



MODIFICACIÓN DE UN TRIGLICÉRIDO MEDIANTE UNA REACCIÓN DE INTERESTERIFICACIÓN EMPLEANDO LA LIPASA DE *Bacillus pumilus* GMA1

Katia Lilian Ruiz Noria, Idalia Flores Argüello, Patricia Wong de la Mora y Amelia Farrés González-Saravia.
Laboratorio 312 Dpto. de Alimentos y Biotecnología, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

kaliruno@hotmail.com

Palabras clave: interesterificación, solventes orgánicos, A_w

Introducción. Las lipasas microbianas tienen un campo de aplicación amplio en la industria de alimentos. Catalizan reacciones de hidrólisis o de síntesis dependiendo del medio de reacción en que se encuentren. Las de síntesis son las que más impacto han tenido pues permiten sintetizar nuevos productos que difícilmente pueden ser producidos en fase acuosa. Diversos autores han corroborado la influencia de la polaridad de varios solventes en los rendimientos de reacción de síntesis con lipasas y sus ventajas, tales como: el desplazamiento del equilibrio termodinámico en sentido inverso al de hidrólisis, alta solubilidad de reactivos hidrofóbicos, disminución de riesgos de contaminación microbiana, fácil recuperación de productos y de la enzima, y aumento en la estabilidad de la misma. En el grupo de trabajo se logró aislar de agua termales mexicanas una bacteria *Bacillus pumilus* GMA1, el que produce una lipasa que presenta características poco comunes e interesantes, ya que tiene actividad lipolítica a valores elevados de temperatura, a un pH alcalino (50°C y pH 10.5) (1).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el uso de la lipasa producida por *Bacillus pumilus* GMA1 en una reacción de interesterificación (acidólisis) enzimática con ácido linoleico conjugado para la obtención de un lípido funcional en alimentos, estableciendo las condiciones de reacción respecto al solvente orgánico y la actividad acuosa.

Metodología. La enzima se produjo en matraces Fernbach de 1L en medio BHI: las células se separaron por centrifugación y el sobrenadante se concentró 10X por liofilización. Por otra parte se estudiaron las condiciones de reacción en las cuales la lipasa pueda llevar a cabo reacciones de síntesis, las variables que se estudiaron fueron: A_w , el medio de reacción (solvente) y la relación enzima-sustrato. Para evaluar el efecto de solventes a valores controlados de A_w , se equilibró el sistema de 0.1g de enzima y 5mL de solvente con diferentes soluciones saturadas de sales, comprendiendo un rango de 0.1 – 0.75. La incubación se llevó a cabo durante 1h a 30°C, y se determinó actividad residual por el método de PNFL. Los ensayos en fase orgánica se realizaron con enzima liofilizada y equilibrada a un valor de $A_w = 0.75$, en tubos con agitación a 40°C conteniendo 5mL de medio de reacción (solvente, 60mM de metanol y 60mM de ac. oleico). La mezcla de reacción consistió en: 43.3 mg de Tricaprilina, 56.7 mg de ácido linoleico conjugado y se utilizaron dos concentraciones de lipasa con 5 y 10 UI/mg de proteína, en 3 mL de solvente orgánico (hexano y tolueno). La reacción se llevó a cabo en

agitación, 50°C por 24 h. Finalmente se analizaron los compuestos sintetizados por cromatografía en capa fina.

Resultados y discusión. En la fig. 1 se muestra el perfil de actividad en solventes bajo las condiciones de ensayo. La actividad no es detectable a una A_w de 0.1, sino en los valores comprendidos entre 0.75 – 0.53. El mejor solvente fue el hexano.

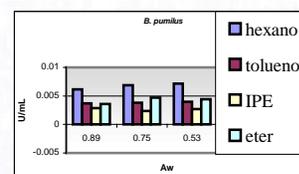


Fig. 1. Estabilidad de la actividad lipolítica de *B. Pumilus* a valores fijos de A_w y diferentes solventes exano, tolueno, IPE, éter

En las reacciones de síntesis se observó en las placas de TLC que ocurre síntesis cuando se usan 10 UI de actividad (Fig. 2).



Fig 2. TLC. 1. Estándar de tricaprilina, 2. Estándar CLA, 3. Reacción con 5UI y 4 reacción con 10 UI.

Conclusiones. Bajo las condiciones de trabajo probadas se logró la síntesis de un triglicérido enriquecido con ácido linoleico conjugado a través de una reacción de interesterificación enzimática con la lipasa de *Bacillus pumilus*. Las condiciones deben optimizarse.

Agradecimiento. Dr. Arturo Navarro por facilidades brindadas.

Bibliografía.

- (1) Wong-Mora P. (2001). Lipasa termoestable de *Bacillus pumilus* GMA1: producción fermentativa y algunas propiedades. Tesis, Química de alimentos, Facultad de Química, UNAM.
- (2) Halling, P. (1994) Thermodynamic predictions for biocatalysts in non conventional media: theory, tests, and recommendations for experimental design and analysis. *Enzyme Microb. Technol.* 18, 178-206.