

## SUMARIO

Página

### ABREVIATURAS

i

### CAPITULO 1: Generalidades, Inmovilización y aplicaciones de las enzimas.

1.1- Introducción	1
1.1.1- Las reacciones enzimáticas	3
1.2- Inmovilización de enzimas	7
1.2.1- Métodos de inmovilización	9
1.2.2- Soportes	13
1.2.2.1- Clasificación morfológica	15
1.2.2.2- Clasificación química	16
1.3- Aplicaciones de enzimas inmovilizadas	17

### OBJETIVOS

21

### CAPITULO 2: $\beta$ -Galactosidasas.

2.1- Introducción	22
2.2- Fuentes de $\beta$ -galactosidasas	22
2.3- Propiedades de las $\beta$ -galactosidasas de origen microbiano	25
2.4- Mecanismo de acción de las $\beta$ -galactosidasas	27
2.5- Especificidad de las $\beta$ -galactosidasas	29

**CAPITULO 3: Problemas nutricionales y tecnológicos producidos por la presencia de lactosa en la leche y subproductos de la Industria láctea.**

3.1- Introducción.	31
3.2- Intolerancia a la lactosa.	32
3.3- Descarte de soluciones lactosadas derivadas de la industria láctea	33
3.4- El problema de la cristalización de lactosa en productos lácteos	34

**CAPITULO 4: Lactosueros y permeatos.**

4.1-Introducción.	36
4.2-Definición de suero y permeato.	36
4.3-Destinos del suero.	37
4.4- Reprocesamiento del suero.	39
4.5- $\beta$ -galactosidasas utilizadas en la presente tesis	
4.5.1- $\beta$ -galactosidasa de <i>Escherichia coli</i> .	41
4.5.2- $\beta$ -galactosidasa de <i>Kluyveromyces lactis</i> .	42

**CAPITULO 5: Inmovilización reversible de tiol-moléculas.**

5.1-Introducción.	43
5.2- Características de los soportes activados con grupos tiolsulfonato y tiolsulfinato	44
5.3- Soportes utilizados en el desarrollo de la presente tesis.	48

## **CAPITULO 6: Reducción en fase sólida.**

6.1- Introducción	53
6.2- Aplicación de la reducción en fase sólida	53
6.3- Síntesis de Tiopropil-agarosa y Tiopropil-Toyoparl.	54

## **CAPITULO 7: Parte experimental.**

7.1- Materiales.	56
7.2- Equipos.	56
7.3- Métodos para obtener y caracterizar derivados insolubles de $\beta$ -galactosidasa en base a agarosa y resina acrílica.	57
7.4- Métodos para obtener y activar un soporte en base a queratina de plumas. Aplicaciones en la inmovilización de tiol-moléculas.	66
7.5- Obtención de agentes reductores en fase sólida. Su aplicación en la reducción de $\beta$ -galactosidasa de <i>K. lactis</i> .	72

## **CAPITULO 8: Resultados y discusión.**

8.1- Inmovilización de $\beta$ -galactosidasa de <i>E. coli</i> en tiolsulfonato-agarosa.	75
8.2- Inmovilización de $\beta$ -galactosidasa de <i>K. lactis</i> en tiolsulfonato-agarosa.	81
8.3- Inmovilización de $\beta$ -galactosidasa de <i>K. lactis</i> en tiolsulfonato-agarosa.	86
8.4- Inmovilización de $\beta$ -galactosidasa de <i>K. lactis</i> en tiolsulfonato-Toyoparl.	96
8.5- Obtención y activación de queratina de plumas. Aplicación a la inmovilización de tiol-moléculas.	100
8.6- Reducción con agentes en fase sólida. Aplicación en la reducción de $\beta$ -galactosidasa de <i>K. lactis</i> .	112