

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE ACIDÓLISIS ENZIMÁTICA
EN DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO DE ACEITE DE
CANOLA (*Brassica napus* L.) CON CONCENTRADO DE
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA:
EFECTO SOBRE LA RELACIÓN $n-6/n-3$***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado
de Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e
Inocuidad de los Alimentos por:

JOSÉ MANUEL CEDANO ROMERO

Director de Tesis: Alicia Rodríguez Melis, IA, MSc
Nalda Romero Palacios, QF, MSc
Santiago Aubourg Martínez, Q, PhD

Santiago-CHILE

Junio 2015

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
TABLA DE CONTENIDOS.....	v
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Lípidos.....	3
2.2 EPA y DHA.....	4
2.3 Concentrados de AGPI.....	7
2.4 Triacilglicéridos estructurados.....	7
2.5 Biocatalizadores.....	8
2.6 Fluidos supercríticos (SCF).....	11
2.7 Aceite de canola.....	12
2.8 Importancia de la relación ácido graso <i>n-6/n-3</i>	15
2.9 Metodología de superficie respuesta (MSR).....	16
2.10 Nutracéuticos, alimentos funcionales y suplementos dietéticos.....	16
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	18

3.1 HIPÓTESIS.....	18
3.2 OBJETIVO GENERAL.....	19
3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
CAPÍTULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
4.1 MATERIALES.....	20
4.2 METODOLOGÍA.....	21
4.2.1 Caracterización mediante análisis físico-químicos del aceite crudo de salmón comercial y el aceite de canola (<i>Brassica napus</i> L.).....	21
4.2.2 Obtención de un concentrado ácido graso poliinsaturado de cadena larga (AGPICL), a partir de aceite crudo de salmón.....	21
4.2.2.1 Preparación de ácidos grasos libres mediante hidrólisis básica.....	21
4.2.2.2 Concentración de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga por inclusión en cristales de urea.....	22
4.2.2.3 Caracterización de los perfiles de ácidos grasos.....	22
4.2.3 Determinación del efecto de las variables del proceso de acidólisis enzimática sobre la relación de ácidos grasos <i>n-6/n-3</i> en los triacilglicéridos estructurados purificados, utilizando lipasa B inespecífica de <i>Candida antarctica</i> inmovilizada bajo dióxido de carbono supercrítico (SCCO ₂).....	23
4.2.3.1 Diseño experimental.....	23
4.2.3.2 Acidólisis enzimática en CO ₂ supercrítico.....	24
4.2.3.3 Purificación de los triacilglicéridos estructurados.....	25
4.2.3.4 Análisis de los productos de la reacción.....	25
4.2.3.5 Caracterización de los perfiles de ácidos grasos.....	25

4.2.4 Obtención de modelos matemáticos a partir de la metodología de superficie de respuesta que permitan predecir el efecto de las variables de proceso sobre la relación de AG $n-6/n-3$ de los TAGs purificados.....	26
4.2.5 Caracterización de los perfiles de ácidos grasos de los triacilglicéridos estructurados óptimos y la relación de AG $n-6/n-3$	26
4.2.5.1 Purificación de los triacilglicéridos estructurados y análisis de los productos de la reacción.....	26
4.2.5.2 Composición de ácidos grasos.....	26
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1 Caracterización mediante análisis físico-químicos del aceite crudo de salmón comercial y el aceite de canola (<i>Brassica napus</i> L.).....	27
5.2 Obtención de un concentrado ácido graso poliinsaturado de cadena larga (AGPICL), a partir de aceite crudo de salmón.....	29
5.3 Determinación del efecto de las variables del proceso de acidólisis enzimática sobre la relación de ácidos grasos $n-6/n-3$, utilizando lipasa B inespecífica de <i>Candida antarctica</i> inmovilizada bajo SCCO ₂	34
5.4 Obtención de modelos matemáticos a partir de la metodología de superficie de respuesta que permitan predecir el efecto de las variables y minimizar la relación de ácidos grasos $n-6/n-3$ de los TAGs purificados.....	43
5.5 Caracterización de los perfiles de ácidos grasos de los triacilglicéridos estructurados óptimos y la relación de AG $n-6/n-3$	47
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	54
CAPÍTULO VII: BIBLIOGRAFÍA	56
ANEXOS	63

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Productos existentes en mercado.....	63
ANEXO 2. Rendimientos de los TAGs purificados para los ensayos de la acidólisis enzimática en dióxido de carbono supercrítico de aceite de canola y del concentrado AGPICL.....	67
ANEXO 3. Composición de ácidos grasos (AG) y grupos de ácidos grasos de los 30 ensayos (expresados en g/100 g AGT).....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones catalizadas por lipasas (Hayes, 2004).....	9
Figura 2. Cromatogramas de los ésteres metílicos de ácidos grasos, correspondientes a aceite de canola (<i>Brassica napus</i> L.) (A), aceite crudo de salmón (B) y concentrado de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) (C).....	34
Figura 3. Análisis de Cromatografía en Capa Fina de aceite de canola y de concentrado AGPICL, considerados ambos antes del proceso de acidólisis enzimática, muestras sin purificar (SP) y purificadas (P) después del proceso de acidólisis enzimática: (A) muestras 1 a la 5, (B) muestras 6 a la 10, (C) muestras 11 a la 15 (D) muestras 16 a la 20, (E) muestras 21 a la 25, (F) muestras 26 a la 30. Fase móvil empleada: cloroformo/acetona/metanol (95:4,5:0,5, v/v/v).....	37
Figura 4. Gráficos de Pareto y el efecto estandarizado lineal, cuadrático y de la interacción de las variables respuestas (A) Total AG <i>n</i> -6 y (B) Total AG <i>n</i> -3.....	39
Figura 5. Superficies de respuesta para los principales efectos en el contenido total de AG <i>n</i> -6 (g/100 g AGT) (A) y en el contenido total de AG <i>n</i> -3 (g/100 g AGT) en el proceso de acidólisis enzimática (B).....	40
Figura 6. Combinación de niveles de factores que maximizan la función deseabilidad al minimizar el contenido AG <i>n</i> -6 y maximizar el contenido de AG <i>n</i> -3: (A) superficie de respuesta estimada; (B) superficie de contorno de respuesta estimada.....	42
Figura 7. Análisis de Cromatografía en Capa Fina (TLC Silica gel 60 – Merck Millipore) del aceite de canola, del concentrado AGPI y del triacilglicérido estructurado óptimo, sin purificar (SP) y purificado (P) después del proceso de acidólisis enzimática. Fase móvil empleada: cloroformo/acetona/metanol (95:4,5:0,5 v/v/v)...	48
Figura 8. Cromatogramas de los ésteres metílicos de ácidos grasos, correspondientes a aceite de canola (<i>Brassica napus</i> L.) (A), al concentrado AGPCL (B) y al TAGs óptimo (C).....	51

