

Transesterificación enzimática de aceite de palma como alternativa para producción de alimentos libres de grasas *trans**

Enzymatic Palm Oil Transesterification as an Option for the Production of Trans Fat Free Foods

CITACIÓN: López, G., & Baena, S. (2019). Transesterificación enzimática de aceite de palma como alternativa para producción de alimentos libres de grasas *trans*. *Palmas*, 40 (Especial, Tomo II), 235-243.

PALABRAS CLAVE: enzimas lipolíticas, transesterificación, lipasas, libre de grasas *trans*.

KEYWORDS: Lipolytic enzymes, transesterification, lipases, trans fat free.

*Artículo original recibido en español.



GINA LÓPEZ RAMÍREZ

Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental (USBA) Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Pontificia Universidad Javeriana
Sanitation and Environmental Biotechnology Unit (USBA), Faculty of Sciences, Department of Biology, Pontificia Universidad Javeriana
Colombia

Resumen

La transesterificación de aceites y grasas comestibles es una alternativa de producción de grasas comerciales libres de ácidos grasos tipo *trans*, que puede repercutir en la mejora de las propiedades físicas y nutricionales de materias primas o productos intermediarios del procesamiento del aceite de palma. Es una redistribución de ácidos grasos entre los triacilglicéridos, que tiene lugar dentro de la misma molécula o en diferentes. Este proceso lo llevan a cabo las enzimas lipolíticas, catalizadores biológicos que hidrolizan el enlace éster del triacilglicerol en la interfase agua/aceite, liberando ácidos grasos, glicerol, monoacilglicerol y diacilglicerol. También catalizan ésteres insolubles en agua a

través de reacciones de interesterificación, alcoholólisis y acidólisis. El uso de las enzimas lipolíticas es una “tecnología limpia”, que puede ser alterna al proceso de hidrogenación parcial empleado para que los aceites se transformen en grasas semisólidas o sólidas, mediante la adición de hidrógeno, dejando como resultado aceites o grasas con altas concentraciones de ácidos grasos tipo *trans*, nocivos para la salud, principalmente porque pueden elevar el colesterol LDL y los triglicéridos. Esta tecnología, que en el sector del aceite de palma está en desarrollo, muestra alto potencial de mejoramiento de los aceites y las grasas en un mercado cada vez más exigente en calidad y beneficios nutricionales.

Abstract

Transesterification of edible oils and fats is an option for producing commercial fats free of trans fatty acids, which may result in improved physical and nutritional properties of raw materials or intermediate products of oil palm processing. Transesterification consists of the redistribution of fatty acids within triacylglycerides that takes place inside the molecule itself or in different molecules. The process is carried out by lipolytic enzymes which act as biologic catalysts that hydrolyse the triacylglycerol ester bond in the water/oil interface, releasing fatty acids, glycerol, monoacylglycerol and diacylglycerol. They also act as catalysts of water-insoluble esters through interesterification, alcohololysis and acidolysis reactions. Lipolytic enzymes are a “clean technolog” which may be an alternative to partial hydrogenation, the process used to transform oils into solid or semi-solid fats through hydrogen addition, the result of which are oils or fats with high concentration of trans fatty acids that may be harmful to human health mainly because of the their potential to elevate LDL and triglyceride levels. Finally, the palm oil sector is working on the development of lipolytic enzymes, which appear to be highly promising as a technology for enhancing oils and fats in a sector that is increasingly demanding in terms of quality and nutritional benefits.

Introducción

En las últimas décadas, ha aumentado la tendencia industrial al uso de catalizadores biológicos o enzimas, con el fin de generar procesos más verdes, seguros y sostenibles con el medioambiente. Esta tendencia hace frente a una situación global, en la que se han planteado desafíos claros hacia una industria sostenible, que tenga una base biológica y que enfrente principalmente retos como el crecimiento de la población mundial, el rápido agotamiento de los recursos naturales, el aumento de las presiones medioambientales y el cambio climático. Sin dejar de lado otros desafíos como la seguridad energética, destrucción del suelo y del agua, y la seguridad alimentaria (Krüger *et al.*, 2018). Especialmente, en esta última, los biocatalizadores pueden producir reacciones catalíticas con mayor especificidad y en condiciones ambientales, sin generar productos secundarios indeseados y a mayor velocidad (tasa de reacción) que un catali-

zador químico. Se logra así obtener materias primas o productos inocuos y nutritivos que satisfagan las necesidades de las personas para llevar una vida sana (CE-FAO, 2011). Las enzimas lipolíticas son uno de los principales biocatalizadores con un alto uso en la industria de alimentos, debido a que intervienen en diversos procesos de transformación y estructuración de materias primas como grasas y aceites, generando productos intermediarios con alto valor agregado (Sarmah *et al.*, 2018). Las enzimas lipolíticas son una alternativa a los procesos de hidrogenación de aceites, que conllevan la disminución o eliminación de ácidos grasos tipo *trans*, relacionados con el riesgo de padecer cardiopatías coronarias. El uso de la tecnología enzimática permitirá cumplir con los parámetros establecidos por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por su sigla en inglés), que prohibieron la presencia de grasas *trans* en los productos alimenticios envasados. Sin embargo, para la Organización de las Naciones Uni-

das para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por su sigla en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), el contenido de grasas *trans* de los alimentos puede estar por debajo del 4 %. Por lo tanto, en este estudio, nos centraremos en los usos de las lipasas como una alternativa para la producción de alimentos libres de grasas *trans*.

Enzimas lipolíticas y sus generalidades

Desde hace más de 85 años, las enzimas lipolíticas son objeto de estudio debido a sus características intrínsecas (Daiha *et al.*, 2015). Ubicuas en todos los seres vivos, son enzimas hidrolasas (EC3.1.1.X) que catalizan la hidrólisis o la síntesis de ésteres formados por glicerol y ácidos grasos (Figura 1). La hidrólisis se lleva a cabo en un sistema bifásico, es decir, en presencia de una fase orgánica inmiscible que contiene el sustrato hidrofóbico en agua. La síntesis, reacción inversa, se realiza en sistemas con un bajo contenido de agua (Aw), a través de reacciones de esterificación y transesterificación.

Las enzimas lipolíticas son consideradas “promiscuas” por ser capaces de catalizar reacciones alternas a su reacción fisiológica natural (Kapoor & Grupta, 2012). La promiscuidad está dada por las características del sitio activo, que permiten unirse al sustrato y catalizarlo según su configuración. Estas enzimas realizan transesterificaciones que ocurren a través del intercambio de una molécula de ácido graso con un ácido (acidólisis), un alcohol (alcoholólisis), una amina (aminólisis) o un ácido graso (interesterificación) (Sandoval *et al.*, 2012). Específicamente, la interes-

terificación es un proceso útil para cambiar o redistribuir la composición de ácidos grasos en un enlace éster en un mismo triacilglicérido o entre moléculas de diferentes triacilglicéridos (Sánchez-Otero *et al.*, 2010). La promiscuidad de las enzimas lipolíticas puede agruparse en tres formas:

- Según su condición: reacciones en condiciones no óptimas de la enzima, en solventes orgánicos, temperaturas y pH extremos, entre otros.
- Según el sustrato: cuando la enzima realiza la misma reacción, pero con diferentes sustratos.
- Según la transformación catalítica: es la capacidad del sitio activo de la enzima de llevar a cabo una transformación química, ya sea por corte o por uniones. Hult & Berglund (2007), dividen esta condición en dos grupos, la accidental (actividad nativa de la enzima) y la inducida (lograda por procesos de modificación a la enzima).

Otras propiedades de las enzimas lipolíticas son la sustrato-selectividad asociada con la preferencia por mono, di o triglicéridos y por ácidos grasos de cadena corta, media o larga, y según el grado de insaturación del ácido graso. Ejemplo de ello son las lipasas de *Geotrichum candidum*, cuya actividad lipolítica es altamente efectiva cuando se usan triacilglicéridos con ácidos grasos de cadena media (C12) y larga (C18) (Brabcova *et al.*, 2010). La *enantioselectividad* de las lipasas es la preferencia de un estereoisómero en particular sobre todos los posibles, y está relacionada con moléculas quirales (con centro asimétrico) que adoptan dos formas: R y S. Las propiedades de estas dos moléculas son diferentes, y en algunas ocasiones, tienen características biológicas contrarias; mientras

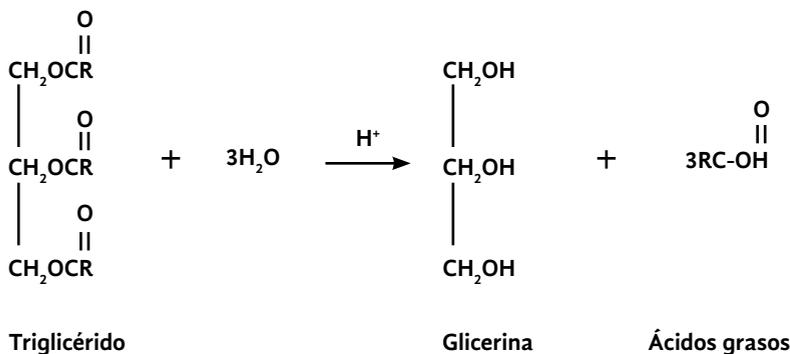


Figura 1. Reacción catalítica de una lipasa. Hidrólisis de un triglicérido.

Fuente: Sandoval *et al.* (2012).

que las de una son terapéuticas, las de la otra pueden ser inactivas e incluso tóxicas. Ejemplo de esto es la esterasa de *Acidicaldus* sp. USBA-GBX-499, capaz de hacer resolución racémica de sustratos como profenos (López *et al.*, 2014). La *regioselectividad* de las enzimas lipolíticas se relaciona con la capacidad de la enzima para cortar un determinado enlace éster del triglicérido, que puede ser el sn-1(3) o sn-2. Algunas enzimas lipolíticas no son regioselectivas, por lo tanto, liberan cualquier ácido graso unido en alguna posición del triglicérido. Otras enzimas son regioselectivas sobre los enlaces sn-1(3), produciendo mono y diglicéridos como intermediarios. Un ejemplo de esto son las enzimas lipolíticas 499EST, 505LIP y 514FE que son 1,3 regioespecíficas, ya que sus cortes no afectaron la posición 2sn de los triacilgliceroles tributirina, tricaprilina y trioleína (López *et al.*, 2015).

Por todas estas características, las enzimas lipolíticas, específicamente las lipasas, son empleadas en diferentes áreas de la industria, tales como alimentos

(para producción de aromas), agricultura, cosméticos (ésteres), medicina, farmacéutica (medicamentos), detergentes, productos lácteos, oleoquímicos (biodiésel), transformación de cuero, papel y textiles (Angajala *et al.*, 2016). En general, las aplicaciones de las lipasas pueden dividirse en diferentes áreas según el tipo de reacción que se requiera (Tabla 1).

La multinacional Novozymes, líder global de ventas de enzimas (48 % a nivel mundial), manifestó que en el 2017 los alimentos, bebidas y la bioenergía fueron los principales contribuyentes de su crecimiento, respaldados por la robusta aceptación de la innovación en las empresas en los últimos años. Por lo tanto, esta dinámica del mercado permite ver que las lipasas tienen una alta demanda en el sector de la biocatálisis (especialmente en el área de alimentos y bebidas). Estas enzimas ocupan el tercer lugar en ventas después de las proteasas y amilasas. Se espera que el mercado anual de lipasas alcance alrededor de 590.5 millones de dólares para 2020 (Angajala *et al.*, 2016; Lajis, 2018).

Tabla 1. Casos de usos de lipasas. Fuente: Lajis (2018).

Industria	Proceso	Producto	Organismo productor de la lipasa
Energías renovables	Trasesterificación de aceites/ alcoholisis/ metanolisis/ interesterificación	Biodiésel	<i>Geobacillus thermodenitrificans</i> AV-5, <i>Microbacterium</i> sp., lipZ01 expresado en <i>Pichia pastoris</i> GS11
Lavandería (detergentes)	Hidrólisis de lípidos	Biodetergentes	<i>Brevibacterium halotolerans</i> PS4, <i>Talaromyces thermophilus</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i> , <i>Thermosyntropha lipolytica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ALA1, <i>Bacillus methylotrophicus</i> PS3, <i>Staphylococcus aureus</i> SAL3, <i>Bacillus</i> sp. BSK-L, <i>Geobacillus zalihae</i>
Cuero	Hidrólisis de aceites y grasas del cuero	Agente biodesengrasante	<i>Geobacillus thermoleovorans</i> DA2, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus arlettae</i> JPBW-1
Cosméticos	Esterificación de ácidos grasos y otros compuestos	Ésteres, plastificantes y lubricantes	<i>Thermomyces lanuginosus</i> , <i>Rhizomucor miehei</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Candida antarctica</i>
Alimentos	Transesterificación/ interesterificación/ acidólisis y esterificación	Ácidos grasos, plastificantes, acilglicerol y ésteres	<i>Rhizomucor miehei</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> NRRL 3562, <i>Candida antarctica</i>
Biorremediación	Hidrólisis de aceites	Biodesengrasante	<i>Staphylococcus pasteurii</i> , <i>Ochrobactrum intermedium</i> sp. MZV101, <i>Bacillus sonorensis</i> 4R, <i>Aspergillus ibericus</i> , <i>Aspergillus uvarum</i> , <i>Aspergillus niger</i>
Farmacéuticos	Transesterificación/ aminólisis	Plastificantes y medicamentos	<i>Candida antarctica</i> , <i>Candida rugosa</i>

Modificación de lípidos para la industria de alimentos

La producción de alimentos a “la medida” es casi una exigencia de la sociedad del siglo XXI (Rodrigues & Fernandez-Lafuente, 2010). Por lo tanto, existe un amplio número de estudios de enzimas basadas en la transformación de comestibles, que permiten encontrar alimentos novedosos y sanos que cumplan con las expectativas de las personas. Particularmente, en el área de los lípidos (aceites y grasas), que son los componentes básicos de los aceites de cocina (manteca vegetal, margarinas y otras grasas comestibles), se busca que proporcionen satisfacción a través de su aroma, sabor y textura, y que nutricionalmente sean sanos al tener un bajo o nulo contenido de ácidos grasos tipo *trans* (Imran & Nadeem, 2015). Debido a que los aceites y grasas naturales no siempre tienen las características adecuadas para su uso final, o no cumplen con los requerimientos a nivel industrial, se precisan productos particulares modificados con determinadas propiedades. Los lípidos pueden ser rediseñados para aportar o no ácidos grasos específicos, o moléculas aromáticas de mayor uso y eficiencia. Con este rediseño se puede, a largo plazo, mejorar las propiedades de los productos. Por ejemplo, el cambio de las características físicas y químicas de los aceites y las grasas, particularmente el perfil de fusión, la compatibilidad de los diferentes triacilglicérols (TAG) en el estado sólido y la plasticidad, resultando en el mejoramiento de la cremosidad que conlleva a una grasa fácilmente untable (o *spreads*). Finalmente, lo que se quiere es el aumento en la estabilidad oxidativa de estos aceites y grasas. La modificación de lípidos se puede dar principalmente, por procesos de hidrogenación e interesterificación (entre grasas sólidas y aceites líquidos) vía química o enzimática, teniendo un fuerte impacto en las propiedades nutricionales del lípido (Speranza & Macedo, 2012) al producir grasa plástica cero *trans*. Aproximadamente el 10 % de todos los aceites y grasas comestibles en el mundo están fraccionados o interesterificados, mientras que un tercio está completamente hidrogenado (Senanayake & Shahidi, 2005). La hidrogenación y la interesterificación modifican las propiedades químicas de los lípidos, que incluyen el grado de saturación, la longitud

de la cadena de ácido graso y la composición de la molécula del glicerol. Estas son determinantes para caracterizar las propiedades físicas de los lípidos, como son: punto de fusión, viscosidad, elasticidad, contenido de grasa sólida y comportamiento térmico (Kadhum & Shamma, 2017).

Transformación de los lípidos por hidrogenación

La hidrogenación es un proceso en el que se logra transformar lípidos líquidos o semisólidos en una grasa sólida completa o parcialmente saturada, que puede ser empleada en la elaboración de margarinas y otros productos alimenticios. Este proceso se lleva a cabo haciendo reaccionar hidrógeno gaseoso con los sitios activos dentro de las grasas líquidas, es decir, actúa sobre los dobles enlaces de los ácidos grasos (Sellami *et al.*, 2012). A pesar de que todo el proceso se realiza bajo condiciones controladas de presión, temperatura, velocidad de agitación en presencia de catalizadores específicos, se pueden generar productos indeseados con altas concentraciones de ácidos grasos tipo *trans*, perjudiciales para la salud (Sellami *et al.*, 2012; Morselli Ribeiro *et al.*, 2017).

El tipo y proporción de lípidos presentes en la dieta, son un factor importante que incide en problemas de hipertensión. Una alimentación rica en grasas saturadas y alto contenido de ácidos grasos tipo *trans*, tiene un efecto en la concentración del colesterol (principalmente del tipo lipoproteínas de baja densidad, LDL), en el plasma y en el tejido conectivo de las paredes arteriales, provocando arterosclerosis, alta presión en la sangre y enfermedades coronarias (Kadhum & Shamma, 2017).

En la naturaleza, los ácidos grasos insaturados presentes en los aceites y grasas vegetales, se encuentran en configuración *cis*, que es la ideal dentro de estos lípidos rediseñados.

Transformación de lípidos por biocatálisis

Un método alternativo a la hidrogenación de lípidos es el uso de catalizadores químicos, como el níquel Raney que está compuesto por una aleación de níquel-aluminio. Otros catalizadores químicos cono-

cidos, son el rutenio y el paladio-rutenio. También puede ser mediado por catalizadores biológicos (enzimas) como lipasas. Este tipo de hidrogenación se realiza a través de las transesterificaciones que se desarrollan por tres procesos: acidólisis, glicerólisis, e interesterificación. Las lipasas son una alternativa para llevar a cabo la modificación de aceites y grasas, al cambiar en gran medida sus propiedades físico-químicas y nutricionales. Las características de las lipasas como la especificidad y la selectividad, son ventajas frente a catalizadores químicos (metales alcóxidos), cuyas reacciones de interesterificación son completamente aleatorias, generando en ocasiones compuestos secundarios no deseados que pueden repercutir en una baja calidad organoléptica y/o nutricional del producto. Las enzimas lipolíticas, al presentar una alta especificidad y eficiencia, pueden desarrollar de forma precisa el lípido estructurado deseado (Zhang *et al.*, 2013).

Por otra parte, estas enzimas se han empleado con éxito como catalizadores en la industria alimentaria, para liberar ácidos grasos en productos alimenticios y de panadería, a través de la hidrólisis selectiva de grasas y aceites (Speranza & Macedo, 2012; Speranza *et al.*, 2016). Las transformaciones y estructuraciones de compuestos lipídicos, pueden consistir inicialmente en la hidrólisis de triacilglicéridos de manera regioespecífica para producir mono o diacilglicéridos y ácidos grasos libres. Posteriormente, se tiene una etapa de síntesis de triacilglicéridos al unir monoacilglicéridos con ácidos grasos específicos o de interés. La modificación de estos permite que la industria satisfaga los requisitos dietéticos cambiantes de los consumidores, al mejorar las propiedades funcionales y nutricionales de los alimentos (Ribeiro *et al.*, 2017).

Las lipasas han sido empleadas para la generación o síntesis de diacilglicerol (DAG) con propiedades multifuncionales y nutricionales. Estas moléculas son componentes de las grasas y aceites comestibles, pero con menos calorías y digestibilidad similar a los triacilglicerol (TAG). Una dieta rica en DAG, especialmente sn-1,3-diacilglicerol, reduce la obesidad y el contenido total de grasa en los humanos, y aumenta la pérdida de peso corporal (May & Nesaretnam, 2014).

Interesterificación del aceite de palma mediada por lipasas

El aceite de palma obtenido de *Elaeis guineensis* es uno de los más consumidos a nivel mundial, (se estima en aproximadamente 61.1 millones de toneladas durante el 2015). India, China y la UE tuvieron el 47,9 % de las importaciones mundiales (<https://www.palmoilandfood.eu/es/el-consumo-de-aceite-de-palma>). Este aceite contiene una mezcla de triacilglicerol de alto y bajo punto de fusión. Su fraccionamiento en condiciones controladas, permite recuperar dos fracciones: la oleína (líquida) y la estearina (sólida). Esta última es la menos empleada en la industria de las grasas comestibles, pero muestra ser una grasa dura potencial para reemplazar los lípidos hidrogenados por medio de la interesterificación con aceites líquidos como la oleína (Sellami *et al.*, 2012). El aceite de palma tiene una alta estabilidad oxidativa y puede ser una alternativa efectiva para reemplazar las grasas parcialmente hidrogenadas, debido a que carece de ácidos grasos *trans* (Stahl *et al.*, 2018; May & Nesaretnam, 2014). Diversos estudios sobre la transformación de los lípidos, se han centrado en los efectos del grado de interesterificación en las propiedades físicas de una mezcla de aceites y grasas como la estearina de palma, oleína y aceite de coco, de oliva, de girasol, de soya, de castor, de arroz, entre otros (Sellami *et al.*, 2012; Morselli Ribeiro *et al.*, 2017; Ahmadi *et al.*, 2009; Adhikari *et al.*, 2010), para generar margarinas o *shortening* libres de *trans*. Ejemplo de ello fue el estudio de Da Silva *et al.* (2010), donde evaluaron el efecto de la mezcla y la interesterificación en las propiedades físicas entre la estearina de palma y el aceite de oliva, obteniendo *shortening* para la industria alimentaria, con alta plasticidad y fácil de derretir a temperatura corporal. Estos hallazgos muestran cómo las lipasas permiten superar las desventajas inherentes a los aceites vegetales como son la plasticidad pobre y textura.

Estudios con la lipasa ROL, producida por *Rhizopus oryzae*, han demostrado cómo las mezclas entre estearina y oleína de palma, en diferentes proporciones, pueden ser transesterificadas conllevando la generación de grasas para la formulación de margarinas libres de *trans* (Byun *et al.*, 2007). Li *et*

al. (2018), compararon la interesterificación de la lipasa Lipozyme 435 con otros catalizadores químicos (ácido sólido, hidróxido de sodio y metóxido), observando su buena actividad catalítica al producir análogos de margarina de carne (para formulaciones más saludables), con bajo contenido de grasas *trans*. Esto se logró al mezclar aceite de soya y aceite de palma totalmente hidrogenado (como aceite de bajo costo libre de *trans*), en una proporción de masa de 4:3. Otro ejemplo, es la interesterificación mediada por la lipasa de *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM) entre la fracción media dura de palma con manteca de cacao y con la estearina del grano de mango, que permitió preparar grasas duras de chocolate intermediarias para la preparación de mantequilla de cacao (Jin *et al.*, 2018). Estudios realizados por Zhu *et al.* (2018), determinaron la relación que existe entre triacilglicéridos y la cristalización de la grasa interesterificada, y entre la estearina de palma y los aceites vegetales de soya y maíz a través de las enzimas inmovilizadas Lipozyme 435 y Lipozyme RM IM. Establecieron que estas podrían ser útiles en el desarrollo de grasas para productos congelados, al mejorar la textura de los mismos.

Actualmente, muchas investigaciones resaltan la importancia del uso de enzimas lipolíticas inmovilizadas porque permiten, a escala industrial, disminuir costos operativos al ser reutilizadas de cinco a 20 veces, sin perder más del 50 % de su actividad (Sellami *et al.*, 2012; Lopes *et al.*, 2016)

Conclusiones y perspectivas

Hoy en día se han identificado más de 3.000 enzimas. Muchas de ellas tienen aplicaciones biotecnológicas, pero sus características no satisfacen la demanda industrial porque no siempre cumplen con las condiciones de reacción específicas requeridas para cada aplicación, como altas temperaturas, actividad en presencia de solventes orgánicos y valores extremos de pH (Ferrer *et al.*, 2016). Godoy *et al.* (2015), en el estudio sobre las predicciones tecnológicas del uso de las lipasas a nivel industrial, muestran que las perspectivas de su uso en la biotecnología industrial son muy buenas, ya que su actual aplicación está lejos de explotar su potencial real. Estas observaciones requieren de mayor investigación del sector industrial unido al académico, relacionado principalmente con la identificación de nuevas lipasas y mejoramiento de las existentes, a través de técnicas como la evolución dirigida, que permitan superar los desafíos tecnológicos y así promover su uso. Es una oportunidad para los grupos de investigación, que desde la academia desarrollan estudios en biocatalizadores de organismos no antes explorados como fuentes de enzimas. Más aún, cuando el uso masivo de enzimas en transformaciones industriales requiere de un portafolio amplio para cubrir las demandas del sector industrial de la modificación de los lípidos, cada vez se precisa más especificidad de reacciones de modificación de materias primas.

Referencias

- Krüger, A. Schäfers, C., Schröder, C., & Antranikian, G. (2018). Towards a sustainable biobased industry - Highlighting the impact of extremophiles. *New Biotechnology*, 40, 144-153.
- CE-FAO. (2011). Guía práctica: Una introducción a los conceptos básicos de la seguridad alimentaria. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/014/al936s/al936s00.pdf>
- Sarmah, N., Revathi, D., Sheelu, G., Yamuna Rani, K., Sridhar, S., Mehtab, V., & Sumana, C. (2018). Recent advances on sources and industrial applications of lipases. *Biotechnology Progress*, 34, 5-28.
- Daiha, K. de G., Angeli, R., de Oliveira, S. D., & Almeida, R. V. (2015). Are Lipases Still Important Biocatalysts? A Study of Scientific Publications and Patents for Technological Forecasting. *PLoS One* 10(6).
- Kapoor, M., & Gupta, M. N. (2012). Lipase promiscuity and its biochemical applications. *Process Biochemistry*, 47(4), 555-569.

- Sandoval, G., Casas-Godoy, L., Duquesne, S., Bordes, F., & Marty, A. (2012). Lipases: An Overview, p 3-30, Lipases and Phospholipases, vol 861. Humana Press.
- Sánchez-Otero, M. G., Quintana-Castro, R., Mora-González, P. C., Márquez-Molina, O., Valerio-Alfaro, G., & Oliart-Ros, R. (2010). Enzymatic reactions and synthesis of n-butyl caproate: esterification, transesterification and aminolysis using a recombinant lipase from *Geobacillus thermoovorans* CCR11. *Environmental Technology*, 31,1101-1106.
- Hult, K., & Berglund, P. (2007). Enzyme promiscuity: mechanism and applications. *Trends in Biotechnology*, 25(5),231-238.
- Brabcova, J., Zarevucka, M., & Mackova, M. (2010). Differences in hydrolytic abilities of two crude lipases from *Geotrichum candidum* 4013. *Yeast*, 27,1029-1038.
- López, G., Chow, J., Bongen, P., Lauinger, B., Pietruszka, J., Streit, W.R., & Baena, S. (2014). A novel thermoalkalostable esterase from *Acidicaldus* sp. strain USBA-GBX-499 with enantioselectivity isolated from an acidic hot springs of Colombian Andes. *Applied Microbiology Biotechnology*, 98(20),8603-16.
- López, G., Ruiz, M., Vera, R., Loaiza, A., & Baena, S. (2015). Desarrollo de reacciones de transformación de oleorresinas de coníferas, triacilglicéridos, ácidos grasos usando enzimas lipolíticas para la generación de materias primas intermediarias en el sector industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Informe técnico, p 157.
- Angajala, G., Pavan, P., & Subashini, R. (2016). Lipases: An overview of its current challenges and prospectives in the revolution of biocatalysis. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7,257-270.
- Lajis, A. F. B. (2018). Realm of Thermoalkaline Lipases in Bioprocess Commodities. *Journal of Lipids* 2018, 22.
- Rodrigues, R. C., & Fernandez-Lafuente, R. (2010). Lipase from *Rhizomucor miehei* as a biocatalyst in fats and oils modification. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 66 (1-2),15-32.
- Imran, M., & Nadeem, M. (2015). Triacylglycerol composition, physico-chemical characteristics and oxidative stability of interesterified canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. *Lipids in Health and Disease*, 14,138.
- Speranza, P., & Macedo, G. A. (2012). Lipase-mediated production of specific lipids with improved biological and physicochemical properties. *Process Biochemistry*, 47(12),1699-1706.
- Senanayake, S. P. J. N., & Shahidi, F. (2005). Modification of Fats and Oils via Chemical and Enzymatic Methods, Bailey's Industrial Oil and Fat Products. F. Shahidi (Ed.).
- Kadhun, A. A., & Shamma, M. N. (2017). Edible lipids modification processes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1),48-58.
- Sellami, M., Ghamgui, H., Frikha, F., Gargouri, Y., & Miled, N. (2012). Enzymatic transesterification of palm stearin and olein blends to produce zero-trans margarine fat. *BMC Biotechnology*, 12,48.
- Morselli Ribeiro, M. D. M., Ming, C. C., Silvestre, I. M., Grimaldi, R., & Gonçalves, L. A .G. (2017). Comparison between enzymatic and chemical interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated soybean oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119,1500473.
- Zhang, J. H., Jiang, Y. Y., Lin, Y., Sun, Y. F., Zheng, S. P., & Han, S. Y. (2013). Structure-guided modification of *Rhizomucor miehei* lipase for production of structured lipids. *PLoS One*, 8(7),e67892.
- Speranza, P., Ribeiro A. P. B., & Macedo, G.A. (2016). Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area. *Journal of Biotechnology*, 218,13-20.

- Ribeiro, M., Ming, C. C., Lopes, T. I. B., Grimaldi, R., Marsaioli, A. J., & Goncalves, L. A. G. (2017). Synthesis of structured lipids containing behenic acid from fully hydrogenated *Crambe abyssinica* oil by enzymatic interesterification. *Journal of Food Science Technology*, 54(5),1146-1157.
- Salameh, M. A., & Wiegel, J. (2009). Synthesis of fatty acid esters and diacylglycerols at elevated temperatures by alkalithermophilic lipases from *Thermosyntropha lipolytica*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(10),1281-1287.
- Stahl, M. A., Buscato, M. H. M., Grimaldi, R., Cardoso, L. P., & Ribeiro, A. P. B. (2018). Structuration of lipid bases with fully hydrogenated crambe oil and sorbitan monostearate for obtaining zero-trans/low sat fats. *Food Research International*, 107,61-72.
- May, C. Y., & Nesaretnam, K. (2014). Research advancements in palm oil nutrition. *European Journal of Lipid Science Technology*, 116(10),1301-1315.
- Ahmadi, L., Wright, A. J., and Marangoni, A. G. (2009). Structural and Mechanical Behavior of Tristearin/Triolein-rich Mixtures and the Modification Achieved by Interesterification. *Food Biophysics*, 4(2),64-76.
- Moreno, N., Pareja, C., Martínez, F., Perea, A., & Arango, L. M. (2004). Transesterificación enzimática de la oleína de palma para la producción de grasas especiales en un reactor tipo batch. *Revista Palmas*, 5(Especial),370-375.
- Fuciños, P., Domínguez, A., Sanromán, M. A., Longo, M. A., Rúa, M. L., & Pastrana L. (2005). Production of thermostable lipolytic activity by *Thermus* species. *Biotechnology Progress*, 21(4),:1198-1205.
- Adhikari, P., Shin, J. A., Lee, J. H., Hu, J. N., Zhu, X. M., Akoh, C. C., & Lee, K. T. (2010). Production of trans-free margarine stock by enzymatic interesterification of rice bran oil, palm stearin and coconut oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(4),703-11.
- Da Silva, R. C., Soares, D. F., Lourenço, M. B., Soares, F. A. S .M., Da Silva, K. G., Gonçalves M. I. A., & Gioielli, L. A. (2010). Structured lipids obtained by chemical interesterification of olive oil and palm stearin. *LWT - Food Science and Technology*, 43(5),752-758.
- Byun, J. S., Rhee, J. K., Kim, N. D., Yoon, J., Kim, D. U., Koh, E., Oh, J. W., & Cho, H .S. (2007). Crystal structure of hyperthermophilic esterase EstE1 and the relationship between its dimerization and thermostability properties. *BMC Structural Biology*, 7,1-11.
- Li, Y., Zhao, J., Xie, X., Zhang, Z., Zhang, N., & Wang, Y. (2018). A low trans margarine fat analog to beef tallow for healthier formulations: Optimization of enzymatic interesterification using soybean oil and fully hydrogenated palm oil. *Food Chemistry*, 255,405-413.
- Jin, J., Akoh, C. C., Jin, Q., & Wang, X. (2018). Preparation of mango kernel fat stearin-based hard chocolate fats via physical blending and enzymatic interesterification. *LWT - Food Science and Technology*, 97,308-316.
- Zhu, T. W., Weng, H. T., Zhang, X., Wu, H., & Li, B. (2018). Mechanistic insight into the relationship between triacylglycerol and crystallization of lipase-catalyzed interesterified blend of palm stearin and vegetable oil. *Food Chemistry*, 260,306-316.
- Lopes, T. I. B., Ribeiro, M. D. M. M., Ming, C. C., Grimaldi, R., Gonçalves L. A. G., & Marsaioli, A. J. (2016). Comparison of the regiospecific distribution from triacylglycerols after chemical and enzymatic interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated high oleic sunflower oil blend by carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*, 212,641-647.
- Ferrer, M., Martínez-Martínez M., Bargiela, R., Streit, W.R ., Golyshina, O. V., & Golyshin, P. N. (2016). Estimating the success of enzyme bioprospecting through metagenomics: current status and future trends. *Microbial Biotechnology*, 9(1),22-34.