

Acetilación enzimática de almidones: una opción de valor agregado

Enzymatic acetylation of starch: a green option added value

Diego Montoya^I, Walter Murillo^{II}, Luis Barbosa^{III}, John Méndez^{IV}

Resumen

El almidón constituye una parte importante de la biomasa disponible en el mundo, sumado a su bajo costo y biodegradabilidad, han desencadenado en los últimos años un gran interés investigativo e industrial. No obstante, se requiere mejorar sus características fisicoquímicas y funcionales para ampliar la gama de aplicaciones en industrias como la farmacéutica y la alimentaria que presentan estándares de alta calidad. En la presente revisión se discuten el estado actual de la investigación de algunas condiciones de reacción como la actividad de agua, el tipo de solvente y la lipasa empleada sobre la modificación de los almidones y su funcionalidad. Además, de la aplicación de los almidones acetilados en las diferentes industrias.

Palabras clave: almidón, biomasa, fisicoquímicas, lipasa, acetilados.

Abstract

Starch is an important part of the biomass available in the world, coupled with its low cost and biodegradability have unleashed in recent years a large research and industrial interest. However, an improvement of their physicochemical and functional characteristics required to expand the range of applications in industries such as pharmaceuticals and food that have high quality requirements.

^IEstudiante de Biología, Grupo de investigación en productos naturales, facultad de ciencias, Universidad del Tolima. dfmontoyay@ut.edu.co.

^{II}Ph.D. Ciencias Químicas, Grupo de investigación en productos naturales, facultad de ciencias, Universidad del Tolima.

^{III}Ph.D. Ciencias Químicas, Grupo de investigación en productos naturales, facultad de ciencias, Universidad del Tolima.

^{IV} Ph.D. Ciencias Químicas, Grupo de investigación en productos naturales, facultad de ciencias, Universidad del Tolima.

In this review the current state of research of some effects of reaction conditions such as water activity, the type of solvent and lipase used on the modification of starches and functionality are discussed. Furthermore, generally the application of acetylated starches in different industries.

Keywords: starch, biomass, physicochemical, lipase, acetylated.

1. INTRODUCCION

Durante siglos los almidones tropicales han servido de alimentos básicos para millones de personas, a lo largo de las regiones cálidas y húmedas del mundo (Satin, 2000; FAO, 1998). Los almidones, la celulosa y las proteínas conforman una parte importante de la biomasa disponible y han recibido una atención considerable debido a su bajo costo, biodegradabilidad, capacidad de renovación y abundante suministro a nivel mundial (Trina Ghosh & Anil, 2012; Xin, & otros, 2012; Zamudio-Flores, Vargas-Torres, Gutiérrez-Meraz, & Bello-Pérez, 2010; S. Villada, A. Acosta, & J. Velasco, 2008).

El almidón es un biomaterial altamente hidrófilo, de bajo costo, biodegradable, y naturalmente renovable, que desempeña un papel importante en la industria alimentaria y se utiliza como materia prima para preparar diferentes productos en industrias como la de los plásticos, cosmética, textiles, papelera, farmacéutica, entre otras (Akhilesh V, Nath, & Anudwipa, 2010; Yanjuan, & otros, 2014; systemyan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014; Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008; Peñaranda Contreras, Perilla Perill, & Algecira Enciso, 2008; Rodriguez & Emeje, 2012; Sívoli, Pérez, & Rodríguez, 2012).

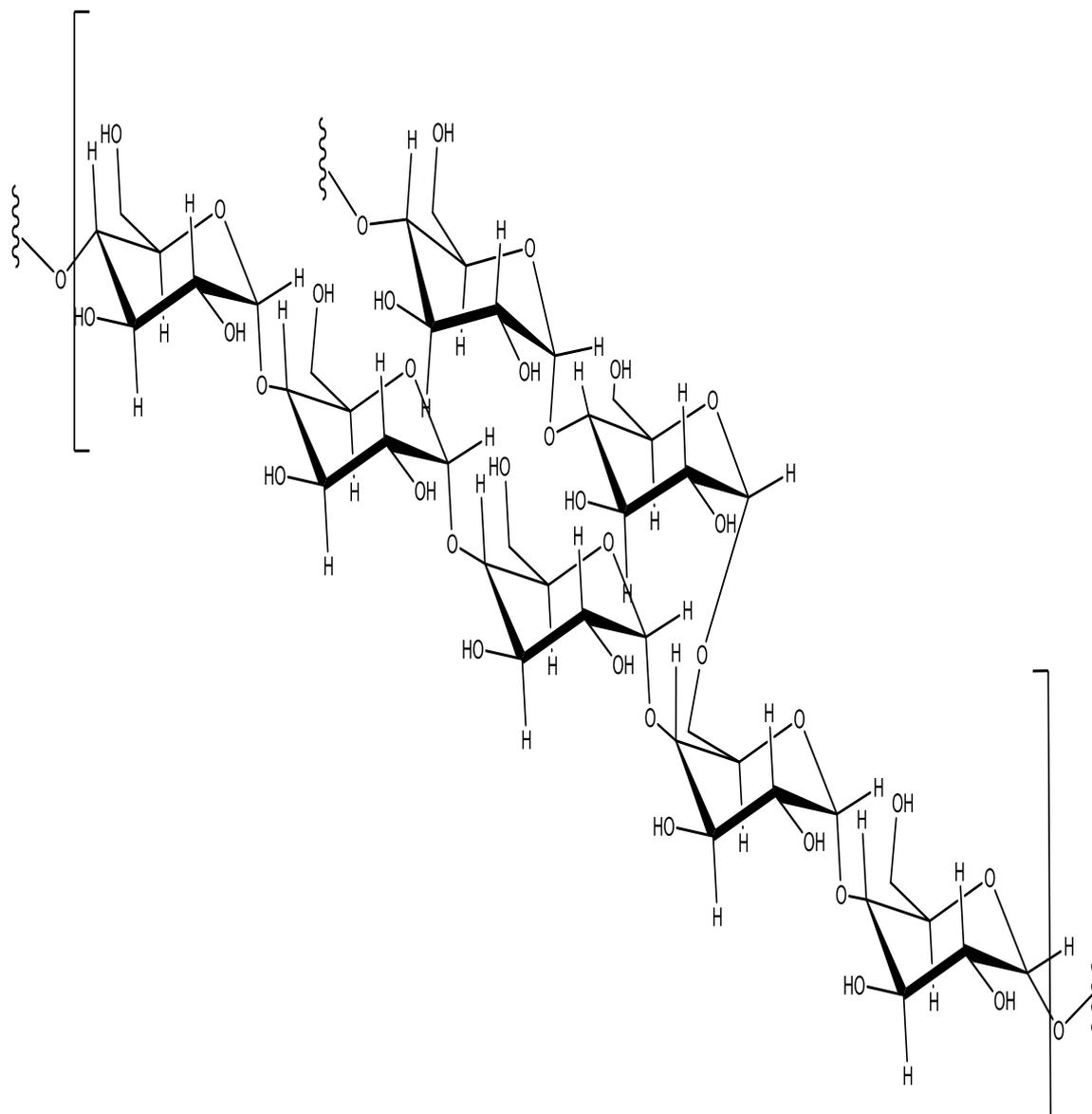
Estructuralmente el almidón es un poliglicano (polímero de unidades de D-glucosa), esencialmente compuesto por una mezcla de polisacáridos conformada por amilosa y amilopectina, (Figura 1) y una fracción minoritaria (de 1% a 2%) de conformación no glucosídica como lípidos y minerales. La mayoría de los almidones en su estructura glucosídica están conformados por alrededor de 20% de amilosa, y el restante 80% de amilopectina (Peñaranda Contreras, Perilla Perill, & Algecira Enciso, 2008; Rodriguez & Emeje, 2012; Fuentes Zaragoza, Riquelme Navarrete, Sánchez Zapata, & Pérez Álvarez, 2010).

El almidón nativo, presenta deficiencias en sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas. Entre ellas la baja resistencia al cizallamiento, baja estabilidad térmica, y alta tendencia a la retrogradación, lo cual dificulta su aplicación en áreas tan diversas como la cosmética, el recubrimiento de materiales y las aplicaciones biomédicas (Trina Ghosh & Anil, 2012; Hua-Xi, Qin-Lu, Gao-Qiang, & Feng-Xiang, 2012).

En consecuencia, diferentes grupos de investigación han centrado sus esfuerzos en el mejoramiento de las propiedades físico-químicas y funcionales de los almidones nativos, con el fin de permitir su aplicación en el desarrollo de nuevos productos a nivel industrial. De allí, que la modificación química del almidón con diferentes grupos

funcionales se ha constituido en una opción viable para alcanzar dicho objetivo (Yanjuan & otros, 2014; Guerra-DellaValle, Sánchez-Rivera, Zamudio-Flores, Méndez-Montealvo, & Bello-Pérez, 2009; Cheng & Gu, 2012; Rivas-González, Zamudio-Flores, & Bello-Pérez, 2009).

Figura 1. Estructura de la molécula del almidón



Fuente: autor- programa ChemDraw Professional 15.0

Claro ejemplo de lo anterior, lo constituye el incremento de las publicaciones científicas durante los últimos años, de los cuales el 83,2 % son artículos de investigación, seguido de artículos tipo revisión con un 5.9%. Estas investigaciones están centradas principalmente en áreas como la agricultura con un 45.8%, bioquímica y química con un 33.2%, siendo campos emergentes de gran importancia, la farmacología y la inmunología en los cuales se estudian las aplicaciones de este tipo de almidones.

No obstante, el potencial de la modificación química convencional para el mejoramiento de las propiedades de almidones nativos, la tendencia actual involucra el uso de tecnologías verdes que permitan la obtención de compuestos ópticamente puros con la consecuente menor concentración posible de subproductos (Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008; Loughlin, 2000; Yanjuan, & otros, 2014; Xua, & otros, 2012).

En este sentido, el uso de enzimas como biocatalizadores de reacciones de modificación química de almidones nativos aparece como una alternativa, teniendo en cuenta las excelentes propiedades de selectividad, especificidad e incluso regioespecificidad que exhiben estos catalizadores naturales (Adachi, & otros, 2011).

1.1 Modificaciones químicas más comunes realizadas sobre almidones nativos

La modificación química se ha constituido en una estrategia eficiente para mejorar las propiedades funcionales de los almidones nativos y con ello permitir su uso en aplicaciones específicas (Rivas-González, Zamudio-Flores, & Bello-Pérez, 2009).

la introducción de diferentes grupos funcionales en la estructura del almidón nativo a través de reacciones de eterificación, esterificación, reticulación y oxidación entre diferentes agentes modificantes y los grupos hidroxilo del polisacárido, permiten la adaptación de las características físico-químicas del almidón logrando ampliar su aplicabilidad en diferentes industrias de gran importancia como la farmacológica, la alimenticia y la cosmética (Xin, & otros, 2012; Alissandratos, Baudendistel, Flitsch, Hauer, & Halling, 2010). Las principales metodologías para la modificación se muestran en la tabla 1.

En este sentido, las propiedades fisicoquímicas de los almidones modificados varían de acuerdo al tipo de agente modificante usado y al grado de sustitución obtenido. El grado de sustitución, indica el promedio del número de sustituciones por unidad de glucosa en el almidón. El máximo desarrollo de sustitución (DS) es 3 debido a que se presentan tres grupos hidroxilo disponibles por unidad de glucosa (Miladinov & Hanna, 2000; Peñaranda Contreras, Perilla Perill, & Algecira Enciso, 2008; Rajan, Sudha, & Abraham, 2008), este DS cuando es más cercano a 3 aumenta la hidrofobicidad del almidón lo que favorece su solubilidad en compuestos orgánicos y potencializa su aplicación en procesos industriales de interés (Xin, & otros, 2012).

No obstante, el gran número de reacciones posibles para la modificación química de almidones nativos, las reacciones de esterificación con ácidos orgánicos y derivados de ácidos como aportantes de grupos acilo, se han constituido en las transformaciones más versátiles y más estudiadas para modificar la naturaleza química de estos polisacáridos (Heinze, Liebert, & Koschella, 2006). Dado que esta modifica la naturaleza hidrofílica del polímero y genera cambios significativos en las propiedades mecánicas y térmicas (Peñaranda Contreras, Perilla Perill, & Algecira Enciso, 2008), hecho que se potencializa debido a la amplia gama de donores acilo que son utilizados, en función de los cuales se confieren una gran variedad de características a los almidones modificados.

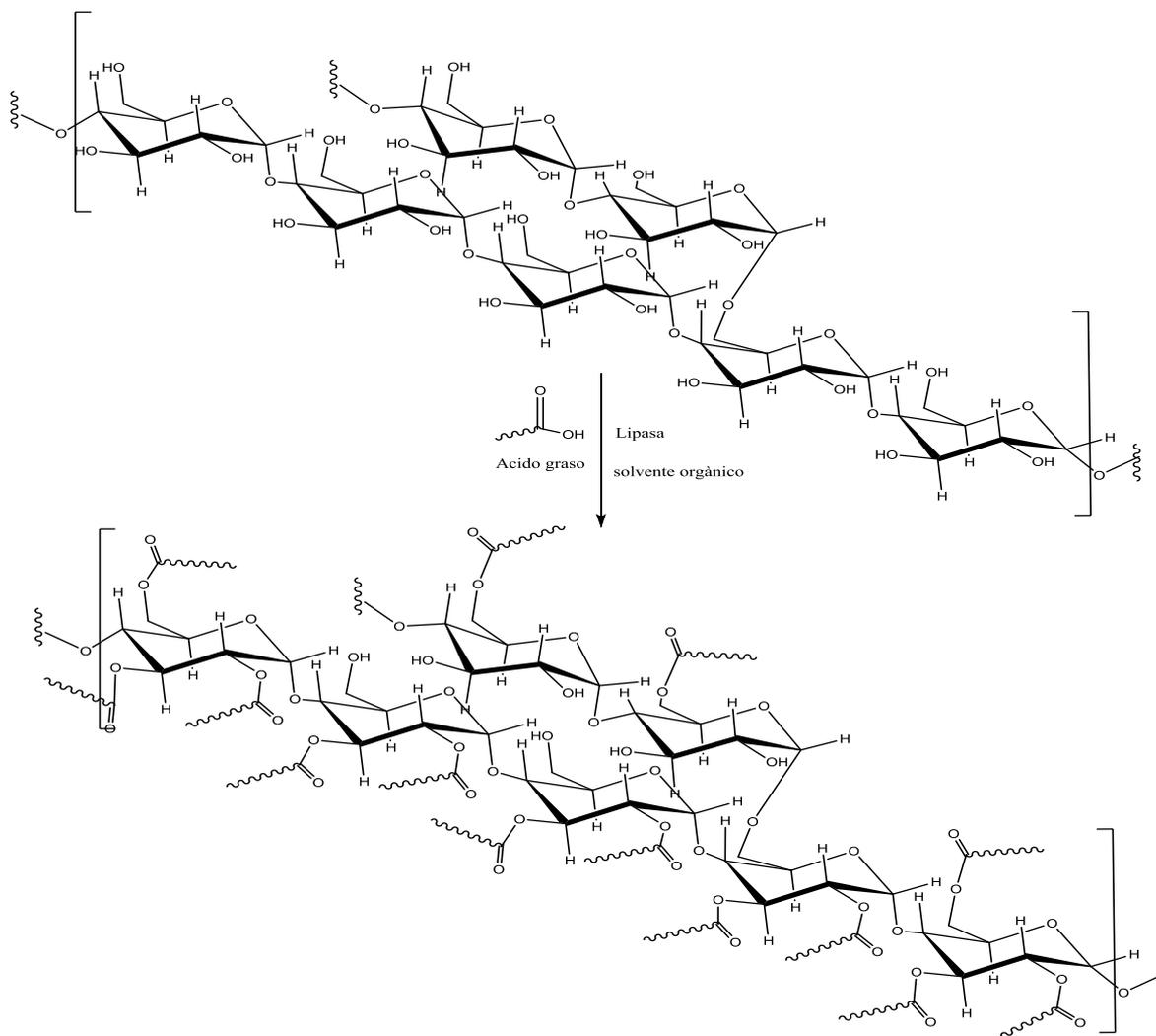
Las modificaciones químicas de almidones nativos han sido ampliamente estudiadas desde la catálisis convencional. Sin embargo, las tendencias actuales que buscan procesos que sean amigables con el medio ambiente han despertado en las últimas décadas el interés de los investigadores en la aplicación de la biotecnología y la biocatálisis en este tipo de reacciones (systemyan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014). Si bien la catálisis convencional es más rápida frente a la enzimática, esta última se desarrolla bajo condiciones suaves de reacción sin solventes agresivos y genera muy pocos o ningún subproducto dadas las características de regio selectividad y enantioselectividad que presentan las enzimas, lo que evidencia una gran ventaja frente a la catálisis química (Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008) (systemyan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014).

Tabla 1. Metodologías aplicadas para la modificación de almidones nativos

Metodología	Procedimiento	Resultados o aplicaciones
<i>Almidón pre gelatinizado</i>	Cocción de la suspensión, secado al rodillo, secado por pulverización o procesos de extrusión	Mantiene la integridad del almidón y aumenta la densidad en agua fría
<i>Almidón entrecruzado</i>	La sustitución de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de almidón presente por uniones covalentes más fuertes.	Mayor estabilidad al ácido, al calor y al cizallamiento
<i>Almidón oxidado</i>	Por reacción con hipoclorito de sodio o peróxido.	Agente de aprestamiento de superficie de revestimiento
<i>Almidones catiónicos</i>	Reacción de almidones nativos con aminas terciaria o, aminas cuaternarias, utilizando procesos	Para proceso de fabricación de papel

	de producción por vía húmeda o seca.	
<i>Dextrinas</i>	El calentamiento del almidón en polvo, sobre todo en la presencia de pequeñas cantidades de ácidos, a diferentes temperaturas y a diferentes tiempos de reacción, igualmente por tratamiento enzimático	Como adhesivos en la industria del papel y la industria textil, y en la industria alimentaria.
<i>Éteres de almidón</i>	Reacción de sustitución nucleofílica con un monómero etilénicamente insaturado, seguido por hidrólisis catalizada por ácido	Ácido para ajustar la viscosidad.
<i>Almidón modificado físicamente</i>	Almidón nativo se puede modificar con un tratamiento mecánico, utilizando la técnica de secado por pulverización, técnica de recocido	
<i>El almidón acetilado</i>	Tratamiento con anhídrido acético,	Proporcionan termo plasticidad, hidrofobicidad y la compatibilidad con otros aditivos.
<i>Almidones modificados enzimáticamente</i>	Modificación con amilasas u otro tipo de enzimas	Para producir derivados con buenas propiedades para su uso principalmente en el revestimiento de alimentos con colorantes.

Figura 2. Esquema de reacción de acetilación de almidones mediada por lipasas



Fuente: autor- programa ChemDraw Professional 15.0.

1.2 Acetilación enzimática de almidones nativos

El uso de biocatalizadores enzimáticos en reacciones de relevancia industrial, se ha constituido en una alternativa para el desarrollo de procesos catalíticamente eficientes y amigables con el medio ambiente (Figura 3) (system Yan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014; Alissandratos & Halling, 2012).

Las excelentes propiedades que presentan las enzimas como lo son su alta eficiencia catalítica, especificidad, selectividad e incluso enantioselectividad bajo condiciones

moderadas de reacción ha potencializado su uso en una gran variedad de reacciones químicas. Ejemplo de ello, lo constituye el reciente interés de la industria en el uso de rutas enzimáticas para la modificación de almidones nativos (systemyan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014; Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008).

La modificación de almidones catalizada por enzimas presenta ventajas importantes con respecto a las estrategias de modificación química convencionales.

Por ejemplo, La posibilidad de simplificación del proceso de reacción y el aislamiento de los productos sin el uso de disolventes agresivos y tóxicos (Yanjuan, & otros, 2014; Rajan, Sudha, & Abraham, 2008); la eliminación de sucesivas etapas complicadas de protección y desprotección de grupos funcionales, considerado uno de los principales retrocesos en la síntesis orgánica tradicional (Halling & Alissandratos, 2012); la menor generación de subproductos no deseados debido a la elevada especificidad y regioespecificidad de las enzimas (Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008; Xua, & otros, 2012). Adicionalmente, si la modificación del almidón nativo es realizada en fase heterogénea utilizando la enzima inmovilizada, es posible reutilizar el biocatalizador en varios ciclos de reacción, disminuyendo con ellos los costos del proceso (Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008).

Las lipasas son tal vez las enzimas con mayor potencial de aplicación en la modificación química de almidones nativos, principalmente catalizando reacciones de esterificación con ácidos grasos de cadena larga como agentes aportantes de acilo.

La eficiencia de la reacción de modificación dependerá de factores como el tipo de lipasa, la longitud de la cadena del agente acilante, el disolvente orgánico utilizado como medio de reacción y la actividad termodinámica del agua. De allí, el gran número de trabajos publicados a partir de 2005, con excepción de algunas investigaciones anteriores (systemyan, Jiaying, Jia, Wenlong, & Chungu, 2014; Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008).

1.3 Influencia del tipo de biocatalizador lipásico

Las enzimas se consideran biocatalizadores naturales con alto número de recambio, alta eficiencia y especificidad. Entre el gran número de enzimas existentes, son las lipasas las que presentan mayor potencial de aplicación en áreas muy diversas de la industria (Akoh, Chang, Lee, & Shaw, 2008).

Las lipasas (glicerol-éster hidrolasas; EC 3.1.1.3) son enzimas que *in vivo* catalizan la hidrólisis de triglicéridos a diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos y glicerol (Martinelle & col., 1995; Svendsen, A., 2000; Sharma & col., 2011). *In vitro*, son enzimas extraordinariamente versátiles que han recibido considerable atención en biotecnología desde hace más de tres décadas (González-Bacerio, Rodríguez Hernández, & del Monte Martínez, 2010), gracias a su capacidad para catalizar un gran número de reacciones químicas de relevancia en diversos campos de las industrias agroquímica, farmacéutica, de detergentes y alimentaria, así como en química fina (González-

Bacerio, Rodríguez Hernández, & del Monte Martínez, 2010; Aceves Diez & Castañeda Sandoval, 2012; Osuna & Rivero, 2012; Palomo Carmona, 2003; Reetz, Rüggeberg, Dröge, & Quax, 2002).

Estas enzimas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, (Guillén Montalbán, 2012), siendo las provenientes de microorganismo las más activas catalíticamente (Aceves Diez & Castañeda Sandoval, 2012).

Las lipasas presentan un complejo mecanismo de acción, denominado “activación interfacial de lipasas”. De acuerdo con este mecanismo, las lipasas en medios acuosos homogéneos se encuentran en una conformación cerrada e inactiva en la cual su sitio activo se encuentra ocluido por oligopéptido flexible (*lid*) tapadera (Barbosa, Ortiz, Torres, & Fernandez-Lafuente, 2011) (Hui & Howles, 2002 Miled, y otros, 2003). Sin embargo, en presencia de una interface hidrofóbica (una gota de grasa, una burbuja de aire, una estructura hidrofóbica), la tapadera se desplaza, adsorbiéndose sobre la interface dejando expuesto el centro activo de la lipasa y generando con ello una conformación abierta e hiperactiva (Bastida & col., 1998; Reis & col. 2008; Reis & col., 2008; Reis & col., 2009; Rehm & col., 2011 Palomo & Guisan, 2012).

Tabla 2. Lipasas empleadas en la modificación de almidones

FUENTE DE LA LIPASA	FUENTE DE ALMIDON	RESULTADOS	REFERENCIA
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Tapioca (<i>Manihot esculenta</i>)	DS de 0,0018	(Apostolos , Baudendistel, Flitsch, Hauer, & Halling, 2010)
<i>Staphylococcus aureus</i> (SAL3)	Maiz (<i>Zea mays</i>)	conversión de 76% DS de 2.86	(Horchani, Chaâbouni, Gargouri, & Sayari, 2010)
<i>C. rugosa</i>	Yuca (<i>Manihot esculenta</i>)	Conversion de 65.86% DS del 1,04	(Rajan, Sudha, & Abraham, 2008)
<i>Novozym 435</i>	Maiz (<i>Zea mays</i>)	DS de 1,04 DS 0,0072	(Jia-Ying , & otros, 2012)
<i>Novozym 435</i>	Maiz (<i>Zea mays</i>)	Conversion84,0 5 ± 2,07% DS 0,0195	(Xua, & otros, 2012)

En el campo específico de la modificación de almidones nativos, se han utilizado lipasas de diferentes orígenes catalizando reacciones de esterificación, usando como agentes

acilantes ácidos grasos (Tabla 2) mostrando aceptables rendimientos de modificación dependiendo de las condiciones del medio de reacción.

1.4 Efecto del solvente

En los procesos enmarcados dentro de la química verde se ha evitado el uso de solventes orgánicos volátiles, tóxicos, que puedan presentar problemas económicos, ambientales y de seguridad los cuales pueden limitar la comercialización ulterior de la tecnología y en particular su idoneidad para la aplicación en industrias como la alimentaria, farmacológica y cosmética (Yanjuan , & otros, 2014).

La estructura tridimensional de una enzima depende de un delicado balance de interacciones de tipo puentes de hidrogeno, efectos hidrofóbicos, fuerzas de van der Waals y las interacciones dipolo – dipolo, que se generan dentro de la misma proteína y entre la proteína y el solvente utilizado. Estos son requisitos importantes a tener en cuenta al realizar catálisis homogénea en sistemas con solventes orgánicos; además claro está, de la capacidad de solubilizar y estabilizar el biocatalizador por parte del solvente (Stergiou, & otros, 2013).

En este sentido, el uso de solventes orgánicos como medios de reacción proveen numerosas ventajas en la aplicación industrial comparada con los sistemas convencionales de reacción (Doukyu & Ogino, 2010), destacando la fácil disolución de compuestos hidrofóbicos, disminución del equilibrio de reacción en sentido de la hidrólisis, aumenta la velocidad difusión, menor riesgo de contaminación por microorganismos, fácil recuperación de la enzima una vez terminada la acetilación, posible aumento de la estabilidad térmica y la viabilidad de las reacciones que se catalizan que son de difícil desarrollo en medios acuosos (citado por Krishna & Karanth, 2002; Saliyu & Zahangir Alama, 2015; Serdakowski & Dordick , 2007).

La información acerca de la conformación estructural de las lipasas permitió establecer que, en presencia de medios acuosos homogéneos, la lipasa cristaliza con el centro activo totalmente aislado del medio de reacción por la tapadera (flat o lid), haciendo inaccesible la entrada de los sustratos (conformación cerrada) hacia el sitio activo. Esta cadena polipeptídica presenta en su cara interna una serie de residuos hidrofóbicos que interaccionan con las zonas hidrofóbicas que rodean al sitio activo de las lipasas (Bastida & col., 1998; Palomo & col., 2002).

Por el contrario, cuando la enzima se cristaliza en presencia de interfases hidrofóbicas se obtiene una conformación totalmente distinta, en la cual la tapadera se desplaza del centro activo, producto de la interacción entre puentes salinos y puentes de hidrógeno con otra zona de la superficie de la lipasa, dejando libre el centro activo de la enzima (conformación abierta) (Bastida & col., 1998; Reis & col. 2008; Reis & col., 2008; Reis & col., 2009; Rehm & col., 2011).

Por consiguiente, la elección de un solvente orgánico adecuado debe tener en cuenta las propiedades físicas y químicas tales como polaridad, puntos de ebullición y

congelamiento, masa molar, viscosidad, capacidad calorífica, pH, basicidad entre otros (Stergiou, & otros, 2013). Con el fin de determinar la especificidad y la idoneidad de las propiedades del solvente a utilizar (Stergiou, & otros, 2013).

Generalmente, los ésteres de almidón con ácidos grasos son sintetizados mediante la dispersión de almidón y los agentes de esterificación en disolventes orgánicos tales como piridina, tolueno, sulfóxido de dimetilo (DMSO), n-decano, n-octano o N,N-dimetilformamida (DMF) dada la alta actividad de las lipasas en estos solventes o en sistemas libres de solvente (Doukyu & Ogino, 2010; Yanjuan , & otros, 2014; systemyan, Jiaying , Jia , Wenlong , & Chungu, 2014). Los sistemas de solventes más utilizados en los últimos años se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Solventes empleados para la modificación de almidones catalizada por lipasas

Solvente empleado	Fuente de almidón	Enzima empleada	Referencia
DMSO	Yuca (Manihot esculenta)	Lipasa Novozym 435	(Rihui , He, Han, Jiating , & Wenqin , 2015)
buffer fosfato de sodio [0.1 M]	Yuca (Manihot esculenta)	lipasa de <i>Thermomyces lanuginosus</i>	(Apostolos , Baudendistel, Flitsch, Hauer, & Halling, 2010)
DMSO/DMF	Yuca (Manihot esculenta)	Candida rugosa (lipase AYS)	(Rajan, Sudha, & Abraham, 2008)
Sistema libre de solvente	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Staphylococcus aureus (SAL3)	(Horchani, Chaâbouni, Gargouri, & Sayari, 2010)
Sistema libre de solvente	Maíz (<i>Zea mays</i>)	lipasa Novozym435	(Yanjuan , & otros, 2014)

1.5 Influencia de la actividad termodinámica del agua

De los parámetros primordiales a tener en cuenta al realizar una acetilación catalizada por lipasas, es la actividad de agua y el contenido de agua en el medio de reacción, el curso que esta siga depende en gran medida del contenido de agua que se encuentre en el medio de reacción, esto porque la disminución del agua en el medio conlleva a la disminución de la competencia por hidrolisis en la reacción, consecuentemente con esto, se encuentran variedad de reportes de mecanismos de reacción aplicando sistemas no

acuosos o con bajo contenido de agua (Stergiou, & otros, 2013; Hasan , Shah , & Hameed , 2009; Knežević , Šiler-Marinković , & Mojović , 2004; Krishna & Karanth, 2002).

Las pequeñas cantidades de agua en los solventes orgánicos pueden ser controladas en un pequeño rango, y representan grandes efectos sobre la actividad lipásica, además el aumento de la actividad de agua genera competencia nucleofílica. A diferencia de otras hidrolasas, las lipasas presentan buena actividad al ser suspendidas en una interfaz lípido/agua; por otra parte, su especificidad por sustrato, regioselectividad y estereoselectividad pueden ser controladas por variación del medio de reacción (Knežević, Šiler-Marinković, & Mojović , 2004; Stergiou, & otros, 2013).

El agua que se produce durante el desarrollo de la reacción, y su acumulación en el medio de reacción disminuyen las tasas de reacción y el rendimiento de la esterificación, independientemente del tipo de reacción, enzimática o no (Stergiou, & otros, 2013). Por esto es necesario eliminar este exceso de agua del medio de reacción, para evitar la competencia. Para este fin, varios métodos se han empleado como lo son el uso de tamices moleculares, sales deshidratadas, bandas de silica gel o extracción por destilación (Khan & Rathod, 2015; Sekeroglu, Fadloglu, & Ibanoglu, 2002).

Sin embargo, una pequeña capa de agua desempeña un papel importante en el mantenimiento de la integridad de la estructura y conformación catalítica activa de las lipasas. Por esto, la existencia de trazas de agua muy cercanos a la lipasa es un prerrequisito para mantener la funcionalidad de la enzima en los medios orgánicos (Krishna & Karanth, 2002).

Yanjuan y colaboradores en el 2014 pre-equilibraron la actividad de agua en el medio de reacción y los reactivos, al ponerlo en contacto por tres días en un contenedor sellado con sales saturadas o absorbentes sólidos para fijar y establecer la actividad de agua para la esterificación que se desarrolló en un sistema libre de solvente, empleando la lipasa Novozym 435 y ácido palmítico como donador acilo, estableciendo una actividad de agua inicial <0.01 a 0.57 como la ideal para este caso. Generando DS de hasta el 76.5%, el cual disminuyó a medida que la actividad de agua aumentó por el desplazamiento del equilibrio de reacción en sentido de la hidrólisis.

Por otra parte, Jia-Ying y colaboradores en el 2012, compararon la acetilación de almidones empleando sistemas con solvente y libres de solvente en el cual pre-equilibraron la actividad de agua inicial a ($a_w < 0.01$), poniendo todos los sustratos de reacción en contacto con un tamiz molecular por tres días sellado al vacío, logrando fijar la actividad de agua mencionada, bajo estas condiciones y empleando la lipasa comercial Novozym 435 en el sistema de reacción se lograron DS de alrededor de 1.04.

1.6 Tendencias del uso y aplicaciones de almidones modificados enzimáticamente

Los almidones modificados por vía enzimática presentan un grado de contaminación mínima y cumplen con parámetros como el bajo porcentaje de mezcla de enantiómeros, baja cantidad de subproductos, menor uso de productos agresivos o tóxicos en la manufactura, impuestos por industrias muy exigentes como la alimentaria y la farmacéutica (Xin, & otros, 2012). Estos almidones muestran mayor estabilidad a condiciones extremas de procesamiento, incrementan su resistencia a la retrogradación y mejoran la estabilidad durante el congelamiento (Guerra-DellaValle, Bello-Pérez, González-Soto, Solorza-Feria, & Arámbula-Villa, 2008).

Los ésteres de almidón se utilizan en muchas aplicaciones industriales como colas, adhesivos y auxiliares de una amplia gama de propiedades reológicas y funcionales (Rajan, Sudha, & Abraham, 2008). Sin embargo, este tipo de polímeros se han usado más recientemente en aplicaciones biomédicas, estos son biocompatibles, osteoconducentes, bioabsorbibles y tienen suficientes propiedades mecánicas para proveer un soporte estructural durante el crecimiento y la remodelación del hueso (ver Tabla 4) (Rincón, Rodríguez, Londoño, & Echavarría, 2007).

Estos incluyen biomateriales a base de almidón como andamios para la ingeniería de tejidos de hueso y cartílago, materiales para la fijación y sustitución de huesos, así como para el relleno de defectos óseos (Reis & Cohn, 2000). Convirtiéndose en matrices de cuarta generación en el campo de la ingeniería de tejidos.

Tabla 4. Aplicaciones de los almidones modificados

APLICACIONES DE LOS ALMIDONES MODIFICADOS		
MODIFICACION	APLICACIÓN	REFERENCIA
Bajo DS	Espesantes para mejorar la estabilidad y claridad de las pastas.	(Guerra-DellaValle, Sánchez-Rivera, Zamudio-Flores, Méndez-Montealvo, & Bello-Pérez, 2009)
Con ácidos orgánicos	Aplicaciones termoplásticas y la estabilidad térmica de los ésteres de almidón.	(S. Villada, A. Acosta, & J. Velasco, 2008) (Zamudio-Flores, Vargas-Torres, Gutiérrez-Meraz, & Bello-Pérez, 2010)
Con ácidos di carboxílicos	Adhesivo hermético y papeles adhesivos.	(Guerra-DellaValle, Bello-Pérez, González-Soto,

		Solorza-Feria, & Arámbula-Villa, 2008)
Con donadores de acilo como ácido succínico	Conservantes en productos de alimentos congelados y como desintegrantes de las tabletas.	(Rena, & otros, 2010)
Entrecruzamiento	Absorbentes en la purificación de alfa amilasas y agente antibloqueo en el soplado de las películas.	(Trina Ghosh & Anil N. , 2012)
Ésteres de almidón	Plastificantes y laminación en papel.	(Yanjuan Z. , & otros, 2014) (Zhou, Robards, Helliwell, & Blanchard, 2007)(Xua, y otros, 2012)

Además, se están utilizando como portadores para la liberación controlada de fármacos y otros agentes bioactivos (Malafaya, C., Gallardo, San Roman, & Reis, 2001), dadas las características de actividad de agua que poseen, las cuales son ideales para este tipo de recubrimientos, también los nuevos hidrogeles y cementos óseos parcialmente degradables están usando estos almidones como materia prima (Alissandratos, Baudendistel, Flitsch, Hauer, & Halling, 2010). Los almidones de arroz modificados, están bien establecidos como excipientes multifuncionales en la industria farmacéutica (Akhilesh V , Nath, & Anudwipa, 2010), El uso de almidón modificado es una estrategia importante en la implementación de excipientes dado que a diferencia de los productos sintéticos -el almidón presenta biocompatibilidad-, no toxicidad, baja inmunogenicidad, es biodegradable, ecológico y barato; por esto, han sido los polímeros preferidos usados en los sistemas de microencapsulación (Rodriguez & Emeje, 2012). Se utilizan generalmente para formulaciones de comprimidos de liberación inmediata, en las drogas que deben tener disponibilidad en corto tiempo en la zona de absorción (Akhilesh V, Nath, & Anudwipa, 2010).

2. CONCLUSION

El progreso en el entendimiento de la acetilación enzimática de almidones nativos de diferentes orígenes botánicos, ha convertido estos procesos en importantes fuentes de materias primas para importantes ramas de la industria a nivel mundial, prueba de esto es el auge de investigaciones en las pasadas décadas. Las condiciones de reacción tales como el tipo de lipasa empleado, los ácidos grasos que hacen las veces de donores acilo, la actividad de agua, los medios de reacción y la temperatura influyen de manera importante en los desarrollos de sustitución que se logren en los productos; y por tanto, en los cambios estructurales y funcionales que se les confieran a los materiales modificados. Los cambios en las características fisicoquímicas logrados hasta el

momento como la pérdida de la estructura cristalina, variaciones morfológicas y la solubilidad en agua, han permitido la aplicación de los almidones en industrias tan selectivas como la farmacológica o la cosmética, generando así un valor agregado importante para las cadenas de producción al momento de industrializar el proceso.

Referencias bibliográficas

- Aceves Diez, A. E., & Castañeda Sandoval, L. M. (2012). producción biotecnológica de lipasas microbianas, una alternativa sostenible para la utilización de residuos agroindustriales. *Vitae*, 244--247.
- Adachi, D., Hama, S., Numata, T., Nakashima, K., Ogino, C., Fukuda, H., & Kondo, A. (2011). Development of an *Aspergillus oryzae* whole-cell biocatalyst coexpressing triglyceride and partial glyceride lipases for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 6723–6729.
- Akhilesh V, S., Nath, L. K., & Anudwipa, S. (2010). pharmaceutical, food and non-food applications of modified starches: a critical review. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1214-1221.
- Akoh, C., Chang, S., Lee, G.-C., & Shaw, J.-F. (2008). Biocatalysis for the Production of Industrial Products and Functional Foods from Rice and Other Agricultural Produce. *agricultural and food chemistry*, 10445–10451.
- Alissandratos, A., Baudendistel, N., Flitsch, S. L., Hauer, B., & Halling, P. J. (2010). Lipase-catalysed acylation of starch and determination of the degree of substitution by methanolysis and GC. *BMC Biotechnology*.
- Alissandratos, A., & Halling, P. J. (2012). Enzymatic acylation of starch. *Bioresource Technology*, 115, 41–47. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.030>
- Barbosa, O., Ortiz, C., Torres, R., & Fernandez-Lafuente, R. (2011). Effect of the immobilization protocol on the properties of lipase B from *Candida antarctica* in organic media: Enantiospecific production of atenolol acetate. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 71(3-4), 124–132. <http://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.04.008>
- Bastida A, Sabuquillo P, Armisen P, Fernández-Lafuente R, Huguet J, Guisan JM. "A single step purification, immobilization, and hyperactivation of lipases via interfacial adsorption on strongly hydrophobic supports". *Biotechnology and Bioengineering*. (1998). 58: 486-493.
- Cheng, H. N., & Gu, Q.-M. (2012). Enzyme-Catalyzed Modifications of Polysaccharides and Poly (ethylene glycol). *polymers*, 1311-1330.
- Doukyu N, Ogino H. Organic solvent-tolerant enzymes. *Biochem Eng J*2010; 48:270–82. [11] Serdakowski AL, Dordick
- FAO. (1998). *Functional Properties of Starches*.

- Fuentes Zaragoza , E., Riquelme Navarrete , M. J., Sánchez Zapata, E., & Pérez Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4):931-42.
- Ghosh Dastidar, T., & Netravali, A. N. (2012). "Green" crosslinking of native starches with malonic acid and their properties. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1620–1628. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.041>
- González-Bacerio, J., Rodríguez Hernández, J., & del Monte Martínez, A. (2010). Lipases: enzymes having the potential for developing immobilised biocatalysts by interfacial adsorption. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 124-140.
- Guerra-DellaValle, D., Bello-Pérez, L. A., González-Soto, R. A., Solorza-Feria, J., & Arámbula-Villa, G. (2008). Effect of reaction time on the acetylation of plantain starch. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 283-291.
- Guerra-DellaValle,, D., Sánchez-Rivera, M., Zamudio-Flores, P., Méndez-Montealvo, G., & Bello-Pérez, L. (2009). Efecto del tipo de modificación en las características fisicoquímicas y reológicas del almidón de plátano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 197-203.
- Guillén Montalbán, M. (2012). Caracterización, inmovilización y aplicación en biocatálisis de la lipasa de *Rhizopus oryzae* expresada en *Pichia pastoris*. Bellaterra: Universidad Autónoma De Barcelona.
- Halling, P. J., & Alissandratos, A. (2012). Enzymatic acylation of starch. *Bioresource Technology*, 41–47.
- Hasan , F., Shah , A., & Hameed , A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: a comprehensive review. . *Biotechnol Adv*, 27:782–98.
- Heinze, T., Liebert, T., & Koschella, A. (2006). Esterification of Polysaccharides.
- Horchani, H., Chaâbouni, M., Gargouri, Y., & Sayari, A. (2010). Solvent-free lipase-catalyzed synthesis of long-chain starch esters using microwave heating: Optimization by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 466–474.
- Hua-Xi , X., Qin-Lu , L., Gao-Qiang , L., & Feng-Xiang , Y. (2012). A Comparative Study of the Characteristics of Cross-Linked, Oxidized and Dual-Modified Rice Starches. *Molecules*, 10946-10957.
- Hui, D., & Howles, P. N. (2002). Carboxyl ester lipase: structure-function relationship and physiological role in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Lipid*, 43 (12): 2017-30.
- Jia-Ying , X., Yan , W., Tie , L., Kai , L., Le , C., & Chun-Gu , X. (2012). Biosynthesis of Corn Starch Palmitate by Lipase Novozym 435. *International Journal of Molecular Sciences*, 7226-7236
- Khan, N. R., & Rathod, V. K. (2015). Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: A review. *Process Biochemistry* , 1793–1806.
- Knežević , Z., Šiler-Marinković , S., & Mojović , L. (2004). Immobilized lipases as practical catalysts— review. *Acta Period Technol-FF*, 35:151–64.

- Krishna , H., & Karanth, N. (2002). Lipases and lipase-catalyzed esterification reactions in nonaqueous media. . *Catal Rev*, 44:499–591.
- Loughlin, W. A. (2000). Loughlin, W. A. Biotransformations in organic synthesis. *Bioresource Technology*, 49-62.
- Malafaya, P. B., C., E., Gallardo, A., San Roman, J., & Reis, R. L. (2001). Porous starchbased drug delivery systems processed by a microwave route. *Journal of Biomaterials Science: Polymer*, 1227–1241.
- Martinelle M, Holmquist M, Hult K. “On the interfacial activation of *Candida Antarctica* lipase A and B as compared with *humicola lanuginose* lipase”. *Biochimica et Biophysica Acta*. (1995). 1258: 272-276.
- Miladinov, V. D., & Hanna, M. A. (2000). Starch esterification by reactive extrusion. *Industrial Crops and products*.
- Miled, N., Bussetta, C., De Caro, A., Riviere, M., Berti, L., & Canaan, S. (2003). Importance of the lid and cap. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 136(1): 131-8.
- Osuna, V., & Rivero, I. A. (2012). Study of the Influence of Microwave and Conventional Heating on the Lipase-Catalyzed Esterification of Lauric Acid with Different Alcohols. *J. Mex. Chem. Soc.*, 176-182.
- Palomo J, Fernández-Lorente G, Mateo C, Fuentes M, Fernández-Lafuente R, Guisan JM. “Modulation of the enantioselectivity of *Candida antarctica* B lipase via conformational engineering: kinetic resolution of (\pm)-hydroxy-phenylacetic acid derivatives”. *Tetrahedron: Asymmetry*. (2002). 13: 1337–1345.
- Palomo Carmona, J. M. (2003). Control y Modulación de la selectividad de diferentes derivados de lipasas en reacciones de química orgánica en medios macroacuados. Tesis Doctoral. Madrid: Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC Madrid.
- Palomo J, Guisan JM. “Different strategies for hyperactivation of lipase biocatalysts”. *Methods in Molecular Biology*. (2012). 861: 329-341.
- Peñaranda Contreras, O. I., Perilla Perill, J. E., & Algecira Enciso, N. A. (2008). Revisión de la modificación química del almidón con ácidos orgánicos. *REVISTA INGENIERÍA E INVESTIGACIÓN*, 47-52.
- Rajan , A., Prasad , V. S., & Abraham , E. T. (2006). Enzymatic esterification of starch using recovered coconut oil. *International journal of biological macromolecules*, 39(4):265-72.
- Rajan, A., Sudha, J. D., & Abraham, T. E. (2008). Enzymatic modification of cassava starch by fungal lipase. *industrial crops and products*, 50–59.
- Rangel, S. X., García, J., & Orrego, C. E. (2011). Inmovilización de lipasa de *candida antártica* sobre soportes de quitosano-gelatina. *revista colombiana de química*, 149-164.
- Reetz, M. T., Rüggeberg, C. J., Dröge, M. J., & Quax, W. J. (2002). Immobilization of chiral enzyme inhibitors on solid supports by amide-forming coupling and olefin metathesis. *Tetrahedron*, 8465-8473.

- Rehm S, Trodler P, Pleiss J. "Solvent-induced lid opening in lipases: A molecular dynamics study". *Protein Science*. (2011). 19 (11): 2122-2130.
- Reis, R. L., & Cohn, D. (2000). *Polymer Based Systems on Tissue Engineering, Replacement and Regeneration*. Rui L.
- Reis, Daniel Cohn. Reis P, Miller P, Kragel K, Leser M, et al. "Lipases at Interfaces: Unique Interfacial Properties as Globular Proteins". *Langmuir*. (2008). 24: 6812-6819.
- Reis P, Holmberg K, Watzke H, Leser M, Miller R. "Lipases at interfaces: A review". *Advances in Colloid and Interface Science*. (2009). 147-148 (C): 237-250.
- Ren, L., Jiang, M., Tong, J., Bai, X., Dong, X., & Zhou, J. (2010). Influence of surface esterification with alkenyl succinic anhydrides on mechanical properties of corn starch films. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 1010–1013. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.041>
- Rincón, M., Rodríguez, A., Londoño, M. E., & Echavarría, A. (2007). FABRICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA MATRIZ TRIDIMENSIONAL DE HIDROXIAPATITA MACROPOROSA PARA APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS. *Escuela de Ingeniería de Antioquia*, 87-95.
- Rivas-González, M., Zamudio-Flores, P. B., & Bello-Pérez, L. A. (2009). EFFECT OF THE ACETYLATION DEGREE ON THE MORPHOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF BANANA STARCH. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 291-297.
- Rodríguez, A., & Emeje, M. (2012). Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 87(2):987-94.
- Salihu, A., & Zahangir Alama, M. (2015). Solvent tolerant lipases: A review. *Process Biochemistry*, 86–96.
- S. Villada, H., A. Acosta, H., & J. Velasco, R. (2008). Investigación de Almidones Termoplásticos, Precursores de productos biodegradables. *Información Tecnológica*, 3-14.
- Satin, M. (2000). Functional properties of starches. *FAO*.
- Sekeroglu, G., Fadloglu, S., & Ibanoglu, E. (2002). Production and characterization of enzymatically produced lauric acid esters of fructose. *J. Sci. Food Agric.*, 1516–1522.
- Serdakowski, A., & Dordick, J. (2007). Enzyme activation for organic solvents made easy. *Trends Biotechnol*, 48–54.
- Sharma D, Sharma B, Shukla AK. "Biotechnological approach of microbial lipase: A review". *Biotechnology*. (2011). 10(1): 23-40.
- Sívoli, L., Pérez, E., & Rodríguez, P. (2012). Análisis estructural del almidón nativo de yuca (*Manihot esculenta* C.) empleando técnicas morfométricas, químicas, térmicas y reológicas. *Rev. Fac. Agron.*, 293-313.
- Singh, A. V., Nath, L. K., & Singh, A. (2010). Pharmaceutical, food and non-food applications of modified starches: a critical review. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*.

- Singh, J., Kaur, L., & McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications: A review. *Food Hydrocolloids*, 21(1):1-22.
- Stergiou, P.-Y., Foukis, A., Filippou, M., Koukouritaki, M., Parapouli, M., Theodorou, L. G., . . . Papamichael, E. M. (2013). Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. *Biotechnology Advances*, 1846–1859.
- Svendsen A. "Lipase protein engineering". *Biochimica et Biophysica Acta*. (2000). 2:223-238.
- Yan, W., Jiaying, X., Jia, S., Wenlong, W., & Chungu, X. (2014). A kinetic study of starch palmitate synthesis by immobilized lipase-catalyzed esterification in solvent free system. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 73–79.
- Tejo, B., Salleh, A., & Pleiss, J. (2004). Structure and dynamics of *Candida rugosa* lipase: the role of organic solvent. *J Mol Model*, 10:358–66.
- Trina Ghosh, D., & Anil N., N. (2012). 'Green' crosslinking of native starches with malonic acid and their properties. *Carbohydrate Polymers*, 1620–1628.
- Xin J-Y, Li S-B, Xu Y, Chui J-R, Xia CG. Dynamic enzymatic resolution of naproxen methyl ester in a membrane bioreactor. *J Chem Technol Biotechnol* 2001; 76:579–85.
- Xin, J.-Y., Wang, Y., Liu, T., Lin, K., Chang, L., & Xia, C.-G. (2012). Biosynthesis of Corn Starch Palmitate by Lipase Novozym 435. *International Journal of Molecular Sciences*, 7226-7236.
- Xua, J., Zhou, C.-w., Wang, R.-z., Yang, L., Dua, S.-s., & Wang, F.-p. (2012). Lipase-coupling esterification of starch with octenyl succinic anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 2137–2144.
- Xie, X., & Tang, Y. (2007). Efficient Synthesis of Simvastatin by Use of Whole-Cell Biocatalysis. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 2054–2060.
- Yanjuan, Z., Tao, G., Huayu, H., Zuqiang, H., Aimin, H., Yuanqin, Z., & Mei, Y. (2014). A Green Technology for the Preparation of High Fatty Acid Starch Esters: Solid-Phase Synthesis of Starch Laurate Assisted by Mechanical Activation with Stirring Ball Mill as Reactor. *I&EC*, 2114–2120. 50.
- Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Gutiérrez-Meraz, F., & Bello-Pérez, L. A. (2010). Caracterización fisicoquímica de almidones doblemente modificados de plátano. *Agrociencia*, 283-295.
- Zhang, Y., Gan, T., Hu, H., Huang, Z., Huang, A., Zhu, Y., . . . Yang, M. (2014). A Green Technology for the Preparation of High Fatty Acid Starch Esters: Solid-Phase Synthesis of Starch Laurate Assisted by Mechanical Activation with Stirring Ball Mill as Reactor.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2007). Effect of the addition of fatty acids on rice starch properties. *Food Research International*, 209–214.

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
Diego Montoya, Walter Murillo, Luis Barbosa, John Méndez. Acetilación enzimática de almidones: una opción de valor agregado. Revista Tumbaga (2015), 10, vol.I, 88-107.	Días /mes /año 11/03/2015	Días/mes/año 26/04/2015