

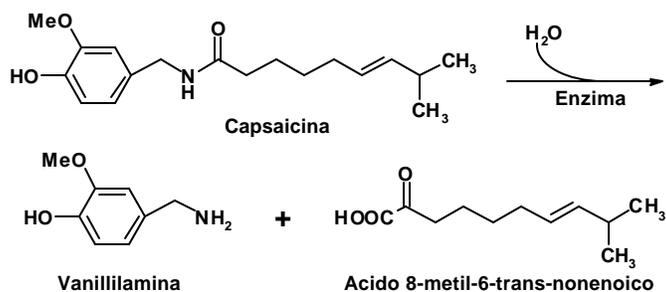
HIDRÓLISIS Y SÍNTESIS DE AMIDAS POR MEDIO DE LIPASAS

Alejandro Torres, Edmundo Castillo, Agustín López-Munguía. Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad # 2001, col. Chamilpa C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos.
Fax: (52-777) 11 49 03, e-mail: altoga@ibt.unam.mx

Palabras clave: hidrólisis, amidas, lipasa, síntesis enzimática

Introducción. El sabor picante o pungencia de los chiles es un efecto sensorial producido por un grupo de compuestos llamados capsaicinoides, considerados como alcaloides. El más importante de estos compuestos es la capsaicina (1,2) o N-Vainillil-8-metil-6-nonenamida, la cual tiene aplicaciones potenciales tanto en la industria alimenticia como en la farmacéutica. De acuerdo con un panel de evaluadores la hidrólisis de la capsaicina disminuye la pungencia y también la irritación y los efectos neurotóxicos. De acuerdo a lo anterior, nuestro grupo de investigación realizó la hidrólisis de la capsaicina en su enlace amido por medio de la lipasa B de *C. antarctica* (Novozym 435), dando como productos la vainillinamida y el ácido 8-metil nonanoico, siendo esta la primera vez que se reporta la hidrólisis de una amida por medio de una lipasa (3). Continuando con esta línea de investigación, en el grupo hemos sintetizado nuevas amidas aumentando o disminuyendo el tamaño del residuo acilo, respetando siempre el anillo vainilloide de los capsaicinoides, con el objetivo de evaluar la influencia del residuo acilo sobre la pungencia. Así mismo, estos compuestos fueron sometidos a hidrólisis por medio de diferentes lipasas con el fin de contribuir a la comprensión de los mecanismos que controlan la capacidad de ciertas lipasas para hidrolizar enlaces amida.

Fig. 1. Hidrólisis de la capsaicina.



Metodología. Se realizó la síntesis de amidas por medio de la lipasa B de *C. antarctica* (Novozyme 435) utilizando como sustrato a la vainillinamina y ácidos cuyo residuo acilo variaba de C8 a C18. Las reacciones se llevaron a cabo en viales de 8ml con un volumen de reacción total de 5ml a una concentración equimolar de 20mM. El medio de reacción fue 2M2B, en un baño a 45°C. La concentración de enzima utilizada fue de 20mg de preparación comercial por ml de medio de reacción. En la hidrólisis de la capsaicina se utilizaron varias lipasas, y para los nuevos compuestos

sintetizados se utilizó la enzima Novozym 435. Las reacciones se llevaron a cabo en viales sellados de 8ml con un volumen de reacción total de 5ml a una concentración de sustrato de 2mM. El medio de reacción fue agua, en un baño a 70°C. La concentración de enzima fue de 6mg de preparación comercial por ml de medio de reacción. La cuantificación de desaparición (síntesis) o aparición (hidrólisis) de vainillinamina se realizó por HPLC.

Resultados y discusión. Se sintetizaron 7 diferentes compuestos, cuyos residuos acilo son C8, C10, C12, C14, C16 y C18. Las reacciones de síntesis presentaron conversiones mayores al 75% en tiempos de reacción menores a 24 horas. En términos de la capacidad de las lipasas para llevar a cabo la reacción de hidrólisis, hemos observado que ésta depende de la naturaleza del sustrato y de las condiciones de reacción. Es decir la condición que determina la velocidad de reacción es la formación de una bifase entre el sustrato y el medio de reacción. Para lograr lo anterior se estableció que la temperatura del medio de reacción debe estar por encima del punto de fusión del sustrato. De esta manera, contrario a la mayoría de los compuestos evaluados, el compuesto cuyo residuo acilo es C18 y tiene un punto de fusión de 97°C, no es sensible a la hidrólisis enzimática.

Conclusiones. Se establecieron las condiciones de reacción que permiten la síntesis de análogos de la capsaicina mediante el uso de una lipasa y en un análisis sensorial preliminar encontramos que el poder pungente está relacionado con el tamaño del residuo acilo.

Bibliografía.

1. García HS, Ortega J, García ME, Martínez C (1995) La capsaicina, el principio pungente del chile; su naturaleza, absorción, metabolismo y efectos farmacológicos. *Ciencia* **46**: 84-102.
2. Yuste F, Castro V, Walls F (1979) Determinación de capsaicina en algunas variedades mexicanas del género *Capsicum*. *Rev. Soc. Quim. Mex.* **24**: 166-167. Reyes D., Castillo E., López-Munguía A. (2000) Capsaicin hydrolysis by *Candida antarctica* lipase. *Biotech. Letters* **22**: 1811-1814.