

INDICE GENERAL

Capítulo 1

1	Introducción general.	
1.1	Generalidades.....	2
1.2	Características de las reacciones catalizadas por lipasas.....	5
1.3	Aplicaciones.....	10
1.4	Especificidad respecto a los sustratos.....	12
1.4.1	Selectividad respecto al ácido graso considerado.....	13
1.4.2	Selectividad respecto a la posición del enlace éster en la molécula de glicerol.....	14
1.4.3	Especificidad respecto al alcohol.....	14
1.4.4	Selectividad respecto al tipo de lípido.....	15
1.4.5	Estereoselectividad.....	15
2	Objetivo del trabajo.....	16

Capítulo 2

Materiales y métodos

2.1	Reactivos y catalizador.....	18
2.1.1	Solución de enzima: preparación y almacenamiento.....	18
2.1.2	Acido graso: composición.....	18
2.1.3	Glicerina: composición, cantidad de agua.....	19
2.2	Ensayos de actividad de la enzima.....	20
2.2.1	Método experimental.....	20
2.2.2	Estabilidad de las soluciones con el tiempo.....	21
2.3	Sistema de reacción.....	23
2.3.1	Método experimental.....	23
2.3.2	Importancia de la agitación.....	24



2.4	Avance de la reacción total.....	26
2.5	Análisis de los productos obtenidos.....	27
2.5.1	Extracción.....	27
2.5.2	Separación por cromatografía en capa fina.....	27
2.5.3	Cuantificación por barrido densitomé- trico.....	29
2.6	Análisis de la composición en ácidos grasos...34	
2.6.1	Equipo utilizado.....	34
2.6.2	Características de la columna.....	35
2.6.3	Identificación de los ácidos grasos.....	35
2.7	Análisis de la especificidad de la lipasa frente al sustrato.....	38

Capítulo 3

Diseño experimental

3.1	Necesidad de la aplicación de un diseño experimental en el trabajo con lipasas.....	40
3.2	Características generales de un diseño experimental.....	43
3.3	Diseño experimental aplicado.....	45
3.4	Modelos estadísticos en función de los datos. Tests de hipótesis.....	50
3.4.1	Test de LOF.....	51
3.4.2	Test de Poblaciones normales.	
3.4.2.1	Test de D'Agostino.....	52
3.4.2.2	Test de Shapiro-Wilk.....	53

Capítulo 4
Resultados generales

4.1 Elección del sistema de reacción.....	56
4.2 Estudio de la actividad esterificante total en función del pH, temperatura y tiempo de reacción.....	58
4.3 Optimización de las variables pH, temperatura y tiempo de reacción.....	63
4.3.1 Resultados del primer diseño experi- mental.....	63
4.3.1.1 Análisis del efecto de la temperatura.....	68
4.3.1.2 Análisis del efecto del tiempo..	69
4.3.1.3 Análisis del efecto del pH.....	71
4.3.2 Modelo matemático para los resultados del primer diseño experimental.....	72
4.3.3 Análisis estadístico del modelo.....	75
4.3.3.1 Test de Shapiro-Wilk.....	75
4.3.3.2 Test de D'Agostino.....	76
4.3.3.3 Test de LOF.....	77
4.3.4 Maximización de la función hallada.....	79
4.3.5 Representación gráfica de la función x_{MAG} en función del pH y la temperatura.....	80
4.3.6 Segundo diseño experimental.....	84
4.3.6.1 Análisis del efecto del pH.....	88
4.3.6.2 Análisis del efecto de la temperatura.....	89
4.3.6.3 Análisis del efecto del tiempo..	91
4.3.7 Modelo matemático para los resultados del segundo diseño experimental.....	92
4.3.8 Análisis estadístico del modelo.....	94
4.3.8.1 Test de Shapiro-Wilk.....	94
4.3.8.2 Test de D'Agostino.....	95

4.3.8.3 Test de LOF.....	95
4.3.9 Maximización de la función hallada.....	96
4.3.10 Representación gráfica de la función x_{MAG} en función del pH y la temperatura.....	97
4.3.11 Estudio de la variación de x_{MAG} a pH=7.0	101
4.4 Optimización de la variable relación de fases.....	103
4.4.1 Estudio de la influencia de la relación de fases, manteniendo constante la re- lación molar glicerina/ácido.....	104
4.4.2 Estudio de la influencia de la relación de fases manteniendo constante las con- centraciones de agua y enzima en la fase polar.....	106
4.5 Estudio de la selectividad frente al sustrato ácido graso.....	108

Capítulo 5

Conclusiones generales

Conclusiones.....	111
-------------------	-----

Capítulo 6

Referencias bibliográficas.....	114
---------------------------------	-----

Apéndice.....	122
---------------	-----