

Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industrial

Characterization, classification and uses of lipase enzymes in industrial production

Luz Angelica Salazar Carranza¹ <https://orcid.org/0000-0002-0468-1558>

Marilú Mercedes Hinojoza Guerrero¹ <https://orcid.org/0000-0002-2289-2658>

Mónica Patricia Acosta Gaibor¹ <https://orcid.org/0000-0002-1437-0331>

Alicia Filadelfia Escobar Torres¹ <https://orcid.org/0000-0002-6594-7225>

Aldo Jesús Scrich Vázquez^{2*} <https://orcid.org/0000-0002-6202-0125>

¹Universidad Técnica de Babahoyo. Santa Rita de Babahoyo, Ecuador.

²Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey, Cuba.

* Autor para la correspondencia: aldoj.cmw@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La bioquímica, como ciencia particular dentro de las ciencias médicas, ha tenido un gran desarrollo. Las enzimas lipasas se obtienen de organismos vivos que abundan en la naturaleza y han sido utilizadas en la producción de alimentos, jabones, detergentes, aceites y otros productos industriales. Actualmente se han logrado nuevas clasificaciones de estas, subdivididas en grupos y subgrupos. Se aprecia además interés de utilizarlas en la producción de biodiesel y en la biotecnología y genética médica.

Objetivo: Recopilar las principales consideraciones teóricas actualizadas acerca la caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas.

Método: La búsqueda y análisis de la información se realizó desde el primero de septiembre al 23 de diciembre de 2019, con un total de 50 artículos publicados en las bases de datos PubMed, Hinari, SciELO y Medline, mediante el gestor de búsqueda y administrador de referencias EndNote. se utilizaron 42 citas seleccionadas para realizar la revisión, de ellas 38 de los últimos cinco años.

Conclusiones: Las enzimas lipasas son proteínas que catalizan procesos biológicos. son activas en un amplio rango de sustrato, realizan reacciones de síntesis, hidrólisis o de intercambio de grupos. Poseen diversas actividades catalíticas, son menos costosas y menos contaminantes, se obtienen en gran cantidad, se producen de forma regular. Son estables y su proceso de producción es más factible y seguro. Se caracterizan por su capacidad de catalizar reacciones de acidólisis, alcoholólisis, aminólisis, esterificación, interesterificación y transesterificación, entre otras características.

Palabras clave: enzimas; esterases; lipasas.

ABSTRACT

Introduction: Biochemistry has experienced great development as a particular medical science. Lipase enzymes are obtained from living organisms which are abundant in nature, and have been used in the manufacture of foods, soap, detergents, oils and other industrial products. New classifications are now available of lipase enzymes, and they have been subdivided into groups and subgroups. An interest is also noticed in using them for biodiesel production and in biotechnology and medical genetics.

Objective: Collect the main updated theoretical considerations about the characterization, classification and uses of lipase enzymes.

Method: The search for and analysis of the information extended from 1 September to 23 December 2019, for a total 50 papers published in the databases PubMed, Hinari, SciELO and Medline, using the search engine and reference manager EndNote. Forty-two citations were selected for the review, 38 of which were from the last five years.

Conclusions: Lipase enzymes are proteins that catalyze biological processes. They are active in a wide range of substrates, performing synthesis reactions, hydrolysis or group exchanges. They display a variety of catalytic activities, are less costly and less contaminating, are obtained in large quantities and are produced in a regular manner. They are stable and their production process is more feasible and safer. They are characterized by their ability to catalyze reactions of acidolysis, alcoholysis, aminolysis, esterification, interesterification and transesterification, among other characteristics.

Keywords: enzymes; esterases; lipases.

Recibido: 29/01/2020

Aceptado: 18/03/2020

Introducción

Las enzimas lipasas han sido descritas desde hace algunos siglos, sin embargo, en décadas recientes los investigadores han descubierto nuevas propiedades y aplicaciones de estas enzimas.

Es notable el impacto que han tenido las lipasas en la producción de fármacos más selectivos y efectivos, con efectos secundarios menores y en la obtención de pesticidas de menor toxicidad, todo ello mediante la síntesis de compuestos ópticamente puros y la resolución de mezclas racémicas.^(1,2)

Las lipasas hidrolizan triglicéridos a ácidos grasos y glicerol y bajo ciertas condiciones catalizan la reacción inversa. Algunas de estas enzimas son también capaces de catalizar reacciones de transesterificación e hidrólisis enantioselectivas.⁽³⁾ Estas enzimas hidrolíticas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y están presentes en los procesos metabólicos degradativos de algunas plantas y animales. Son producidas por un gran número de microorganismos, a partir de los cuales se obtienen usualmente para fines comerciales, un ejemplo típico lo son las lipasas producidas por los hongos *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*.⁽⁴⁾

Las enzimas lipasas son de gran interés biotecnológico y biomédico, ya que no generan subproductos indeseados y además pueden ofrecer ventajas económicas frente a la utilización de métodos químicos tradicionales en la producción de fármacos. El mercado de las enzimas fue de 3300 millones de dólares en el 2010 y tiene un crecimiento anual mayor al 6 %, alcanzando un movimiento de 4400 millones de dólares en el 2019.⁽⁵⁾

Actualmente, en la mayoría de los procesos en que se utilizan enzimas, estas se encuentran en estado soluble y su recuperación en el producto final es tediosa y genera costos adicionales.⁽⁶⁾

El interés por estas enzimas se ha acrecentado en los últimos años debido a sus diversas propiedades catalíticas. Ello ha causado que se conviertan en catalizadores valiosos en diferentes aplicaciones industriales, tales como: aditivos en la formulación de detergentes; en la industria alimenticia, para la elaboración de productos dietéticos con bajo nivel de grasas y colesterol; en la industria del papel, con el objetivo de eliminar la cera de la pulpa del papel; en la industria farmacéutica, en la obtención de moléculas bioactivas; así como en procesos de síntesis química para la obtención de compuestos ópticamente puros,⁽³⁾ modificación de grasas y otros lípidos por hidrólisis y esterificación.⁽⁵⁾ Los

problemas asociados al uso sistemático y controlado de las enzimas no se encuentran totalmente resueltos.^(6,7)

Una característica peculiar de las lipasas es que son enzimas solubles en agua que actúan sobre sustratos insolubles y agregados, por lo que operan unidas a interfaces lípido-agua. Bajo estas condiciones, se produce un incremento de la actividad catalítica respecto a las soluciones con concentraciones por debajo de la concentración micelar crítica, fenómeno conocido como activación interfacial.⁽⁸⁾

Tanto la composición de la enzima, como las condiciones empleadas para su procesamiento, pueden ser determinantes en las propiedades catalíticas de la misma y en los diversos resultados que se puedan obtener. Sin embargo, se considera insuficiente la información sobre la utilización de las enzimas lipasas referida a la biomedicina, la genética y la biotecnología. El conocimiento de nuevas clasificaciones, características y diversidad de aplicaciones, es de gran utilidad para las ciencias biomédicas y químicas.

Métodos

Mediante el análisis documental, como método fundamental utilizado en este trabajo, se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica acerca del tema en las bases de datos Scopus, Hinari, Ebsco, Latindex y SciELO, en las cuales se encontraron 50 documentos que tratan el uso de las enzimas lipolíticas lipasas en la producción industrial y en la obtención de biodiesel. De ellos se utilizaron 42 referencias seleccionadas para realizar la revisión, 38 son de los últimos cinco años.

Se utilizaron los descriptores en ciencias económicas y ciencias químicas: enzimas lipolíticas, producción de biodiesel, esterasas, lipasas.

Caracterización de las enzimas lipolíticas lipasas

En 1856 Claude Bernard descubrió una lipasa en el jugo pancreático. Observó que esta enzima hidrolizaba gotas de aceite insoluble y las convertía en productos solubles.⁽⁹⁾ Desde 1901 se ha estudiado la presencia de lipasas en los microorganismos *Bacillus prodigiosus*, *B. pyocyaneus* y *B. fluorescens*. Sin embargo, su habilidad como catalizadoras de la hidrólisis y sintetizadoras de ésteres ha sido descubierta desde hace unos 70 años aproximadamente. Los procesos mediados por enzimas

han sido utilizados desde las civilizaciones más antiguas. Hasta el día de hoy se conocen aproximadamente 4000 tipos de enzimas diferentes.^(10,11)

Las enzimas pueden desempeñar su función en un rango de condiciones muy variables dependiendo del organismo del que provienen y de su función primordial. La mayoría son sustratos específicos y dan origen a un único producto propio de cada enzima.⁽¹²⁾

Villeneuve asegura que: “Las enzimas lipolíticas bacterianas son activas en un amplio rango de sustrato, pudiendo realizar reacciones de síntesis, hidrólisis o de intercambio de grupos, muchas veces de forma altamente quimio, regio o estereoespecífica (actúan sobre un compuesto químico muy concreto, produciendo un solo tipo de reacción y un solo tipo de producto), y sin llevar a cabo reacciones laterales o generar subproductos”.⁽¹³⁾

Además, estas enzimas son altamente estables en un amplio rango de temperaturas, pH y solventes orgánicos, aunque la mayoría presentan una mayor actividad a pH neutros o básicos. Son también estables frente a diferentes detergentes, iones (aunque alguno puede activarlas o inhibirlas) y agentes químicos y, en general, no requieren cofactores.⁽¹⁴⁾

Debido al conocimiento existente sobre estas enzimas, a su disponibilidad y al hecho de que los procesos en los que intervienen son generalmente menos costosos y menos contaminantes, que sus correspondientes procesos químicos, “las lipasas bacterianas son las enzimas más versátiles y más ampliamente utilizadas en biotecnología”.⁽¹⁵⁾

Las enzimas microbianas han venido empleándose desde el neolítico en proceso de fermentación tales como la fabricación de queso, vino, cerveza, pan, etcétera;⁽¹⁶⁾ aunque la producción de preparados enzimáticos data desde el siglo XIX, fecha a partir de la cual las enzimas lipolíticas cobraron una gran importancia en la industria química, farmacéutica, alimentaria y otras.⁽¹⁷⁾

En el mundo existen empresas que se han especializado en la producción y búsqueda de estas enzimas. Así, con las técnicas de mutagénesis dirigida e ingeniería genética se están desarrollando enzimas recombinantes que, incluso, pueden ser diseñadas desde su concepción para que catalicen una reacción química muy específica o bien sean más resistentes a determinadas condiciones de temperatura, pH, presencia de solventes, etcétera.⁽¹⁸⁾

Según estudios realizados por *Norsker* y otros,⁽¹⁹⁾ las enzimas lipolíticas son un grupo de enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, tanto en animales y plantas como en microorganismos. Independientemente de su naturaleza, todas tienen una actividad común, ya que catalizan la hidrólisis de los enlaces ésteres formados entre un ácido y un alcohol.

En otra investigación se afirma que las enzimas lipolíticas bacterianas son activas en un amplio rango de sustrato, pudiendo realizar reacciones de síntesis, hidrólisis o de intercambio de grupos, muchas veces de forma altamente quimio, regio o estereoespecífica (actúan sobre un compuesto químico muy concreto, produciendo un solo tipo de reacción y un solo tipo de producto), y sin llevar a cabo reacciones laterales o generar subproductos.⁽²⁰⁾

A decir de *Meher* y otros,⁽³⁾ en la naturaleza, la función de las enzimas lipasas es hidrolizar triglicéridos para generar diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos y glicerol. Se encuentran ampliamente distribuidas, con presencia en el reino animal y vegetal e, incluso, en los organismos unicelulares más simples.

La activación interfacial es un aumento pronunciado en la actividad que se encuentra en la mayoría de las lipasas. Ocurre cuando por alguna razón los triglicéridos forman una emulsión estando mucho más accesibles para los sitios activos.⁽²¹⁾

Por otro lado, al poder catalizar reacciones tanto en condiciones acuosas como no acuosas, sus aplicaciones son muchas y muy variadas. Se utilizan en la medicina, en la industria alimenticia, en química orgánica y en el tratamiento de aguas residuales, así como también como biosensores y para la producción de biodiesel. Incluso se han hecho investigaciones sobre la degradación de polímeros por la acción de lipasas de levaduras.⁽²²⁾

En la investigación liderada por *Hoon* y otros⁽²³⁾ en 2018, se experimentó con tres lipasas diferentes en la producción de biodiesel. Dos de ellas son comerciales y provienen de *Rhizomucor miehei* (RML) y *Thermomyces lanuginosus* (TLL), además, tienen un tamaño de 29,5 kDa y 31,7 kDa, respectivamente.⁽²³⁾ La tercera se produjo recombinante en el laboratorio y proviene de *Bacillus thermocatenulatus* (BTL2). BTL2 presenta un tamaño de 43 kDa. Los referidos autores plantean que: “con respecto a BTL2 se ha visto que es muy resistente a la presencia de solventes y cambios térmicos (dado que resiste temperaturas de 60 °C-75 °C por intervalos cortos)”.⁽²³⁾

Clasificación de las enzimas lipasas

Atendiendo a la bibliografía, se puede decir, de forma genérica, que las enzimas lipolíticas se dividen en dos grandes grupos: las lipasas y las esterases o carboxilesterasas.⁽²⁴⁾ Las lipasas son específicas para acilgliceroles con ácidos grasos de cadena larga (> 10 átomos de carbono), siendo la trioleína su sustrato de referencia; mientras que las esterases actúan específicamente sobre acilgliceroles de

cadena corta (< 10 átomos de carbono), y otros esteres simples, siendo la tributirina su sustrato estándar.⁽²⁵⁾

Estos dos tipos de enzimas se pueden diferenciar de otras características, las cuales están relacionadas directamente con la especificidad de sustrato. En tal sentido, las lipasas muestran preferencia por sustratos altamente hidrofóbicos, insolubles y agregados, y presentan sitios de unión largos para acomodar al ácido graso a escindir. Sin embargo, las esterasas actúan sobre sustratos más solubles y con un grado de hidrofobicidad más variable.^(26,27)

Ambas enzimas muestran estabilidad en presencia de disolventes orgánicos, siendo algo más pronunciado en lipasas, en función de la especificidad de sustrato, en función de las secuencias de aminoácidos conservados o en función de la especificidad del sustrato y la sensibilidad a varios inhibidores de estas enzimas.⁽²⁸⁾

Estos dos tipos de enzimas se pueden diferenciar generalmente sobre la base de otras características, las cuales están relacionadas directamente con la especificidad de sustrato. Así, las lipasas muestran preferencia por sustratos altamente hidrofóbicos, insolubles y agregados, y presentan sitios de unión largos para acomodar al ácido graso a escindir. Sin embargo, las esterasas actúan sobre sustratos más solubles y con un grado de hidrofobicidad más variable.⁽¹⁰⁾

Por su parte las lipasas muestran un mayor número de aminoácidos no polares localizados en las zonas expuestas al solvente y en la región del centro activo en comparación con las esterasas, así como un rango de sustrato más amplio, una mayor regioselectividad y estereoespecificidad.⁽⁹⁾

Es posible afirmar que estas enzimas muestran estabilidad en presencia de disolventes orgánicos, siendo algo más presente en las lipasas. “Por ello, las esterasas obedecen a la clásica cinética de *Michaelis-Menten*, mientras que las lipasas presentan una cinética compleja no michaeliana”.⁽²⁾

Las esterasas también pueden ser distinguidas de las lipasas por el denominado “fenómeno de activación interfacial”, el cual solo ha sido observado en lipasas. Este fenómeno de activación interfacial es debido a un dominio hidrofóbico, denominado *lid* (tapa), que se encuentra alrededor del centro activo de la enzima. Por lo que requieren una concentración crítica de sustrato para que se produzca el movimiento de *lid*, haciendo accesible el sustrato al centro activo.⁽²⁹⁾

La clasificación más aceptada aun en el 2019 fue propuesta por *Arpigny* y *Jaeger*^(26,27) desde 1999. Estos autores las clasificaron en 8 familias: las lipasas verdaderas, la familia II o GDSL, la familia III, la familia IV o HSL (lipasa sensible a hormona), la familia V, la familia VI, la familia VII y la familia VIII.

Familia I o lipasas verdaderas

Las lipasas bacterianas verdaderas que primero se estudiaron y utilizaron industrialmente fueron las denominadas lipasas de pseudomonas, nombradas así por la bacteria de la que proceden. Estas enzimas fueron subdivididas en pseudomonas del grupo 1, 2 y 3, de acuerdo con la secuencia de sus aminoácidos.

Posteriormente, debido a que algunas especies de pseudomonas fueron renombradas con el nombre de *Burkholderia*, y a la aparición de nuevas lipasas, estos autores decidieron agruparlas y nombrarlas por subfamilias. Quedando dividida, la familia I en seis subfamilias, que posteriormente fue ampliada a siete por Jaeger y Eggert en el año 2012.⁽³⁰⁾

La subfamilia 1 y 2 presentan la peculiaridad de que requieren la ayuda de unas chaperonas para plegarse, encargadas de establecer los puentes disulfuro, denominadas *Lif (lipase-specific foldase)*. Las lipasas que pertenecen a la subfamilia 4 y 5 son también conocidas como lipasas de microorganismos gram-positivos. Las lipasas de estas dos subfamilias presentan una gran similitud, la subfamilia 4 forma lipasas verdaderas de menor peso molecular (unos 20 kDa) y, la 5, de mayor peso molecular (unos 45 kDa).⁽³¹⁾

Familia II o GDSL

La familia II o GDSL está compuesta por glicina, ácido aspártico, una serina, una leucina y otra serina (GDSL).

Existe el consenso de que las esterasas/lipasas tienen conservada una secuencia de aminoácidos denominado pentapéptido, que está formado por una glicina, una serina y un ácido aspártico, intercalándose entre cada uno de ellos un aminoácido cualquiera, es decir, glicina-X-serina-X-aspártico. La característica más relevante de esta familia es que su pentapéptido no está formado por estos aminoácidos, sino por una glicina, seguido de un ácido aspártico, una serina, una leucina y una serina (en algunos casos), de ahí que se le denominara GDSL. Pero como la última serina no es conservada en todas las proteínas de esta familia, se les ha reducido el nombre a GDSL. Debido a esto, las enzimas de esta familia no presentan el *nucleophilic elbow* (codo nucleofílico).⁽²⁴⁾

Alineando la secuencia de aminoácidos de las proteínas que forman esta familia, se ha visto que algunas tienen conservados en la misma posición cuatro aminoácidos que están implicados en la actividad catalítica de la enzima, dando lugar a una subfamilia. Estos aminoácidos son una serina, un glutámico, una asparagina y una histidina; donde la serina provoca el ataque nucleofílico,

mientras que el glutámico y la asparagina son donadores de protones y la histidina actúa desprotonando a la serina.^(32,33)

Familia III

Las lipasas de esta familia fueron identificadas por primera vez por Cruz y otros, en 1994.⁽³⁴⁾ Estos autores resolvieron la estructura tridimensional de la lipasa extracelular de *Streptomyces exfoliatus* (M86351). También, observaron que esta enzima presenta tanto la triada catalítica como la forma tridimensional característica de las α/β -hidrolasas y además, se vio que tiene una identidad del 20 % con el factor de plaqueta acetilhidrolasa activado (FPA-AH) del plasma humano.⁽³⁰⁾

Familia IV o lipasa sensible a hormona (LSH)

Un número elevado de enzimas de esta familia presentan en la secuencia de aminoácidos una elevada similitud a la LSH de mamíferos, de ahí que se les haya denominado de la misma manera. Las enzimas de este linaje, además del pentapéptido característico de la superfamilia (G-X-S-X-G) de las lipasas/esterasas bacterianas, también presentan la secuencia His-Gly-Gly-Gly, que aparece localizada entre los aminoácidos 70 y 100 de las enzimas, anteriores a la serina catalítica, donde la serina, junto con una histidina y un glutámico, son los aminoácidos responsables de su actividad catalítica, formando la triada catalítica.⁽³⁴⁾

En estudios realizados con inhibidores específicos de serina como el PMFS (fluoruro de fenil-metil-sulfonilo) o E600 (dietil-p-nitrofenil fosfato), con la LSH de mamíferos han sugerido que estas poseen la “lid”, característica de las lipasas verdadera, pero que su función es la de proteger a la serina de estos inhibidores.⁽³⁰⁾ Por lo que se deduce que en las esterazas bacterianas de esta familia la *lid* tiene la misma función.

Familia V

En esta familia se encuentran enzimas de bacterias mesófilas (*Pseudomonas oleovorans*, *Acetobacter pasteurianus* y *Haemophilus influenzae*), psicrófilas (*Moraxella sp*) y termófilas (*Sulfolobus solfataricus*). Todas ellas muestran una similitud comprendida entre el 20 % y el 25 % con otras enzimas bacterianas no lipolíticas, como son las dehalogenasas y las haloperoxidasas. Todas poseen la triada catalítica formada por la serina, el glutámico o el aspártico y la histidina y el plegamiento característico de las α/β -hidrolasas.⁽³²⁾

Familia VI

Las lipasas bacterianas incluidas en esta familia son esterasas de pequeño peso molecular, entre 23 kDa y 26 kDa, y que curiosamente muestran un 40 % de homología con las lisofosfolipasas de eucariotas. Hasta la resolución de la estructura tridimensional de la carboxilesterasa de *Pseudomonas fluorescens* (1AUO), poco se sabía sobre esta familia. De hecho, lo que se conoce de esta familia es gracias a los estudios realizados en este tipo de enzimas.⁽³⁵⁾

Esta carboxilesterasa está formada por dos subunidades, es decir, es un dímero que tiene las características de las α/β -hidrolasas y la clásica triada catalítica constituida por serina, aspártico e histidina. Otra característica muy peculiar de esta enzima es que hidroliza sustratos pequeños con una gran especificidad, pero no presenta actividad ninguna sobre triglicéridos.⁽³²⁾

Alineando las secuencias de aminoácidos de las proteínas, putativas y caracterizadas, de esta familia, se encontró una región que revelaba la existencia de seis grupos definidos que mantenían una concordancia con la filogenética bacteriana, motivo por el cual fue propuesta una subdivisión de la familia VI en seis subfamilias.^(36,37)

Familia VII

En la familia VII se hallan esterasas con un peso molecular de aproximadamente unos 55 KDa. Todas las enzimas de esta familia presentan una elevada homología con acetilcolinesterasas de eucariotas y carboxylesterasas del intestino e hígado humano. La carboxilesterasa de *Arthrobacter oxydans* (Q01470) es particularmente activa sobre el herbicida fenilcarbamato, concretamente, hidroliza las cadenas laterales del carbamato. La esterasa de *Bacillus subtilis* presenta una elevada eficacia para hidrolizar los ésteres de p-nitrobenzil, por lo que es usada para proteger los grupos funcionales durante la síntesis de antibióticos β -lactámicos.⁽³²⁾

Familia VIII

Esta familia está formada por enzimas que tienen unos 380 aminoácidos y una elevada homología con algunas β -lactamasas de clase C. La principal diferencia de esta familia con el resto, es que las tres enzimas que la forman, presentan unos 150 aminoácidos, desde la posición 50 hasta la 200, aproximadamente, que tiene una homología del 45 % con la proteína de *Enterobacter cloacae* (β -lactamasa). Son necesarios más estudios estructurales de las proteínas que forman esta familia para dilucidar que aminoácidos son los responsables de la catálisis enzimática.⁽³²⁾

Familia IX, X, XI, XII, XIII

Debido a que la clasificación propuesta por *Arpigny* y *Jaeger* en 1999 ha sido la más aceptada, cada vez que es caracterizada y estudiada una nueva enzima lipolítica bacteriana se hacen estudios de homología para clasificarla en alguna familia de las propuestas por estos autores. Como en algunos casos las homologías entre las nuevas y las existentes han sido muy pequeñas, han sido creadas nuevas familias.⁽³²⁾

Así, *Handrick* y otros,⁽³⁸⁾ descubrió una nueva enzima, la nPHB depolimerasa Phaz7, la cual mostró una mayor homología con la LipB de *Bacillus subtilis* que con otras hidrolasas. Por este motivo, y atendiendo a la clasificación de *Arpigny* y *Jaeger*, esta enzima pasó a formar la familia IX.

Por su parte, *Levisson* y otros⁽³⁹⁾ estudiaron una esterasa de *Thermotoga maritime* y, consecutivamente, esta paso a constituir la familia X. Con la aplicación de técnicas de metagenómica para realizar el tamizaje g de enzimas lipolíticas, han sido descubiertas multitud de ellas. Fruto de estas técnicas han surgido dos nuevas familias: XI, compuesta por la lipasa LipG,⁽³⁹⁾ y la XII, formada por Li- pEH166.

La familia XIII la forman dos esterases, la Est30 de *Geobacillus stearothermophilus*^(40,41) y la CEGK de *Geobacillus kaustophilus*.⁽⁴²⁾

Finalmente, *Rao* y otros,⁽³⁵⁾ postularon que la esterasa EstA3 de *Thermoanaerobacter tengcongensis* pase formar parte de una nueva familia, la número XIV.

Precisiones finales

La literatura consultada permitió realizar un abordaje de los conocimientos que hasta el momento se tienen acerca del uso de las enzimas lipasas en diferentes aplicaciones.

En cuanto a la caracterización de las enzimas lipolíticas lipasas, los autores coinciden en que estas han venido empleándose en proceso de fermentación tales como la fabricación de queso, vino, cerveza, pan, biodiesel, etcétera.

En lo relacionado con clasificaciones por familias se han descubierto 14 tipos. Otro aspecto importante es que los productos obtenidos de las nuevas lipasas requerirán un estudio profundo para demostrar su inocuidad antes de su aplicación definitiva a la industria de fármacos, aunque los productos alimenticios y cosmetológicos de este tipo estudiados hasta el día de hoy, no poseen efectos negativos sobre la población.

Las lipasas son enzimas extraordinariamente versátiles, que han recibido considerable atención en biotecnología desde hace más de tres décadas. Esto se debe a las peculiares propiedades funcionales que exhiben estas moléculas, dado su carácter de enzimas interfaciales.

La revisión bibliográfica permitió realizar un análisis detallado sobre las diferentes concepciones teóricas acerca de la utilización de las enzimas lipolíticas lipasas, lo cual permite obtener una actualización de los principales usos y aplicaciones de este tipo de enzima, fundamentalmente en la producción industrial, así como algunos resultados de investigaciones donde fueron utilizadas.

Independientemente de todos estos avances y descubrimientos científicos, se considera que aún es insuficiente la información sobre la utilización de las enzimas lipasas, debido a que son pocas las investigaciones que aportan resultados relevantes que permitan generalizar esas experiencias a diferentes renglones de la biomedicina, genética y biotecnología.

Referencias bibliográficas

1. Fjerbaek L, Christensen KV, Norddahl B. A review of the current state of biodiesel production using enzyme transesterification. *J Bio and Bioeng.* 2009 [acceso: 23/01/2020]; 102(5):298-315. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19215031>
2. ASTM International. Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels. West Conshohocken. 2020 [acceso: 23/01/2020]; 32(12):14-31. Disponible en: <https://www.astm.org/Standards/D6751.htm>
3. Meher L, Vidyasagar D, Naik S. Technical aspects of biodiesel production by transesterification. *Renew and Sust Ener Reviews.* 2016;10(42):248-68.
4. Lukovi N, Kneževi Z, Bezbradica D. Biodiesel Fuel Production by Enzymatic Transesterification of Oils: Recent Trends, Challenges and Future, Perspectives and Alternative. *Fuel.* 2015;36 (4):10-23.
5. Bonet K. Producción enzimática de biodiesel a partir de aceites de desecho: una nueva alternativa [Tesis]. Barcelona: Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, UAB Barcelona; 2016. [acceso: 23/01/2020]. Disponible en: <https://www.uab.cat/web/detalle-noticia/produccion-enzimatica-de-biodiesel-a-partir-de-aceites-de-desecho-una-nueva-alternativa-1345680342040.html?noticiaid=1345697388111>

6. Mclean DD, Kates M. Biodiesel production from waste cooking oil: Process design and technological assessment. *Rev. Bioresource Technology*. 2018;89(62):1-16.
7. Malcata FX. Microalgae and biofuels: a promising partnership? *Rev. Trends in Biotechnology*. 2019;29(11):542-654.
8. Balat M, Balat H. A critical review of biodiesel as a vehicular fuel. *J Ener Conver and Manag*. 2018;49(10):27-41.
9. Lukovi N, Kneževi Z, Bezbradica D. Lipase production by *Yarrowia lipolytica* using olive oil processing wastes as substrates. *J. Serb. Chem. Soc*. 2013;78(6):781-94.
10. Ma F, Hanna MA. Biodiesel production: a review 1. *J Bio Tech*. 2019;70(15):15-40.
11. Rodríguez Saucedá EN. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Rev Soc Cult y Des Sust. Ra Ximhai*. 2016;7(1):153-70.
12. Aravindan R. Lipase applications in food industry. *Indian Journal of Biotechnology*. 2017[acceso: 22/10/2020];6(4):141-58.
13. Villeneuve P. Lipases in lipophilization reactions. *Rev. Biotech. Adv*. 2017 [acceso: 23/10/2020]; 25(38):100-36. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17681737/>
14. Beuchat LR. Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. En: Wilson CL, Droby S. Editors. *Microbial Food Contamination*. United States of America: CRC Press; 2001
15. Bornscheuer UT, Kazlauskas RJ. Hydrolase in organic synthesis: Regioselective biotransformations. *Rev. Wley-VCH, Weinheim*. 2002 [acceso: 23/01/2020]; 34(2). Disponible en: <https://experts.umn.edu/en/publications/hydrolases-in-organic-synthesis-regio-and-stereoselective-biotran>
16. Akoh C, Lee C, Liaw C, Huang H, Shaw F. GDSL family of serine esterase/lipase. *Rev. Program Lipids*. 2014;43(13):534-52.
17. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plantes sential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Rev. Lett Applied Microbiology*. 2003;36(39):157-62.
18. Adamczak M, Bornscheuer UT, Bednarski W. The application of biotechnological methods for the synthesis of biodiesel. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2015;68(41):1-6.
19. Norsker NH, Barbosa MH, Vermuë Wijffels RH. Microalgal production a close looks at the economics. *Rev. Biotechnology Advances*. 2015;29(1):24-7.

20. United States of America Environmental Protection Agency. Environmental Laws Applicable to Construction and Operation of Biodiesel Production Facilities. 2018;(2):342-4.
21. Calvo Garrido L, Ladero M. Obtención del biodiesel por vía enzimática a partir de un aceite modelo de microalgas en medios no convencionales. *J Arch of Bioch and Bioph.* 2017;42(8):72-3.
22. Olempska-Beer Z, Merker R, Ditto M, Dinovi M. Food processing enzymes from recombinant microorganisms. 2016;45(12):144-58.
23. Hoon KC, Lee JH, Kim SW, Kang JW. Lipase-catalysed esterification of(S)-Naproxen ethyl ester in supercritical carbon dioxide. *J Micro Biotech.* 2019;19(8):16-52.
24. Ro HS, Hong HP, Kho BH, Kim S, Chung BH. Genome wide cloning and characterization of microbial esterases. *J. FEMS. Microbiol. Lett.* 2014;233(97):35-55.
25. Du W, Li W, Sun T, Chen X, Liu D. Perspectives for biotechnological production of biodiesel and impacts. *J Applied Microbiology Biotechnology.* 2018;79(1):331-57.
26. Arpigny L, Jaeger E. Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *J Biochemist.* 1999;343(45):177-83.
27. Jaeger KE, Reetz MT. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *J Trends. Biotechnology.* 2012;16(31):396-403.
28. Fojan P, Johnson PH, Petersen TN, Petersen SB. What distinguishes an esterase from a lipase: A novel structural approach. *J Biochimie.* 2017;82(61):33-41.
29. Park Y, Choi SY, Lee HB. A carboxylesterase from the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* P1; purification, characterization, and expression. *Rev. Appl. Environ. Microbiology.* 2016;43(17):56-89.
30. Verger Adamczak M, Bornscheuer UT, Bednarski W. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Rev. Biotech.* 2015;19(91):627-62.
31. Chahinian H, Ali Y, Abousalham A, Petry S, Mandrich L, Manco G, Canaan S, Sarda L. Substrate specificity and kinetic properties of enzyme belonging to the hormone sensitive lipase family: Comparison with nonlipolytic and lipolytic carboxylesterases. *J Biochim Biophys. Acta.* 2015;17(38):29-36.
32. Montoro García S, Martínez-Martínez I, Navarro Fernández J, Takami H, García-Carmona F, Sánchez-Ferrer A. Characterization of a novel thermostable carboxylesterase from *Geobacillus*

kaustophilus HTA426 shows the existence of a new carboxylesterase family. *J Bacteriology*. 2019;191(30):76-85.

33. Navarro González I, Periago MJ. Enzimas lipolíticas bacterianas: propiedades, clasificación, estructura, aplicaciones tecnológicas y aspectos legales. *Rev. Anales Vet.* 2012;28:34-37. DOI: [10.6018/j/188711](https://doi.org/10.6018/j/188711)

34. Cruz H, Pérez C, Wellington E, Castro C, Servin-González L. Sequence of the *Streptomyces albus* G lipase-encoding gene reveals the presence of a prokaryotic lipase family. *J Gen.* 1994;4(41):421-51.

35. Rao L, Xue Y, Zhou C, Tao S, Li G, Lu J.R, Ma Y. A thermostable esterase from *Thermoanaerobacter tengcongensis* opening up a new family of bacterial lipolytic. *J Arch of Biochemist and Biophysics*. 2017;18(14): 95-102.

36. Kim EY, Oh KH, Lee MH, Kang CH, Oh TK, Yoon JH. Novel cold adapted alkaline lipase from an intertidal flat metagenome and proposal for a new family of bacterial lipases. *J Appl. Environ. Microbiol.* 2019;75(59):257-60.

37. Prim N, Bofil C, Pastor FIJ, Díaz P. Esterase EstA6 from *Pseudomonas* sp.CR-611 is a novel member in the utmost conserved cluster of family VI bacterial lipolytic enzymes. *J Biochimie*. 2019;8(4):857-67.

38. Handrick R, Reinhardt S, Focarete ML, Scandola M, Adamus G, Kowalczyk M, Jendrossek D. A new type of thermoalkalophilic hydrolase of *Paucimonas lemoignei* with high specificity for amorphous polyesters of short chain-length hydroxyalkanoic acid. *J Biol. Chem.* 2001;76(36):215-24.

39. Levisson M, Oost JV, Kengen SW. Characterization and structural modeling of a new type of thermostable esterase from *Thermotoga maritime*. *J FEBS*. 2017;7(47):32-42.

40. Lee MH, Lee CH, Oh TK, Song JK, Yoon JH. Isolation and characterization of a novel lipase from a metagenomic library of tidal flat sediments: evidence for a new family of bacterial lipases. *J Appl. Environ. Microbio.* 2016;22(37):406-9.

41. Liu P, Wang YF, Ewis E, Abdelal A, Lu CD, Harrison R, Weber I. Covalente reaction intermediate revealed in crystal structure of the *Geobacillus stearothermophilus* carboxylesterase Est30. *J Mol Bio.* 2014;42(29):551-61.

42. Stock J, Goloshchapov A, Song C, Wheelock C, Derbel M, Morisseau C, Hammock B. Investigation of the role of a second conserved serine in carboxylesterases via site-directed mutagenesis. Rev. Archives of Biochemist and Biophysics. 2014;30(251):247-55.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Luz Angélica Salazar Carranza.

Curación de datos: Luz Angélica Salazar Carranza.

Análisis formal: Marilú Mercedes Hinojoza Guerrero.

Investigación: Luz Angélica Salazar Carranza.

Metodología: Luz Angélica Salazar Carranza.

Administración del proyecto: Mónica Patricia Acosta Gaibor.

Recursos: Alicia Filadelfia Escobar Torres.

Supervisión: Luz Angélica Salazar Carranza.

Redacción – borrador original: Marilú Mercedes Hinojoza Guerrero.