



Caracterización de diversas fracciones del látex *Carica papaya* como biocatalizadores en la hidrólisis de triglicéridos

I. Rivera y G. Sandoval[✉]

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), 44270 Guadalajara, Jalisco, México

[✉]Autor para correspondencia: gsandoval@ciatej.mx, georgina@confluencia.net

Submitted: 22 April 2013; Accepted: 9 September 2013; Published on line: 13/02/2014

SUMMARY: *Characterization of different lipolytic fractions in Carica papaya.* *Carica papaya* latex contains interesting enzymes; the best known is papain, but lipolytic activity is also present. Due to the complexity of the latex polymeric matrix, it has not been possible to completely isolate enzymes responsible of lipolytic activity. The aim of this work was to characterize the lipolytic activity in the raw latex (CPLtx) and two partially purified fractions of papaya latex (without protease, CPL-p and without esterase CPL-e). Thermostability, optimal temperature and pH in the hydrolysis of two model triglycerides (tributyryn and triolein) and the selectivity towards triglycerides with different chain lengths were determined. The lipolytic activity of these biocatalysts in the hydrolysis of tributyrin and olive oil was similar to other commercially available immobilized microbial lipases (RM IM and Novozyme 435).

KEYWORDS: *Carica papaya; hydrolysis; latex; lipase; triglycerides*

RESUMEN: El látex de *Carica papaya* es fuente de interesantes enzimas, la más conocida es la papaína, pero la actividad lipolítica también está presente. No obstante, debido a la complejidad de la matriz polimérica del látex, hasta la fecha no ha sido posible aislar las enzimas responsables de la actividad lipolítica del látex. Este trabajo está dedicado a la caracterización de la actividad lipolítica en el látex crudo (CPLtx) y dos fracciones parcialmente purificadas de látex de papaya (sin proteasas, CPL-p y sin esterases, CPL-e), a las cuales se determinaron la termostabilidad, temperatura y pH óptimos en la hidrólisis de dos triglicéridos modelo (tributirina y trioleína), así como la selectividad hacia triglicéridos con diferentes longitudes de cadena. Los tres presentaron actividades lipolíticas en hidrólisis de tributirina y aceite de oliva comparables con otras lipasas microbianas inmovilizadas disponibles comercialmente (RM IM y Novozyme 435).

PALABRAS CLAVE: *Carica papaya; hidrólisis; látex; lipasa; triglicéridos*

Citation/Cómo citar este artículo: Rivera I, Sandoval G. 2014. Caracterización de diversas fracciones del látex *Carica papaya* como biocatalizadores en la hidrólisis de triglicéridos. *Grasas Aceites* 65 (1): e003. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.049313>

Copyright: © 2014 CSIC. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial (by-nc) Spain 3.0 Licence.

1. INTRODUCCIÓN

Carica papaya es una planta de tipo arborescente que produce un exudado de apariencia lechosa conocido como látex, que es producido en una clase de células especializadas llamadas latificiantes como un sistema de defensa contra diversos tipos de depredadores (El Moussaoui *et al.*, 2001). Este exudado se coagula rápidamente después de ser liberado formando un látex. El látex está constituido por una mezcla compleja de distintos compuestos incluyendo terpenos, alcaloides, fitoesteros, compuestos fenólicos, etc. (Silva *et al.*, 1997).

Así mismo, dentro de esta matriz existe una gran cantidad de proteínas, incluyendo diversas cistein endopeptidasas como la papaína y caricaina (El Moussaoui *et al.*, 2001); adicionalmente una de las actividades enzimáticas más interesantes, que se encuentra asociada a la fracción del látex insoluble en agua, es la actividad lipolítica conocida como la lipasa de *Carica papaya* (Giordani *et al.*, 1991).

Las lipasas se definen como triacilglicerol acilhidrolasas capaces de hidrolizar los enlaces éster de cadena larga de la estructura de acilglicerol a ácidos grasos y glicerol (Casas-Godoy *et al.*, 2012). Esta clase de enzimas se puede encontrar en una gran cantidad de organismos desde microorganismos, animales y plantas, aunque en su mayoría son obtenidas de microorganismos debido a su facilidad de manejo y velocidad de crecimiento.

El reino vegetal también es una fuente interesante de lipasas debido a que algunas de sus características son especialmente atractivas para su empleo en la industria como en el caso de la lipasa ácida de *Ricinus cummunis* (Noma and Borgstro, 1971; Tuter, 1998).

En el caso del látex de *Carica papaya*, la actividad lipolítica se encuentra fuertemente asociada a la fracción del látex que es insoluble en agua (Abdelkafi *et al.*, 2011, Rivera *et al.*, 2012), por lo que diversos esfuerzos se han realizado con el objetivo de aislar la mayor parte de la actividad lipolítica presente en el látex. Sin embargo la proteína o proteínas responsables de la mayoría de la actividad lipolítica permanece sin ser aislada en su totalidad.

La mayoría de los esfuerzos para llevar a cabo la purificación de estas proteínas se centran en la eliminación de las enzimas solubles en agua (principalmente proteasas), mediante diversos lavados con agua (Ng and Tsai, 2005; Rivera *et al.*, 2012) y el empleo de detergentes como el NLS y CHAPS permite el aislamiento de una fracción de la actividad lipolítica presente en el látex de *Carica papaya* (Abdelkafi *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2012).

La eficiencia de este biocatalizador ha sido demostrada en diversas transformaciones como: la modificación de lípidos, resolución de compuestos quirales que forman parte de una mezcla racémica (Chen *et al.*, 2005; Rivera *et al.*, 2013), así como

en la producción de mantequillas (Pinyaphong and Phutrakul 2009) y lípidos estructurados (Lee and Foglia, 2000), diésteres del ácido oxoglutarico (Quintana *et al.*, 2011) y sustitutos de leche materna (Tecelao *et al.*, 2012).

No obstante, no existen estudios comparativos de las capacidades catalíticas de las distintas fracciones del látex de papaya en hidrólisis de triglicéridos, por lo que investigaciones al respecto permitirán determinar la eficiencia catalítica de los diversos biocatalizadores con actividad lipolítica presentes en el látex.

Así mismo, una aplicación interesante para este tipo de biocatalizadores es la producción de monoglicéridos y diglicéridos mediante la hidrólisis selectiva de diversos aceites. Otra de las aplicaciones interesantes para este tipo de biocatalizadores es la formulación de diversas clases de detergentes como los detergentes quirúrgicos, lavavajillas y detergentes para ropa.

Este trabajo está dedicado a la caracterización de la capacidad catalítica en hidrólisis de triglicéridos de diferentes fracciones del látex de *Carica papaya*: el látex crudo (CPLtx) y dos fracciones parcialmente purificadas de látex de papaya (sin proteasas, CPL-p y sin esterasas, CPL-e).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Obtención de los biocatalizadores de papaya

El látex de papaya (CPLtx) obtenido de cultivos de *Carica papaya* variedad Maradol localizados en el occidente de México, fue colectado directamente de acuerdo a la metodología descrita por Rivera *et al.* (2012). Las fracciones CPL-p (sin proteasas) y CPL-e (sin proteasas y sin esterasas), fueron obtenidas de acuerdo con la metodología de Rivera *et al.* (2012). Una vez obtenidas cada una de las fracciones fueron liofilizadas y almacenadas a -4°C hasta su empleo como catalizador. Se utilizaron también las lipasas inmovilizadas de *Rhizomucor miehei* (Novozyme RM IM) y *Candida antarctica* B (Novozyme 435).

2.2. Métodos

2.2.1. Determinación de actividad lipasa

La actividad lipasa fue medida mediante la titulación de los ácidos grasos liberados durante la reacción hidrólisis de triglicéridos de diferente tamaño de cadena. Las reacciones de hidrólisis fueron llevadas a cabo en un incubador (Envirogen Scientific Industries, USA) a $30-70^{\circ}\text{C}$ con agitación de tipo magnético a 500 rpm. La mezcla de reacción está compuesta por 2.5 mL de triglicérido, 0.2% de tween 80 y 1 mL de solución amortiguadora 50 mM Tris-HCl, a diferentes pHs (5–10).

La actividad lipasa se expresó de la siguiente forma $1U=1\mu\text{mol}$ ácidos grasos libres (FFA) liberados por minuto.

2.2.2. Caracterización de las actividades lipolíticas

La especificidad por longitud de cadena fue evaluada mediante la determinación de la actividad de hidrólisis de triglicéridos con diferente tamaño de cadena (tributirina C4:0, trioctanoína C8:0 y aceite de oliva extra virgen con un contenido mayoritario de trioleína C18:1 y acidez menor al 2%).

La temperatura óptima fue evaluada mediante la hidrólisis a diferentes temperaturas entre 30 °C y 70 °C y un pH 8.5 en el caso de hidrólisis de triglicéridos de cadena corta y pH 9 en el caso de hidrólisis de triglicéridos de cadena larga.

La estabilidad térmica fue evaluada mediante la incubación de los tres biocatalizadores durante diversos tiempos (15, 30, 45 y 60 minutos) a una temperatura de 50 °C, posteriormente la actividad lipolítica en hidrólisis de tributirina y aceite de oliva fueron evaluadas bajo condiciones estándar las cuales fueron 35 °C y pH 8.5 en el caso de tributirina y 35 °C y pH 9 para aceite de oliva.

El pH óptimo fue determinado mediante la determinación de la actividad lipolítica en hidrólisis de tributirina y aceite de oliva bajo diferentes pH y una concentración de 50mM. Los tampones utilizados fueron: citrato de sodio (pH 5–6), Tris-HCl (pH 7–9), carbonato de sodio pH 10.

2.2.3. Cinéticas de hidrólisis de aceite de oliva

Las cinéticas de hidrólisis se llevaron a cabo en un equipo pH-stato 799 GPT Titrino acoplado a un baño a 40 °C, la mezcla de reacción estaba compuesta por 0.5g de aceite de oliva, 0.2% de tween 80 y 2.5 mM Tris-HCl pH 9.0 en un volumen total de reacción de 20 mL y una agitación de 500 rpm.

Las cinéticas de reacción fueron evaluadas mediante la determinación de la cantidad de ácidos grasos liberados durante el transcurso de la reacción por titulación, restando el blanco de una muestra sin enzima (solo con tampón).

2.2.4. Análisis estadístico

Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado, las barras en las figuras representan el error estándar. La independencia de cada medición fue evaluada mediante el análisis de dos vías (con un procedimiento GLM) en el software SAS versión 9.0.

3. RESULTADOS

La caracterización de la actividad de hidrólisis de los tres biocatalizadores permite la identificación de algunas de sus propiedades con vistas a sus posibles

aplicaciones y comparación de sus propiedades con las de otros biocatalizadores similares en su tipo.

3.1. Preferencia por tamaño de cadena de triglicéridos

De los tres biocatalizadores empleados en este trabajo, como se observa en Figura 1, la fracción CPLtx presenta mayor actividad cuando se emplean cadenas cortas de triglicéridos, esto coincide con lo encontrado previamente por otros autores (Giordani *et al.*, 1991; Abdelkafi *et al.*, 2009). En cuanto a la fracción CPL-p (sin proteasas), hidroliza tanto cadenas cortas como medianas, incrementando la actividad relativa en cadenas medianas un 10% con respecto a la fracción CPLtx; por lo que esta fracción se ve enriquecida con una mayor capacidad de hidrólisis sobre triglicéridos de cadena mediana.

Para la fracción CPL-e (sin proteasas y sin esterasas), se observa un enriquecimiento en la actividad de hidrólisis sobre cadenas largas en un 40%–50% con respecto a las dos fracciones anteriores CPLtx y CPL-p.

Los extractos solubles de proteasas y esterasas no mostraron actividad sobre los triglicéridos.

De forma general, la fracción CPLtx presenta preferencia por triglicéridos de cadena corta, mientras las fracciones CPL-p y CPL-e se ven enriquecidas en actividad sobre cadena mediana y larga respectivamente, lo cual puede indicar la presencia de al menos dos proteínas que presentan actividad lipolítica dentro del látex de *Carica papaya*, una con selectividad hacia cadena corta de triglicéridos

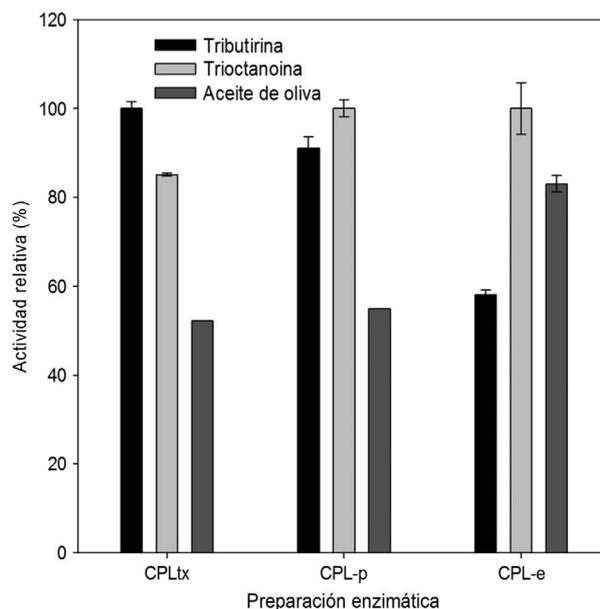


FIGURA 1. Preferencia por tamaño de cadena en hidrólisis de triglicéridos catalizada por diferentes biocatalizadores del látex de *Carica papaya*. pH 8.5, temperatura 35 °C. Las barras de error representan el error estándar de dos mediciones.

TABLA 1. Relación entre las actividades lipolíticas de los diferentes biocatalizadores de latex de *Carica papaya*

BIOCATALIZADOR	TC8/TC4	TC18/TC4
CPLtx	0.81	0.52
CPL-p	1.09	0.60
CPL-e	1.7	1.9

(Abdelkafi *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2012) y al menos una proteína con preferencia sobre cadena mediana o larga de triglicéridos.

La relación entre las actividades determinadas con los diferentes largos de cadena que se muestra en la Tabla 1 es un indicativo de la presencia de la proteína con preferencia sobre cadena corta de triglicéridos. Demostrando de un cambio en la preferencia de la mezcla de enzimas presentes en cada fracción.

Estos resultados demuestran también que a partir del tratamiento con detergentes como en el caso de la fracción CPL-e, además de haber alcanzado la purificación parcial de la actividad lipolítica del látex de *Carica papaya*, de igual forma se ha logrado el aislamiento de una esterasa (Abdelkafi *et al.*, 2009, Rivera *et al.*, 2012). Sin embargo, la mayoría de la actividad lipolítica permanece fuertemente asociada a la fracción insoluble del látex lo que complica su aislamiento; posiblemente debido a ello, hasta la fecha no se ha logrado su purificación. Sin embargo mediante proteómica se ha identificado la presencia de una triacilglicerol lipasa en el látex (Dhouib *et al.*, 2011), la cual posiblemente corresponde a al menos una fracción de la preparación CPL-e.

3.2. pH óptimo

Las tres fracciones presentan una mayor actividad lipolítica en medio alcalino (Figura 2), con un pH óptimo de 8.5 en hidrólisis de triglicéridos de cadena corta (tributirina) como se observa en la figura 2a y en el caso de hidrólisis de triglicéridos de cadena larga las tres fracciones CPLtx, CPL-p y CPL-e presentan un pH óptimo de 9 (Figura 2b).

Un pH óptimo alcalino es una característica que estas fracciones comparten con algunas lipasas de plantas como la lipasa de *Jatropha curcas* (Staubmann *et al.*, 1999), *Carica pentagona* (Dhuique-Mayer *et al.*, 2001) y salvado de arroz (Bhardwaj *et al.*, 2001). Además, las enzimas lipolíticas alcalinas son especialmente atractivas a nivel industrial para su empleo en la producción de detergentes (Hasan *et al.*, 2010). Así mismo, la alcalinidad es una de las diferencias principales entre los biocatalizadores evaluados en el presente trabajo y una gran cantidad de las lipasas microbianas. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado previamente para látex crudo (Abdelkafi *et al.*, 2011).

3.3. Temperatura óptima y termoestabilidad

La temperatura es un parámetro importante en toda reacción enzimática, generalmente la velocidad inicial de una reacción enzimática se incrementa de forma proporcional con la temperatura hasta el punto en el que la proteína se desnaturaliza.

En la Figura 3 se muestra la temperatura óptima de los tres biocatalizadores estudiados en este trabajo, todas las fracciones (CPLtx, CPL-p y CPL-e) presentan una actividad máxima en hidrólisis de tributirina de 40 °C (figura 3a), así mismo, cuando se utilizan triglicéridos de cadena larga (aceite de oliva) la temperatura óptima es de 50 °C para las tres fracciones (Figura 3b).

En una publicación anterior de Abdelkafi *et al.* (2011), se determinó que la temperatura óptima en la reacción de hidrólisis de aceite de oliva para la fracción CPLtx fue de 50 °C, al igual que en el presente trabajo y aquí observamos que las fracciones CPL-p y CPL-e presentaron la misma temperatura óptima en la hidrólisis de aceite de oliva. La diferencia en la determinación de la temperatura óptima cuando se emplean diversos largos de cadena en la hidrólisis de triglicéridos es indicativo de la presencia de al menos una segunda proteína con actividad lipolítica, una con preferencia hacia cadenas cortas de triglicéridos y la segunda con preferencia por cadenas medianas a largas.

De igual forma, algunas de las lipasas de plantas como la lipasa de Babaco (*Carica pentagona*) (Cambon *et al.*, 2008; Dhuique-Mayer *et al.*, 2001) y coco (Ejedegba *et al.*, 2007) también presentan temperaturas óptimas entre 40 °C y 50 °C, lo cual es atractivo para diversas aplicaciones industriales.

Sin embargo, antes de seleccionar las condiciones de la reacción, otro parámetro importante es la termoestabilidad. Las fracciones CPL-p y CPL-e presentan un incremento estadísticamente significativo en la termoestabilidad en comparación a la de la fracción inicial CPLtx (valor de *p* menor a 0.1 en todos los casos), tanto en la reacción de hidrólisis de triglicéridos de cadena corta como triglicéridos de cadena larga (Figura 4). En el caso de la hidrólisis de triglicéridos de cadena corta, la vida media ($t_{1/2}$) es menor a 15 minutos para la fracción CPLtx y de 12 minutos para las fracciones CPL-p y CPL-e. Los resultados obtenidos demuestran una mayor termoestabilidad en la hidrólisis de cadenas largas de triglicéridos, obteniendo una $t_{1/2}$ de 15 minutos para la fracción CPLtx, 30 minutos para la fracción CPL-p y aproximadamente de 35 minutos para la fracción CPL-e. Como no se tienen referencias de la termoestabilidad de otras lipasas de plantas, comparando con lipasas microbianas se encontró por ejemplo que la lipasa 2 de la levadura *Yarrowia lipolytica* (no inmovilizada) presenta una vida media a 50 °C de 5.4 minutos (Bordes *et al.*, 2011) y de 7 minutos para la lipasa (no inmovilizada) de *Rhizopus arrhizus*

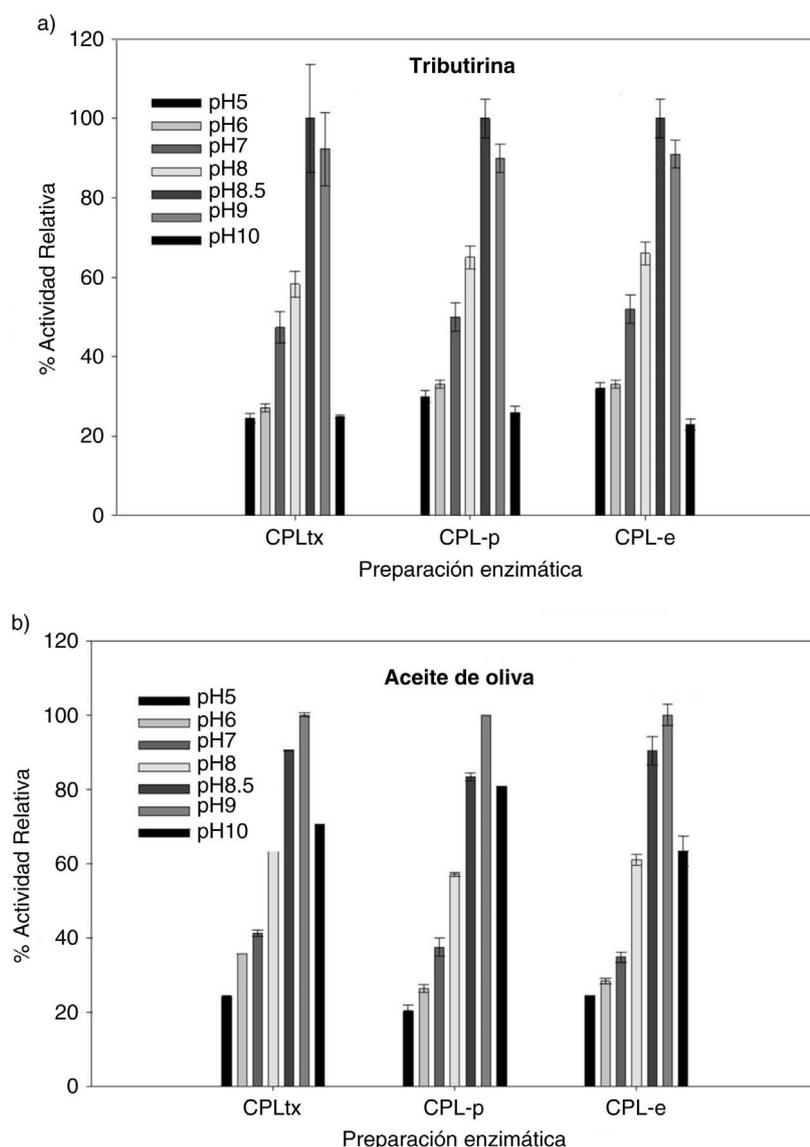


FIGURA 2. pH óptimo de hidrólisis de triglicéridos catalizada por diferentes biocatalizadores del látex de *Carica papaya*, 35 °C. Las barras de error representan el error estándar de dos mediciones.

(Niu *et al.*, 2006), mientras que los biocatalizadores estudiados en este trabajo presentan una vida media de 3 a 7 veces mayor. Sin embargo, la mayor termoestabilidad de las fracciones del látex, puede ser debida a que los compuestos que forman parte de la estructura y composición de látex proporcionan estabilidad a las diferentes proteínas, los cuales permanecen en la fracción insoluble durante el proceso de purificación parcial, es decir, están naturalmente inmovilizadas.

Por otra parte, en la naturaleza se pueden encontrar lipasas naturalmente más termoestables como la lipasa de *Thermomyces lanuginosa* que presentan una vida media de 50 min a 70 °C (Zheng *et al.*, 2011).

En la Figura 5 se compara la actividad de hidrólisis de tributirina y aceite de oliva de las fracciones

del látex de papaya con otras lipasas microbianas inmovilizadas disponibles comercialmente (lipasas de *Rhizomucor miehei*, RM IM y *Candida antarctica* B, Novozyme 435).

En hidrólisis de tributirina, las fracciones presentan actividades 1.5 a 2 veces la actividad presente en la lipasa RM IM y 3–5 veces menores a la actividad de la lipasa Novozyme 435 que es conocida por tener preferencia a este tamaño de triglicérido. En hidrólisis de aceite de oliva, RM IM muestra mayor actividad, comparable a la de la fracción CPL-e y mayor a las de las fracciones CPL-p y CPLtx. Los tres biocatalizadores de papaya tuvieron una mayor actividad en este sustrato que la lipasa de Novozyme 435.

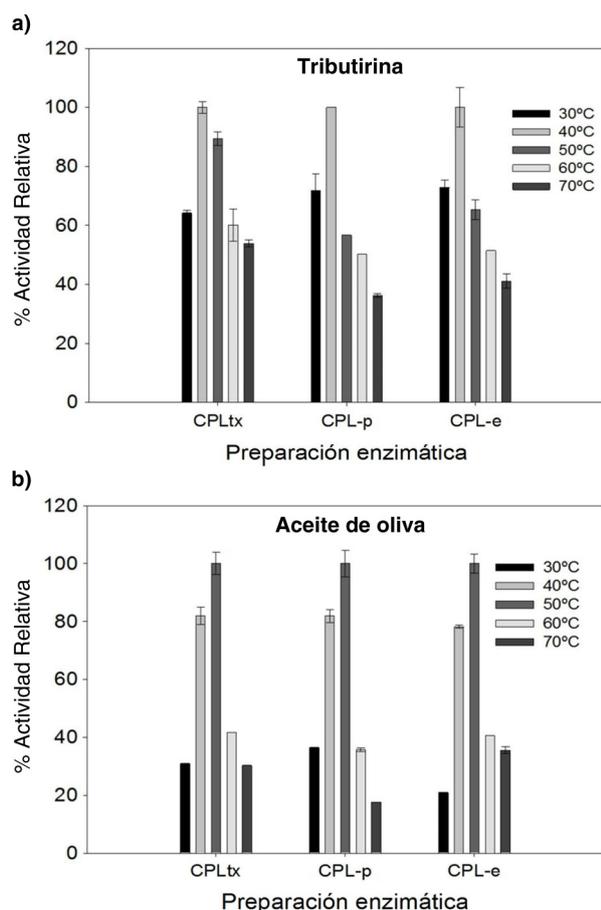


FIGURA 3. Temperatura óptima en hidrólisis de triglicéridos catalizada por diferentes biocatalizadores del látex de *Carica papaya*. a) pH 8.5, b) pH 9. Las barras de error representan el error estándar de dos mediciones.

3.4. Cinéticas de hidrólisis de aceites de oliva

Para la elección de las condiciones en que se evaluaría la cinética de hidrólisis de aceite de oliva se consideraron los datos de las figuras 3 y 4. Aunque la temperatura óptima en hidrólisis de aceite de oliva fue de 50 °C (Figura 3), se seleccionó una temperatura de 40 °C con el objetivo de incrementar su termoestabilidad. En cuanto al pH, la figura 3 muestra que el óptimo fue 9.0. En estas condiciones se observa que la fracción CPL-e presenta la mayor velocidad de hidrólisis (velocidad inicial de 0.40 mg/s·g de biocatalizador), el doble de la obtenida con el látex no purificado (0.24 mg/s·g).

4. CONCLUSIONES

El látex de *Carica papaya* presenta una mezcla de enzimas lipolíticas, que se observa en el cambio de selectividad de las tres fracciones CPLtx (cruda), CPL-p (sin proteasas) y CPL-e (sin proteasas ni

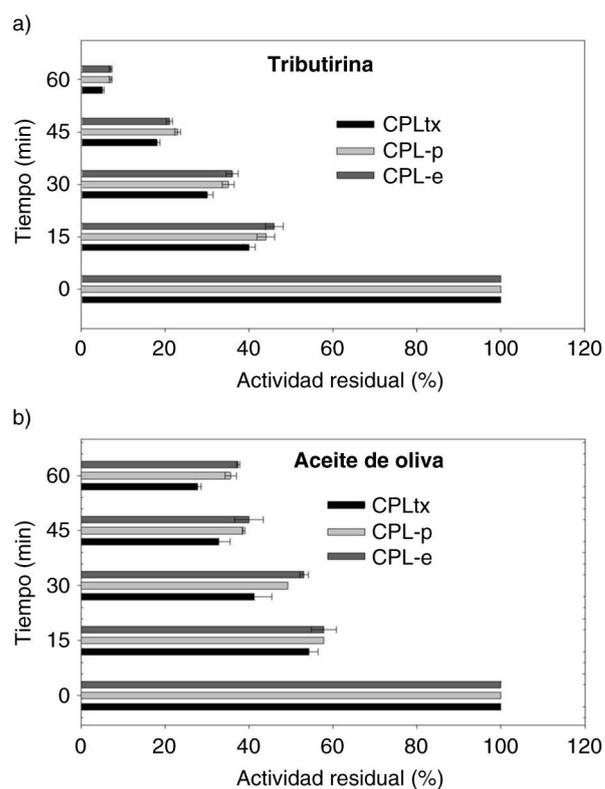


FIGURA 4. Termoestabilidad en hidrólisis de triglicéridos catalizada por diferentes biocatalizadores del látex de *Carica papaya*. a) pH 8.5, 40 °C. b) pH 9, 50 °C. Las barras de error representan el error estándar de dos mediciones.

esterasas). CPLtx presenta preferencia por triglicéridos de cadena corta en la reacción de hidrólisis de triglicéridos, mientras CPL-p y CPL-e mostraron una mayor actividad en hidrólisis de triglicéridos de cadena mediana y larga respectivamente. Sin embargo, muy probablemente en la fracción CPL-e todavía quede algo de esterasa remanente atrapada en la matriz del látex, por lo que serían necesarios estudios electroforéticos adicionales, así como algunos otros ensayos de extracción que permitan descartar esta posibilidad.

La temperatura óptima de las tres fracciones en hidrólisis de triglicéridos con longitud de cadena corta es de 40 °C, mientras que sobre triglicéridos de cadena larga es de 50 °C. Una de las características importantes a determinar en una preparación enzimática es el pH óptimo de la misma, en este trabajo las tres fracciones CPLtx, CPL-p y CPL-e presentan un pH óptimo de 8.5 en hidrólisis de triglicéridos de cadena corta y un pH óptimo de 9.0 en hidrólisis de triglicéridos de cadena larga; lo cual hace que estas fracciones del látex de *Carica papaya* sean especialmente atractivas para su aplicación en detergentes.

Así mismo, los resultados obtenidos indican la presencia de al menos dos proteínas con actividad

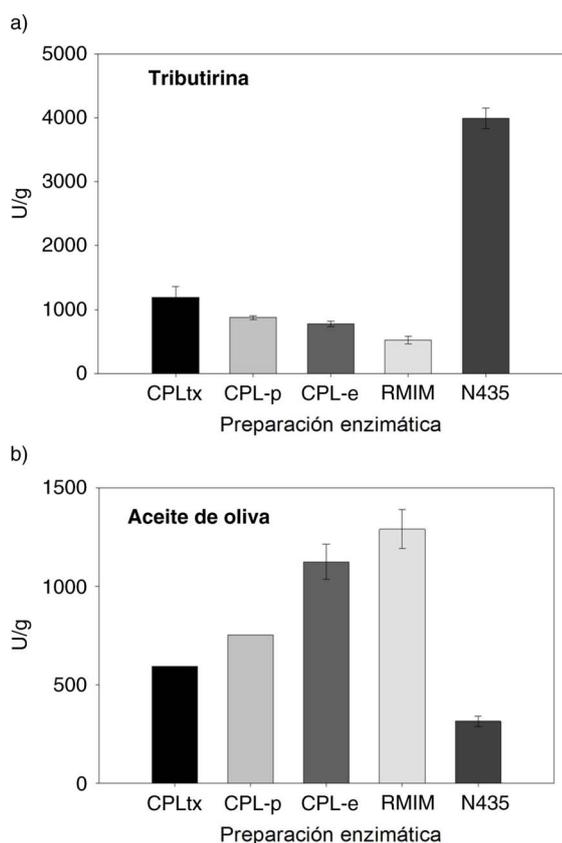


FIGURA 5. Hidrólisis de triglicéridos catalizada por diferentes biocatalizadores. a) pH 8.5, 35 °C; b) pH 9, 35 °C. Las barras de error representan el error estándar de dos mediciones.

lipolítica en el látex de *Carica papaya*. El conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de cada una de las fracciones permite la obtención de un

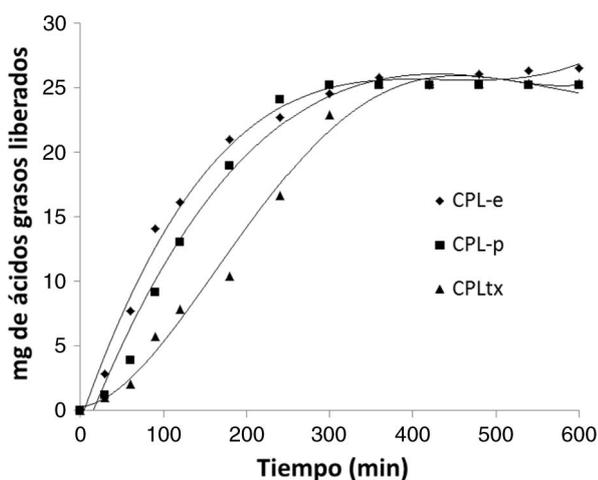


FIGURA 6. Cinética de hidrólisis de aceite de catalizada por diferentes biocatalizadores. 0.5 g de aceite de oliva, Tampón 2.5 mM Tris HCl, 40 °C, 500 rpm.

mayor conocimiento de las propiedades catalíticas de estos biocatalizadores y estos conocimientos pueden ser aplicados con la finalidad de favorecer la actividad de una de las dos enzimas, de acuerdo con las características de ambas proteínas, la síntesis a realizar y del producto deseado.

En cuanto a la cinética de hidrólisis de aceite de oliva la fracción CPL-e presenta una velocidad inicial 1.6 y 1.17 mayor que la obtenida con CPLtx y CPL-p respectivamente. Sin embargo los ácidos grasos liberados al final de la reacción son similares para las tres fracciones (25 a 27 mg de ácidos grasos).

Es importante destacar que este trabajo muestra por primera vez de forma comparativa la caracterización de estas tres fracciones del látex de papaya con actividad lipolítica, además de la evaluación de la cinética de hidrólisis de triglicéridos. Así mismo, por primera vez se muestran las propiedades catalíticas de la fracción CPL-e.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento del proyecto CB-2008-104429 del CONACYT (México).

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelkafi S, Barouh N, Fouquet B, Fendri I, Pina M, Scheirlinckx F, Villeneuve P, Carriere F. 2011. *Carica papaya* Lipase: A Naturally Immobilized Enzyme with Interesting Biochemical Properties. *Plant Food Human Nutr.* **66**, 34–40.
- Abdelkafi S, Ogata H, Barouh N, Fouquet B, Lebrun R, Pina M, Scheirlinckx F, Villeneuve P, Carriere F. 2009. Identification and biochemical characterization of a GDSL-motif carboxylester hydrolase from *Carica papaya* latex. *BBA-Mol Cell Biol Lipids.* **1791**, 1048–1056.
- Bhardwaj K, Raju A, Rajasekharan R. 2001. Identification, purification, and characterization of a thermally stable lipase from rice bran. A new member of the (Phospho) lipase family. *Plant Physiol.* **127**, 1728–1738.
- Bordes F, Tarquis L, Nicaud JM, Marty A. 2011. Isolation of a thermostable variant of Lip2 lipase from *Yarrowia lipolytica* by directed evolution and deeper insight into the denaturation mechanisms involved. *J Biotechnol.* **156**, 117–124.
- Cambon E, Rodriguez JA, Pina M, Arondel V, Carriere F, Turon F, Ruales J, Villeneuve P. 2008. Characterization of type-, regio-, and stereo-selectivities of babaco latex lipase in aqueous and organic media. *Biotechnol Lett.* **30**, 769–774.
- Casas-Godoy L, Duquesne S, Bordes F, Sandoval G, Marty A. 2012. Lipases: an overview. in Sandoval G (Ed). *Methods in molecular biology, Lipases and phospholipases.* 547. Springerlink. pp. 3–30.
- Chen CC, Tsai SW, Villeneuve P. 2005. Enantioselective hydrolysis of (R,S)-naproxen 2,2,2-trifluoroethyl ester in water-saturated solvents via lipases from *Carica pentagona* Heilborn and *Carica papaya*. *J Mol Catal B-Enz.* **34**, 51–57.
- Dhouib R, Laroche-Traineau J, Shaha R, Lapailierie D, Solier E, Ruales J, Pina M, Villeneuve P, Carriere F, Bonneau M, Arondel V. 2011. Identification of a putative triacylglycerol lipase from papaya latex by functional proteomics. *Febs J.* **278**, 97–110.
- Dhuique-Mayer C, Caro Y, Pina M, Ruales J, Dornier M, Graille J. 2001. Biocatalytic properties of lipase in crude latex from babaco fruit (*Carica pentagona*). *Biotechnol Lett.* **23**, 1021–1024.

- Ejedegba BO, Onyeneke EC, Oviasogie PO. 2007. Characteristics of lipase isolated from coconut (*Cocos nucifera* linn) seed under different nutrient treatments. *Afr. J. Biotechnol.* **6**, 723–727.
- El Moussaoui A, Nijs M, Paul C, Wintjens R, Vincentelli J, Azarkan M, Looze Y. 2001. Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defense mechanism. *Cell Mol. Life Sci.* **58**, 556–570.
- Giordani R, Moulin A, Verger R. 1991. Tributylglycerol hydrolase activity in *Carica-papaya* and other laticifers. *Phytochemistry*. **30**, 1069–1072.
- Hasan F, Shah AA, Javed S, Hameed A. 2010. Enzymes used in detergents: Lipases. *Afr. J. Biotechnol.* **9**, 4836–4844.
- Lee KT, Foglia TA. 2000. Synthesis, purification, and characterization of structured lipids produced from chicken fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **77**, 1027–1034.
- Ng IS, Tsai SW. 2005. Partially purified *Carica papaya* lipase: a versatile biocatalyst for the hydrolytic resolution of (R,S)-2-arylpropionic thioesters in water-saturated organic solvents. *Biotechnol. Bioeng.* **91**, 106–113.
- Wei-Ning Niu, Zhao-Peng Li, Da-Wei Zhang, Ming-Rui Yu, Tian-Wei Tan Niu. 2006. Improved thermostability and the optimum temperature of *Rhizopus arrhizus* lipase by directed evolution. *J. Mol. Catal. B-Enz.* **43**, 33–39.
- Nieto S, Gutiérrez J, Sanhueza, Valenzuela A. 1999. Preparation of sn-2 long-chain polyunsaturated monoacylglycerols from fish oil by hydrolysis with a stereo-specific lipase from *Mucor miehei*. *Grasas Aceites* **50**, 111–113.
- Noma A, Borgstro B. 1971. Acid lipase of castor beans - positional specificity and reaction mechanism. *Biochim. Biophys. Acta.* **227**, 106–110.
- Pinyaphong P, Phutrakul S. 2009. Synthesis of Cocoa Butter Equivalent from Palm Oil by *Carica papaya* Lipase-Catalyzed Interesterification. *Chiang Mai J. Sci.* **36**, 359–368.
- Quintana PG, Sandoval G, Baldessari A. 2011. Lipase-catalyzed synthesis of medium- and long-chain diesters of 2-oxoglutaric acid. *Biocatal. Biotransf.* **29**, 186–191.
- Rivera I, Mateos-Diaz JC, Sandoval G. 2012. Plant Lipases: Partial Purification of *Carica papaya* Lipase. in Sandoval G (ed). *Methods in molecular biology. Lipases and phospholipases*. pp 547. 1940–6029. Springerlink. pp. 115–122.
- Rivera I, Mateos JC, Marty A, Sandoval G, Duquesne S. 2013. Lipase from *Carica papaya* latex presents high enantioselectivity towards the resolution of prodrug (R, S)-2-bromophenylacetic acid octyl ester. *Tetrahedron Lett.* In press.
- Silva LG, Garcia O, Lopes MTP, Salas CE. 1997. Changes in protein profile during coagulation of latex from *Carica papaya*. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **30**, 615–619.
- Singh AK, Mukhopadhyay M. 2012. Olive oil glycerolysis with the immobilized lipase *Candida antarctica* in a solvent free system. *Grasas Aceites* **63**, 202–208.
- Staubmann R, Ncube I, Gubitz GM, Steiner W, Read JS. 1999. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L-seeds. *J. Biotechnol.* **75**, 117–126.
- Tecelao C, Rivera I, Sandoval G, Ferreira-Dias S. 2012. *Carica papaya* latex: A low-cost biocatalyst for human milk fat substitutes production. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* **114**, 266–276.
- Tuter M. 1998. Castor bean lipase as a biocatalyst in the esterification of fatty acids to glycerol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 417–420.
- Wang YJ, Sheu JY, Wang FF, Shaw JF. 2012. Lipase-Catalyzed Oil Hydrolysis in the Absence of Added Emulsifier. *Biotechnol. Bioeng.* **31**, 628–633.
- Zheng Y-Y, Guo X-H, Song N-N, Li DC. 2011. Thermophilic lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Gene cloning, expression and characterization. *J. Mol. Catal. B: Enz.* **69**, 127–132.