $\beta$ -galactosidasa en el lactante puede generar problemas gastrointestinales como gases, náuseas, dolores estomacales e inclusive desnutrición, al no poder asimilar correctamente la lactosa. Esta deficiencia puede manifestarse como ausencia de actividad enzimática, conocida como alactasia, o mediante la disminución de dicha actividad, conocida como hipolactasia secundaria. La primera se caracteriza por un cuadro consistente de diarrea acuosa, deshidratación y pérdida de peso inmediatamente después de que el recién nacido es amamantado, ocasionado por una mutación del gen LCT que afecta la estructura primaria de la enzima y, por ende, la pérdida de su actividad, sin que se vean afectadas otras disacaridasas o la mucosa intestinal (6).

Por su parte, la hipolactasia secundaria se refiere a la disminución de la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa a causa de patologías como algunas enfermedades inflamatorias a nivel del intestino. Entre estas se encuentra la enfermedad celiaca y otras menos conocidas –pero no menos importantes–, como la enfermedad de Whipple, el síndrome carcinoide, la fibrosis quística, la gastropatía diabética, la enteropatía por VIH, el Kwashiorkor, el síndrome de Zollinger-Ellison. Además, el uso de fármacos, la enteritis aguda, las infecciones parasitarias causadas por *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides*, el sobrecrecimiento bacteriano, la quimioterapia y radioterapia localizadas en el abdomen, son otras de las patologías que pueden producir hipolactasia. No obstante, esta deficiencia es pasajera y se revierte cuando mejora la condición que la origina (6, 10).

Otra forma de deficiencia de la enzima lactasa se presenta en niños nacidos antes de la semana 34 de gestación, puesto que dicha enzima se desarrolla en las últimas etapas gestacionales. Entre más prematuro sea un bebé, mayor será el riesgo de que presente intolerancia a la lactosa. Sin embargo, esta situación desaparece a medida que madura su intestino. En cualquiera de las tres situaciones mencionadas anteriormente, la lactosa no puede ser hidrolizada y su diagnóstico debe ser confirmado mediante estudios de laboratorio (11).

Actualmente, para lactantes menores de dos años que presentan algún tipo de deficiencia de lactasa existen en el mercado alternativas alimentarias como las fórmulas infantiles a base de proteína de soya o sin lactosa (12); en esta última, el contenido de lactosa es sustituido por dextrinomaltosa o polímeros de glucosa (13). Por otro lado, las fórmulas a base de soya tampoco aportan este nutriente, al ser un alimento vegetal. En lugar de ello, contienen sacarosa o jarabe de maíz (14).

Si bien estos productos parecen ser una opción adecuada para los lactantes con dificultades para la digestión de la lactosa, no aportan todos los nutrientes de la LM para un adecuado crecimiento y desarrollo del lactante (7). Además, el hecho de suspender la práctica de la lactancia materna implica múltiples desventajas para el binomio madre hijo(a) y para la sociedad, en general.

Cabe resaltar que algunas instituciones hospitalarias cuentan con bancos de leche humana, centros especializados que promueven, protegen y apoyan la lactancia materna. La existencia de estos bancos garantiza que los bebés hospitalizados (prematuros, de bajo peso o enfermos de gravedad) puedan alimentarse de la leche de su propia madre o, si esta no se encuentra disponible, de leche humana segura proveniente de una donante que cumpla con todas las condiciones para la donación (15). En consecuencia, para todos los lactantes que presenten algún tipo de deficiencia de lactasa, hidrolizar la lactosa de la LM o de leche donada pasteurizada se constituye en una opción de alimentación superior frente al uso de un sucedáneo o fórmula infantil sin lactosa.

Por lo anterior, se sustenta la necesidad de proporcionar LM sin lactosa a los bebés que clínicamente son diagnosticados con algún tipo de deficiencia de lactasa, sin comprometer su salud. Debido a que

hasta el momento no se han encontrado publicaciones que resuelvan dicha necesidad en este campo del conocimiento, se identificó la importancia de analizar el efecto de la enzima  $\beta$ -galactosidasa en la hidrólisis de la lactosa de leche materna madura.

## Materiales y método

Este es un estudio exploratorio, descriptivo y explicativo, avalado por el Comité de Bioética de Investigación en Humanos de la Sede de Investigación de la Universidad de Antioquia, mediante acta de aprobación 19-106-889. Los procedimientos experimentales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Alimentación y Nutrición Humana (LANH) y el Centro de la Investigación Farmacéutica (CECIF) de la mencionada institución de educación superior.

### Materiales

Se recolectaron en total 1000 ml de LMM (más de 30 días de lactancia por parte de la donante), los cuales fueron seleccionados de manera aleatoria por el Banco de Leche del Hospital General de Medellín Luz Castro de Gutiérrez. La entidad hospitalaria establece para la recepción de LM los siguientes criterios: ser una mujer saludable, estar amamantando a su hijo, no fumar, no consumir licor y presentar exámenes de laboratorio para descartar VIH, hepatitis B y sífilis (15).

Las muestras se recibieron en condiciones de congelación en recipientes de polipropileno libres de bisfenol A - BPA, con todas las condiciones de asepsia propias del hospital. Los recipientes fueron transportados en una nevera de poliestireno expandido (icopor) con pilas de hielo, con el fin de garantizar la cadena de frío hasta las instalaciones del LANH, donde fueron conservadas a una temperatura de  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , hasta su procesamiento.

### Criterios de inclusión

LMM proveniente de madres donantes sanas con más de 30 días en proceso de lactancia, menos de 15 días de almacenamiento en el Banco de Leche, acidez por titulación mayor a 0,18 % y previamente pasteurizada.

### Reactivos

Para la cuantificación de la lactosa se empleó solución de Fehling A (34,66 g de sulfato de cobre en 500 ml de agua), solución de Fehling B (173 g de tartrato de sodio y potasio e hidróxido de sodio en 500 ml de agua) y azul de metileno (25 mg del colorante en 50 ml de etanol), según el método estandarizado por el laboratorio del CECIF, ubicado en el municipio de Sabaneta (Antioquia), donde se realizó la cuantificación.

### Equipos

Para la cuantificación de la enzima lactasa se empleó una balanza analítica y para su inactivación se utilizó una nevera con capacidad de congelación de  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## Preparación de la enzima

Se adquirió la enzima GODO-YNL2, la cual es un preparado de  $\beta$ -galactosidasa (lactasa) derivado de la fermentación de una cepa seleccionada de *Kluyveromyces lactis*, con una vida útil de 24 meses. Esta enzima se mantuvo refrigerada a  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. La concentración en masa para obtener 0,1 %, según las especificaciones del producto, correspondía a una dosis de 100 gramos en 100 litros de leche, por lo que para obtener concentraciones de 0,3 y 0,4 % se realizaron las siguientes diluciones:

- $0,1\% = 100\text{ g} \div 100\text{ l} = 10\text{ g} \div 10\text{ l} = 1\text{ g} \div 1\text{ l} = 0,5\text{ g} \div 0,5\text{ l}$
- $0,3\% = 300\text{ g} \div 300\text{ l} = 30\text{ g} \div 30\text{ l} = 3\text{ g} \div 3\text{ l} = 0,3\text{ g} \div 0,3\text{ l}$
- $0,4\% = 400\text{ g} \div 400\text{ l} = 40\text{ g} \div 40\text{ l} = 4\text{ g} \div 4\text{ l} = 0,4\text{ g} \div 0,4\text{ l}$

## Inoculación con la enzima $\beta$ -galactosidasa

La LM fue sometida al proceso de hidrolización de lactosa con diferentes concentraciones de  $\beta$ -galactosidasa y a diferentes tiempos. Se tuvo en cuenta una muestra control, es decir, LM sin adición de la enzima. Cincuenta (50) mililitros de LM fueron vertidos en recipientes Eppendorf con su respectiva codificación, para un total de 13 tratamientos (Tabla 1).

Las muestras de LM fueron descongeladas con anterioridad y posteriormente inoculadas con la enzima en sus diferentes concentraciones. Cuando los tratamientos cumplían los tiempos de exposición a la enzima, las muestras fueron sometidas a una temperatura de  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  con el fin de detener la actividad enzimática.

## Cuantificación del contenido de lactosa

El método empleado por el laboratorio fue el AOAC 920.183 - Volumétrico Lane Eynon. Se pesaron 8 g de muestra en un balón volumétrico de 100 ml, para luego aforar y agitar la muestra con agua tipo II, llevando la solución a una bureta. En un Erlenmeyer se adicionaron 10 ml de Fehling A y 10 ml de Fehling B. La bureta se calentó hasta ebullición y se adicionaron 2 gotas de azul de metileno. Posteriormente, se tituló gota a gota la muestra hasta que el color azul se desvaneciera. Los cálculos se realizaron con el volumen gastado. Finalmente, en un balón volumétrico de 100 ml se pesaron 600 mg de Dextrosa y se aforó con agua tipo II, según método del laboratorio CECIF.

En julio de 2022 se realizó una búsqueda bibliográfica sobre trabajos de LM sin lactosa en las bases de datos Pubmed, Oxford Academic, SciELO, ScienceDirect, Clinical Key, Access Medicin, Lilacs y Google Académico, empleando las siguientes palabras clave: "leche materna deslactosada", "leche materna libre de lactosa", "lactose-free breast milk" y "lactose-free human milk". Esta búsqueda tuvo como finalidad llevar a cabo una comparación con estudios en los cuales se hidrolizara la lactosa en leche entera, cruda o pasteurizada de vaca o de otras especies rumiantes menores, como la cabra y la oveja. Sin embargo, no se encontraron artículos relacionados.

## Consideraciones éticas

De acuerdo con la Resolución 8430 de 1993 (16), este estudio se considera una investigación sin riesgo, ya que solo se realizó la manipulación de muestras biológicas (LMM). Para ello, no son necesarios procedimientos invasivos en humanos, debido a que la muestra se obtuvo de forma

natural, por extracción manual por parte de las madres donantes del Hospital. Sin embargo, para procurar al máximo el bienestar de los investigadores y de los participantes de la investigación, todos ellos fueron capacitados en normas de bioseguridad en lo correspondiente a manipulación de muestras biológicas, equipos, instalaciones locativas, procesos de limpieza y desinfección (de equipos, instalaciones, entre otros). Lo anterior, impediría la contaminación de los investigadores y las muestras, haciendo posible que no se afectaran los resultados y evitando además reprocesos.

### Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente aleatorizado, de efecto fijo balanceado, con diez replicaciones por tratamiento, donde la variable respuesta fue el contenido de lactosa. Para contrastar el efecto promedio de los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey, con base en un 5 % de significancia. El análisis se complementó por medio de estadística descriptiva de tipo unidimensional, con el fin de establecer la media aritmética, la desviación típica y el coeficiente de variación. Los datos fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS University. Cabe anotar que los datos fueron transformados por la técnica de BOX-COX, a fin de garantizar los supuestos estadísticos asociados con el modelo de clasificación experimental.

### Resultados

La Tabla 1 muestra los tratamientos realizados a la LMM con o sin la enzima  $\beta$ -galactosidasa, a diferentes concentraciones y en los diferentes tiempos, detallando además el número de réplicas en cada tratamiento.

**Tabla 1.** Tratamientos utilizados en el diseño experimental

Tratamiento	Cantidad de enzima	Tiempo de exposición	Réplicas
Sin enzima	0	0	10
Con enzima	0,3	30 minutos	10
Con enzima	0,3	60 minutos	10
Con enzima	0,3	6 horas	10
Con enzima	0,3	12 horas	10
Con enzima	0,3	18 horas	10
Con enzima	0,3	24 horas	10
Con enzima	0,4	30 minutos	10
Con enzima	0,4	60 minutos	10
Con enzima	0,4	6 horas	10
Con enzima	0,4	12 horas	10
Con enzima	0,4	18 horas	10
Con enzima	0,4	24 horas	10

Fuente: elaboración propia.

La Tabla 2 muestra los resultados de los efectos de los tratamientos sobre la lactosa a diferentes concentraciones de la enzima. A los 30 minutos y con una concentración de 0,3 %, el efecto de la enzima sobre la lactosa había sido solo de 5 %. Con dicha concentración, el efecto se empieza a



evidenciar de forma más determinante tras 6 horas, con una disminución de 45 % en el contenido de lactosa, y luego de 24 horas, pues en este momento el contenido de lactosa es mínimo (7 %).

**Tabla 2.** Contenido total de lactosa

Tratamiento	Media $\pm$ desviación estándar del contenido de lactosa después del tratamiento	Coefficiente de variabilidad	% del contenido de lactosa después del tratamiento	Tukey entre tratamientos	Tukey entre tiempos para una misma concentración
Sin enzima	6,34 $\pm$ 0,23	3,65		c	
0,3-30 minutos	7,51 $\pm$ 0,26	3,46	95	a	a
0,3-60 minutos	6,82 $\pm$ 0,09	1,34	86	b	b
0,3-6 horas	4,34 $\pm$ 0,20	4,75	55	e	c
0,3-12 horas	2,64 $\pm$ 0,21	8,14	33	f	d
0,3-18 horas	1,52 $\pm$ 0,13	8,66	19	g	e
0,3-24 horas	0,54 $\pm$ 0,14	26,4	7	h	f
0,4-30 minutos	6,07 $\pm$ 0,35	5,91	77	c	a
0,4-60 minutos	6,02 $\pm$ 0,10	2,78	76	d	a
0,4-6 horas	4,55 $\pm$ 0,12	2,78	58	e	b
0,4-12 horas	2,70 $\pm$ 0,21	7,78	34	f	c
0,4-18 horas	1,57 $\pm$ 0,18	12,02	20	g	d
0,4-24 horas	0,35 $\pm$ 0,11	30,86	4	h	e
Tukey	Concentración 0,3 a			Concentración 0,4 a	

**Nota:** letras distintas indican diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ).

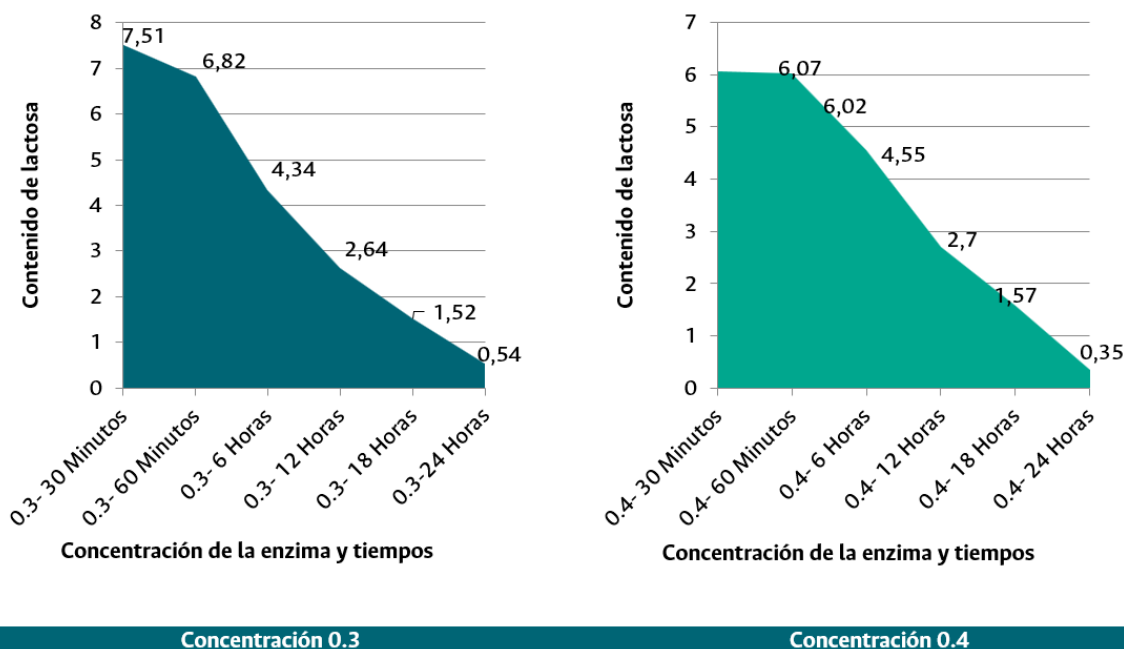
**Fuente:** elaboración propia.

El contenido de lactosa a través del tiempo va en descenso, siendo mucho menor en la concentración del 4 % frente a la de 3 %, tanto a los 30 como a los 60 minutos. Sin embargo, a las 6 y las 24 horas se evidencia una disminución importante (42 y 4 %, respectivamente) y se mantiene una mayor reducción (4 %).

Al efectuar el contraste entre tratamientos, se detectó una diferencia estadística entre los tiempos de exposición ( $p < 0,05$ ) en cada concentración, y no se encontró divergencia entre las concentraciones ( $p > 0,05$ ) (Tabla 2). De manera adicional, se aprecia que a mayor tiempo de exposición menor es el porcentaje de lactosa. De igual manera, se nota una mayor heterogeneidad en la dinámica del material experimental (Figura 1).



**Figura 1.** Dinámica de comportamiento de las concentraciones en el tiempo



Fuente: elaboración propia.

## Discusión

El efecto de la enzima  $\beta$ -galactosidasa sobre la lactosa de la LMM genera su hidrólisis y puede ser una alternativa efectiva para brindar LM sin lactosa a menores lactantes que clínicamente sean diagnosticados con deficiencia en la producción de lactasa.

El estudio de Ortiz y Sánchez evaluó el efecto de la  $\beta$ -galactosidasa en leche de vaca entera con todo el contenido de lactosa, a una temperatura de 30 °C. Sus resultados mostraron que el contenido de lactosa se redujo 35 % a los 30 minutos, 58 % a los 60 minutos y 99 % a las 2 horas y 30 minutos (17). Otro estudio realizado bajo condiciones similares reportó reducciones de 100 % a los 60 minutos (18). Por su parte, los resultados del presente estudio (al tomar como punto de referencia en promedio un contenido inicial de lactosa entre 7,3-6 g/l (19, 20) mostraron que el contenido de lactosa de leche materna con concentraciones de  $\beta$ -galactosidasa al 0,3 % reportó una reducción de solo 5 % a los 30 minutos y de 14 % a los 60 minutos; solo hasta las 18 y 24 horas la reducción fue significativa (81 y 93 %, respectivamente). Sin embargo, con concentraciones de 0,4 % los resultados fueron cercanos a los reportados por Ortiz y Sánchez, puesto que se evidencia una reducción promedio del contenido de lactosa de 33 % a los 30 minutos, un 34 % a los 60 minutos y una disminución más representativa a las 18 y 24 horas (80 y hasta 96 %, respectivamente).

Es importante recordar que la temperatura es uno de los principales catalizadores de la actividad enzimática (21), factor por el cual pueden diferir los resultados de este estudio con respecto a otros trabajos publicados, donde se reporta que la actividad enzimática de la lactasa se da idealmente a temperaturas entre 35 y 42 °C, e inclusive hasta 57 °C (22,23). Sin embargo, para esta investigación

la inoculación de la enzima se realizó bajo condiciones de refrigeración, es decir, a temperaturas no superiores a 4 °C, en la cual la actividad enzimática, específicamente para la lactasa, no es óptima para su buen desempeño. No obstante, estas condiciones de temperatura fueron establecidas en el diseño experimental debido a que se espera que la LM sin lactosa sea suministrada a lactantes menores de 1 año, por lo cual se debe controlar al máximo el riesgo de crecimiento bacteriano (24). Además, las temperaturas aplicadas a un fluido biológico, como la LM, pueden afectar la estructura de sus células y nutrientes.

Por otro lado, es pertinente aclarar que la leche de vaca en promedio tiene 4,7 % de lactosa, mientras que en la LM se reportan datos promedio de 7 %. Incluso, en este estudio encontramos concentraciones iniciales de 6 y hasta 7,9 %, lo que podría explicar que los hallazgos de estudios anteriores mostraron una reducción mayor del contenido de lactosa en un menor tiempo de exposición a la enzima (25).

Es importante mencionar que se encontró una relación directa entre el tiempo de exposición a la enzima y el porcentaje de hidrólisis de la lactosa, obteniendo el mayor grado a las 24 horas, independiente de la concentración enzimática utilizada. Lo anterior indica que el tiempo es un factor determinante para la hidrólisis máxima en las muestras (26). No obstante, se aclara que al inocular las muestras con la enzima bajo condiciones de refrigeración, se requiere de más tiempo para alcanzar la velocidad de reacción, puesto que la enzima disminuye su velocidad de actividad al encontrarse alejada de su temperatura óptima (27).

Finalmente, al evaluar el efecto de la concentración de la enzima en el grado de hidrólisis de la lactosa, se evidencia que a mayor concentración de esta última (en este caso al 0,4 %) mayor es el grado de hidrólisis. Esto indica que la concentración de la enzima aumenta la velocidad de hidrólisis de la lactosa, como se reporta en el estudio de Bosso *et al.* (28). Resultados similares fueron obtenidos en el estudio de Beltrán y Acosta, en el que sometieron muestras de suero lácteo a diferentes concentraciones de  $\beta$ -galactosidasa, identificando una velocidad proporcional al contenido de la enzima (18). Lo anterior puede explicarse en el hecho de que a mayores concentraciones de la enzima aumenta el número de interacciones entre el complejo enzima-sustrato (29).

A pesar de los hallazgos de este trabajo, es necesario dar continuidad a otros proyectos de investigación enfocados a la obtención de leche materna deslactosada, para que así los lactantes con algún tipo de deficiencia de lactasa reciban los beneficios del consumo de este alimento fundamental para su primer año de vida. Además, otro de los objetivos finales es poder proponer una guía o protocolo a nivel hospitalario, e incluso domiciliario, en el que se puedan especificar los pasos para disminuir el contenido de lactosa en la leche materna madura hasta en un 95 %, con el objetivo de promover iniciativas que posibiliten el suministro de leche materna a la población anteriormente descrita.

Esta investigación tuvo como limitaciones el número de pruebas de medición del contenido de lactosa durante el tratamiento con la enzima y la técnica empleada, que corresponde a una de tipo semicualitativo. Otro limitante es el tiempo de almacenamiento de las muestras de leche empleadas, por lo que resulta necesario llevar a cabo estudios complementarios con el uso de técnicas de cuantificación más exactas.

## Conclusiones

Se pudo obtener LM con baja concentración de lactosa a las 24 horas de ser sometida a la acción de la  $\beta$ -galactosidasa, lo que se constituye como una alternativa para no privar a los bebés intolerantes a la lactosa de todos los beneficios que ofrece este alimento.

Las variables concentración de la enzima y tiempo de exposición afectaron significativamente la reacción de hidrólisis de la lactasa, donde la actividad más elevada se dio a mayor concentración y mayor tiempo de exposición.

El porcentaje de hidrólisis también se vio afectado por la temperatura. Sin embargo, dado que este último factor debió ser controlado para evitar el sobrecrecimiento bacteriano en la LM, se deben encontrar alternativas que potencien la velocidad de reacción de la lactasa y así disminuir su tiempo de acción.

Este estudio es el primero en investigar cómo se puede obtener LMM deslactosada y, por ende, representa el punto de partida para nuevas investigaciones donde se resalte el papel y el impacto de la lactancia materna en la vida de los lactantes.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

## Apoyo financiero

Se recibieron recursos por parte de la Escuela de Nutrición y Dietética de la Universidad de Antioquia.

## Referencias

- (1) Victora CG; Bahl R; Barros AJD; França GVA; Horton S; Krasevec J et al. Breastfeeding in the 21st century: Epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*. 2016;387(10017):475-490. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01024-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01024-7)
- (2) Ramiro González MD; Ortiz Marrón H; Cañedo-Argüelles CA; Esparza Olcina MJ; Cortés Rico O; Terol Claramonte M et al. Prevalencia de la lactancia materna y factores asociados con el inicio y la duración de la lactancia materna exclusiva en la Comunidad de Madrid entre los participantes en el estudio ELOIN. *An Pediatr*. 2018;89(1):32-43. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2017.09.002>
- (3) Brahm P; Valdés V. Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar. *Rev. chil. pediatr*. 2017;88(1):7-14. <http://doi.org/10.4067/S0370-41062017000100001>
- (4) Aguilar Cordero MJ; Baena García L; Sánchez López AM; Guisado Barrilao R; Hermoso Rodríguez E; Mur Villar N. Beneficios inmunológicos de la leche humana para la madre y el niño. Revisión sistemática. *Nutr. Hosp*. 2016;33(2):482-493. <https://bit.ly/45SYm9q>
- (5) Nares-Torices MÁ; González-Martínez A; Martínez-Ayuso FA; Morales-Fernández MO. Hipoglucemia: el tiempo es cerebro. ¿Qué estamos haciendo mal? *Med Int Mex*. 2018;34(6):881-895. <https://bit.ly/35jrglz>
- (6) Villanueva Torregrosa D; Mendoza Torres E; Varela Prieto L; Villarreal Camacho J. Bases conceptuales del diagnóstico de intolerancia a lactosa, hipolactasia y mala digestión de lactosa Salud Uninorte. 2015;31(1):101-117. <https://www.redalyc.org/pdf/817/81739659011.pdf>
- (7) Toca MC; Fernández A; Orsi M; Tabacco O; Vinderola G. Intolerancia a la lactosa: mitos y verdades. Actualización. *Arch Argent Pediatr*. 2022;120(1):59-66. <http://doi.org/10.5546/aap.2022.59>
- (8) Infante Pina D; Peña Quintana L; Sierra Salinas C. Intolerancia a la lactosa. *Acta Pediatr Esp*. 2015;73(10):249-258. <https://bit.ly/3daFcWh>
- (9) Alvarez Aguilar LA. Intolerancia a la lactosa en niños de 0 a 17 años en el Hospital de Niños Dr. Roberto Gilbert Elizalde en el período de enero del 2013 a octubre del 2015. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2015. <https://bit.ly/3U6PJIS>
- (10) Rosado JL. Intolerancia a la lactosa. *Gac Med Mex*. 2016;152(Suppl 1):67-73. <https://bit.ly/3RZZy3k>
- (11) Fernandez F. Intolerance to the lactose definitions and epidemiology. En: Argüelles F; Casellas F. Update on common lactose intolerance. First edition. Madrid: Spanish Foundation of the Digestive System (FEAD); 2017. 70-76.

- (12) Barrio J; Díaz-Martín JJ; Manrique I; Martín Martínez B; Ortega E. Consenso experto sobre los aspectos nutricionales de las leches infantiles de inicio y continuación. *An Pediatr*. 2015;83(6):376-386. <http://doi.org/10.1016/j.anpedi.2015.02.001>
- (13) Dalmau Serra J; Ferrer Lorente B; Vitoria Miñana I. Lactancia artificial. *Pediatr Integral*. 2015;xix(4):251-259. <https://bit.ly/2D3OcK4>
- (14) Hinostroza-Izaguirre MC; Jara-Porroa JJ; Montalvo-Castillo SC; Romero-González MA; Ticse-Tovar J. Impacto de la lactancia no materna en el infante. *Rev Cient Odontol*. 2017;5(2):733-743. <https://doi.org/10.21142/2523-2754-0502-2017-733-743>
- (15) Hospital General de Medellín Luz Castro de Gutiérrez. Requirements for the donation of breast milk. Medellín: HGM; 2018.
- (16) República de Colombia. Ministerio de Salud. Resolución Número 8430 de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. 1993. <https://bit.ly/3Dol9x5>
- (17) Ortiz Serpa EA. Estandarización de hidrólisis en tanques para liberación en proceso UHT en leche deslactosada. Universidad del Azuay; 2016. <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/6139?mode=full>
- (18) Beltran FLJ; Acosta CA. Empleo de una  $\beta$ -galactosidasa comercial de *Kluyveromyces lactis* en la hidrólisis de lactosuero. *Hechos Microbiol*. 2012;3(2):25-35. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/view/18734>
- (19) Miller D; Mamilly L; Fournier S; Rosen-Carole C. Appendix I – ABM Clinical protocol no. 27: Breastfeeding an infant or young child with insulin-dependent diabetes. *Breastfeeding*. 2022;9:987-992. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-68013-4.00064-X>
- (20) Suárez Rodríguez M; Iglesias García V; Ruiz Martínez P; Lareu Vidal S; Caunedo Jiménez M; Martín Ramos S et al. Composición nutricional de la leche materna donada según el periodo de lactancia. *Nutr Hosp*. 2020;37(6):1118-1122. <https://doi.org/10.20960/nh.03219>
- (21) Cardona Serrate F. Los enzimas. Introducción a la enzimología. Universidad Politécnica de Valencia; 2020. <https://bit.ly/3B6hhza>
- (22) Sanchez Jáuregui CE; Rosales Medina MF; Bustamante Gavilánez AC. Modelo de hidrólisis de lactosa para fermentación láctica en una base probiótica y simbiótica. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*. 2015;28(3):53-68. <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/399/262>
- (23) Selvarajan E; Mohanasrinivasan V. Kinetic studies on exploring lactose hydrolysis potential of  $\beta$  galactosidase extracted from *Lactobacillus plantarum* HF571129. *J Food Sci Technol*. 2015;52:6206-6217. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1729-z>
- (24) The Academy of Breastfeeding Medicine Protocol Committee. ABM Clinical Protocol # 8: Human Milk storage information for home use for full – term infants (Original Protocol March 2004; Revision # 1 March 2010). *Breastfeed Med*. 2010;5(3):127-130. <https://doi.org/10.1089/bfm.2010.9988>
- (25) Ohlsson JA; Johansson M; Hansson H; Abrahamson A; Byberg L; Smedman A et al. Lactose, glucose and galactose content in milk, fermented milk and lactose-free milk products. *Int Dairy J*. 2017;73:151-154. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.06.004>
- (26) Benítez R; Ibarz A; Pagan J. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2008;42(2):227-236. <https://bit.ly/3S4COKK>
- (27) Parada Rivera M; Tapia González Z; Llerena Toledo E; Carreras García F; Manobanda Pinto P. Hidrólisis enzimática con  $\beta$ -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* para la obtención de jarabe de lactosuero. *Perfiles*. 2019;21(1):44-50. <http://dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/11190>
- (28) Bosso A; Morioka LRI; Santos LF; Suguimoto HH. Lactose hydrolysis potential and thermal stability of commercial  $\beta$ -galactosidase in UHT and skimmed milk. *Food Sci. Technol*. 2016;36(1):159-165. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395945199023>
- (29) Figueroa OA; Zapata-Montoya JE; Gutiérrez GA. Modelamiento de la cinética de hidrólisis enzimática de proteínas del plasma bovino. *Rev EIA*. 2012;17:71-84. <https://repository.eia.edu.co/handle/11190/129?show=full>