

INMOVILIZACIÓN DE LIPASA EN SOPORTE DE ACERO INOXIDABLE PARA LA PRODUCCIÓN DE SABORES ENZIMÁTICOS LÁCTEOS.

Díaz-Camacho Sandra¹, Regalado-González Carlos¹, Luis Raymundo Reyes², Amaro-Reyes Aldo¹, Pedro Vázquez³, García-Almendárez Blanca Estela¹. ¹DIPA, PROPAC, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro, 76010. ²RICAP, S.A. de C.V., ³CICATA-IPN Querétaro, Qro. Correo contacto: sandra_dc01@hotmail.com

Palabras clave: inmovilización, lipasa, sabor enzimático, acero inoxidable.

Introducción. La tecnología enzimática ofrece una opción muy prometedora para la biosíntesis de sabores naturales. Actualmente, la mayoría de los compuestos de sabor se producen por métodos tradicionales como síntesis química o extracción de fuentes naturales. Varias enzimas pueden catalizar la producción de compuestos relacionados con el aroma a partir de moléculas precursoras, entre ellas las lipasas. La hidrólisis parcial (lipólisis) de la grasa láctea que imparte sabores especiales a los productos lácteos. Para hacer más eficientes los procesos de producción de sabores enzimáticos es necesaria una reutilización de las enzimas, teniendo como opción la inmovilización en soportes inorgánicos (1).

Metodología. Se inmovilizó la enzima lipasa P (Enmex) en placas de 2.5x2.5 cm de acero inoxidable 304-2B. Se funcionalizó el acero con quitosano y se usó genipino como agente entrecruzante (2, 3). Se evaluaron las propiedades cinéticas y térmicas de la enzima libre e inmovilizada usando *p*-nitrofenil palmitato como sustrato, así como la eficiencia de la inmovilización y los ciclos de reuso (3 h cada uno). El sabor enzimático se obtuvo usando un sustrato lácteo, suministrado por una empresa. Los compuestos de sabor generados se determinaron en un cromatógrafo de gases 7890A (Agilent Technologies, Inc., Wilmington), acoplado a un detector de ionización de Flama FID, y una columna capilar DB-FFAP (30 m) (Agilent).

Resultados. Se inmovilizaron 131.9 mg enzima/m² de acero inoxidable, los óptimos de pH y temperatura de la enzima libre fueron pH 9 y 50°C y para la inmovilizada pH 10 y 65°C (Fig.2). Se lograron obtener 5 ciclos de reuso, con una actividad relativa superior al 70% (Fig.3). Los parámetros cinéticos (V_{max} y K_M) de la enzima inmovilizada se muestran en la Tabla 1. El perfil de ácidos grasos relacionados con el sabor y formados a partir del sustrato lácteo se muestra en la Tabla 2.



Fig. 1. Enzima inmovilizada en placas de acero inoxidable.

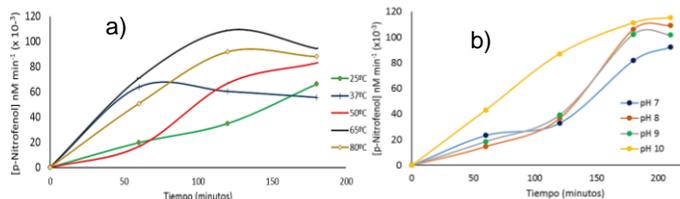


Fig. 2. Temperatura(a) y pH(b) óptimos de la lipasa inmovilizada.

Se observa poca variación en la actividad de la enzima inmovilizada a diferentes temperaturas y pH, siendo más estable que la enzima libre en esas condiciones de trabajo.

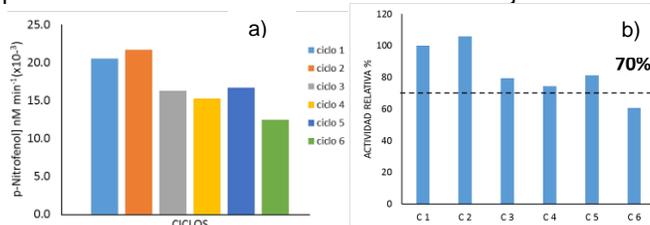


Fig. 3. Ciclos de reuso de la lipasa inmovilizada. (a) Actividad remanente después de cada ciclo y (b) actividad relativa.

Se pueden reutilizar las placas en 5 ciclos y mantener una actividad relativa superior al 70%.

PARAMETRO	L. LIBRE	L. INMOVILIZADA
V_{max} ($\mu\text{M min}^{-1}$)	31.0	5.2
K_M (μM)	28.8	435.0

La enzima inmovilizada muestra una menor actividad enzimática pero una mayor afinidad de la enzima por el sustrato.

Tabla 2. Ácidos grasos de interés detectados en el sabor enzimático, expresados en mg/kg producto (b.s.).

Ácido graso	Sustrato lácteo	Enzimático comercial	Enzimático 1	Enzimático 2
Acético	1,160.45	2,072.65	50,106.05	35,312.48
Butanoico	7.41	1,570.83	6,109.09	9,199.38
Hexanoico	6.54	762.02	290.19	348.77
Octanoico	2.68	95.79	153.11	332.81
Decanoico	5.26	710.60	227.00	295.71

El ácido butanoico es el más importante en los sabores lácteos.

Conclusiones. La lipasa se inmovilizó exitosamente con reuso de 5 ciclos sin que las placas mostraran daño mecánico, logrando producir un perfil de sabor lácteo deseable.

Agradecimientos. CONACYT proyecto PEI-PROINNOVA 251244.

Bibliografía.

- Barbes, L. et al. S (2008). *Scientific Study and Research, Pubs.Ub.Ro, IX*(June), 25–29.
- Benvenuto, P. et al. (2015). *Langmuir*, 31(19), 5423–5431.
- Caro, A. et al. (2010). *Journal of Colloid and Interface Science*, 349(1), 13–18.

