

Transesterificación enzimática de la oleína de palma para la producción de grasas especiales en un reactor tipo *batch*

Enzymatic Transesterification of Palm Olein for the Production of Special Fats in a *Batch* Type Reactor

Luz M. Arango¹
Nelson Moreno
Carlos Pareja
Fernando Martínez
Aidé Perea

Resumen

La oleína de palma presenta una composición en triacilglicéridos, la cual puede modificarse por una reacción de transesterificación enzimática para producir grasas especiales con diversas aplicaciones en la industria de alimentos, entre las que se destacan los equivalentes de la manteca de cacao, grasas para heladería y grasas para la elaboración de margarinas. En el presente trabajo se evaluó esta reacción, en un sistema tipo *batch*, el cual contenía la oleína y una grasa rica en triacilglicéridos saturados, utilizando como biocatalizador la lipasa Lipozyme® IM de *Rhizomucor miehei*. Las variables evaluadas bajo la metodología de superficie de respuesta (MSR) fueron: relación de sustratos, cantidad de enzima y tiempo de reacción. Como variable dependiente se evaluó el incremento de los triacilglicéridos POS (1-palmitoil-2-oleoil-3-estearoil-glicerol) y SOS (1,3-diestearoil-2-oleoil-glicerol) en el producto final. El producto interesterificado fue sometido a un proceso de fraccionamiento, del cual se obtuvieron tres grasas con características físicas y químicas diferentes para ser empleadas en la preparación de productos de alto consumo como son las grasas para cobertura. Las técnicas de cromatografía de gases y resonancia magnética nuclear fueron empleadas para monitorear la composición en triacilglicéridos y el contenido de grasa sólida presente en el producto interesterificado y en las fracciones, respectivamente.

Summary

Palm olein offers a composition in triacylglycerides which can be modified by an enzymatic transesterification reaction to produce special fats with different applications in the food industry, among which the equivalents of cocoa butter, fats for ice cream products and fats for the manufacture of margarines are outstanding. This reaction was evaluated in this report, in a batch type system which contained the olein and a fat which was rich in saturated triacylglycerides, using the *Rhizomucor miehei* IM Lipozyme® lipase as biocatalyzer. The variables evaluated under the surface response methodology (SRM) were: substrates ratio, amount of enzyme and reaction time. As a dependent variable,

Palabras Clave

Oleína de palma,
Transesterificación,
Fraccionamiento.

1. Investigadores, Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA), Universidad Industrial de Santander, Sede Guatiguará Km. 2 vía el Refugio Piedecuesta, Colombia. Fax 57(7) 6541212. E-mail: luz_arango@hotmail.com

Nota: Este artículo se publica "sin editar", la responsabilidad de los textos es de los autores.

the increase of the POS triacylglycerides (1-palmitoil-2-oleoil-3-stearoil-glycerol) and SOS (1,3-distearoil-2-oleoil-glycerol) was evaluated in the final product. The interesterified product was subjected to a fractionation process, from which three fats were obtained with different physical and chemical characteristics, to be employed in the preparation of high consumption products, such as covering fats. Gas chromatography techniques and nuclear magnetic resonance were employed in order to monitor the composition of triacylglycerides and the content of solid fat present in the interesterified product and in the fractions, respectively.

Introducción

Actualmente el negocio de los aceites y las grasas es cada día más competido, por lo que se hace necesario generar paralelamente conocimiento y desarrollo tecnológico que permita a los industriales explorar otras alternativas de uso para el aceite de palma y sus fracciones (oleína y estearina) diferentes a las tradicionales, con lo cual se lograrían mejores oportunidades tanto en los mercados nacionales como internacionales. Entre las alternativas se encuentra la producción de grasas especiales, que además de tener un buen desempeño, pueden presentar un alto valor nutricional generando así productos de mayor valor agregado. Dentro de este grupo se pueden mencionar las grasas que se emplean para la elaboración de margarinas y *shortenings*, las grasas para helados y los equivalentes de la manteca de cacao, estos últimos se utilizan para la elaboración de productos de chocolatería con o sin relleno.

El aceite de palma y sus fracciones están constituidos principalmente por los triacilglicéridos 1,3-palmitoil-2-oleil-glicerol (POP), 1-palmitoil-2,3-oleil-glicerol (POO), 1-palmitoil-2-oleil-3linoleil-glicerol (POL) y tripalmitina (PPP). Esta composición química permite a estos aceites ser más estables frente a procesos oxidativos. Además mediante el uso de tecnologías limpias como la interesterificación catalizada con enzimas lipasas, se puede modificar con el fin de obtener productos con características físicas y químicas apropiadas para diversas aplicaciones industriales.

La interesterificación enzimática implica la redistribución de los ácidos grasos en las moléculas de triacilglicéridos de las grasas, este reacomodamiento sólo altera las propiedades físicas de los aceites o grasas iniciales y por tanto puede inducir a la formación de nuevos productos. Su aplicación más importante es la

producción de equivalentes de la manteca de cacao (CBE) (Bloomer, 1990; Chong, 1992; Kawahara, 1993; Shukla, 1997). La interesterificación también se usa para el enriquecimiento de grasas vegetales con ácidos grasos poliinsaturados presentes en aceites de origen vegetal y en animales marinos, principalmente para la preparación de grasas sustitutas de la leche materna (Rousseau, 1998).

Desde el punto de vista del proceso, la interesterificación enzimática ofrece numerosas ventajas sobre la interesterificación química, en primer lugar, porque las condiciones de reacción son más suaves (bajas temperaturas) representando un ahorro de energía y mejora en la calidad de los productos. En segundo lugar, la regioselectividad de las lipasas constituye una ventaja importante comparada con los métodos químicos que actúan al azar (Koskinen y Klibanov, 1992).

En el presente estudio se evaluó la síntesis enzimática para obtener grasas especiales que puedan ser utilizadas en la industria de alimentos, empleando sustratos comerciales y como catalizador la lipasa 1,3-específica del *Rhizomucor miehei* (Lipozyme® RM IM).

Materiales y métodos

Materiales

La oleína refinada de palma (OP) y el hidrogenado total de palma (HTP) fueron suministrados por la Comercializadora Internacional Santandereana de Aceites S.A. Los patrones de triacilglicérols (PPP, POP, POS, SOS, SSS) y las mezclas estándar de metil ésteres de ácidos grasos grado analítico fueron obtenidos de Sigma y Supelco. Otros reactivos utilizados fueron grado analítico. La enzima comercial lipasa inmovilizada 1,3-específica de *Rhizomucor miehei* fue suministrada por Novo Nordisk.

Metodología

La reacción de interesterificación enzimática se realizó en un reactor tipo *batch* con capacidad de 2 y 35 litros y con agitación mecánica, el cual contenía la mezcla de OP y HTP, la lipasa y el agua. Una vez finalizada la reacción, la enzima fue retirada y el sobrenadante neutralizado y transferido a un embudo de separación para extraer con hexano los acilglicéridos. En la capa acuosa se determinó el contenido de ácidos grasos libres (Arango, 2001).

Para determinar las mejores condiciones de reacción (mayor formación de los triacilglicéridos POS y SOS) se diseñó un grupo de experimentos que fueron analizados empleando la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) (Moreno, 2001). Las variables independientes evaluadas fueron: relación de sustratos: OP/HTP (X_1 , p/p), cantidad de enzima (X_2 , porcentaje) y cantidad de agua en el medio de reacción (X_3 , p/v). En todos los casos la temperatura, el tiempo de reacción y la velocidad de agitación se mantuvieron constantes. Las respuestas o variables dependientes evaluadas fueron: mayor formación de los triacilglicéridos POS y SOS en el producto final, porcentaje de acidez y la relación entre estas dos respuestas (OPOS+SOS/%Acidez).

Los resultados obtenidos fueron analizados empleando un Sistema de Análisis Estadístico, Statistica, siguiendo los parámetros de análisis por regresión múltiple, análisis de varianza (Anova) y análisis canónico descrito por Namal (1999).

El producto interesterificado fue sometido a un proceso de fraccionamiento en seco a altas presiones (6,0 bar), previa cristalización

controlada de la grasa fundida. Las fracciones obtenidas fueron caracterizadas en cuanto a composición de TAG determinada por cromatografía de gases (Arango, 2003) y contenido de grasa sólida determinada siguiendo la Norma Técnica Colombiana 4078 (1996).

Adicionalmente se evaluó el seguimiento de la reacción tomando muestras cada 30 minutos durante las dos primeras horas, y cada hora hasta completar nueve horas. En las muestras obtenidas se determinó la variación de la composición de TAG.

Resultados y discusión

Para el análisis de los datos se consideró el efecto de las variables evaluadas sobre el índice de acidez (respuesta 1) y sobre la formación de POS y SOS (respuesta 2). Los resultados obtenidos mostraron que la cantidad de enzima, seguida por la interacción entre la relación de sustratos y la cantidad de agua, tuvieron un efecto significativo sobre el índice de acidez (Figura 1A). Esto sugiere que la reacción de transesterificación debe trabajarse con bajas cantidades de enzima, de tal forma que la acidez del producto interesterificado sea mínima, con el fin de disminuir costos en el proceso de purificación o desodorización.

El análisis estadístico para la respuesta 2, mostró que la cantidad de enzima, seguida por el cuadrado de esta variable y la relación de sustrato, presentaron un fuerte efecto sobre la formación de los TAG POS y SOS, por el contrario la cantidad de agua no influyó significativamente sobre dicha respuesta (Figura 1B). Este análisis sugiere que para alcanzar valores altos en la

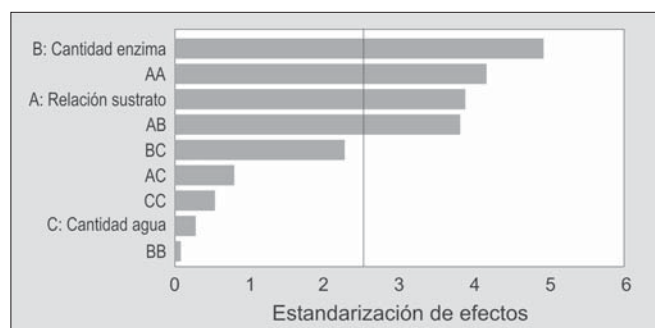
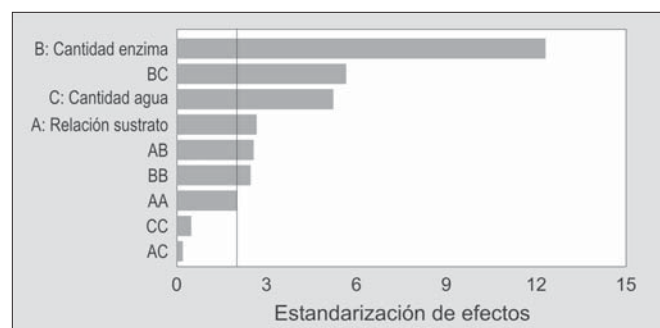


Figura 1 Diagrama estandarizado de Pareto que refleja el efecto de las variables evaluadas sobre: (A) el índice de acidez en el producto interesterificado (RTAI) y (B) sobre la cantidad de POS y SOS formado en el producto interesterificado (RTA 2)

respuesta 2, se debe trabajar la reacción con una alta cantidad de enzima.

Dado que los resultados del análisis estadístico para la respuesta 1 y respuesta 2 son contradictorios, se decidió relacionar estas dos respuestas con el fin de encontrar unas condiciones de reacción favorables que permitieran obtener un producto con porcentajes altos de POS y SOS, pero con una baja acidez. El análisis estadístico para la respuesta 3 (Figura 2), mostró que efectivamente la cantidad de enzima juega un papel importante para lograr resultados en los que se obtengan altos porcentajes de POS y SOS y niveles mínimos de acidez. Le siguen en orden de significación la variable cantidad de agua y la interacción entre la cantidad de enzima y la cantidad de agua, es decir, que debe haber un compromiso entre una baja cantidad de enzima y un bajo nivel de agua en el medio de reacción, o viceversa.

El índice de acidez en los puntos del diseño varió entre 4 y 15%, factor que es necesario tener en cuenta debido a que valores altos repercuten sobre el rendimiento del proceso. Los valores de los TAG POS y SOS estuvieron entre 15 y 21%, observándose un incremento significativo comparado con el porcentaje presente inicialmente en la oleína de palma (5,1%).

A partir de los resultados del diseño, se seleccionaron las condiciones de trabajo en las cuales se alcanzaron los niveles más bajos de acidez (4,1%) y la mayor concentración de POS y SOS (15%). Estas condiciones, relación de sustrato 1,0:0,50, enzima al 2,0% y agua 5 % p/v, fueron aplicadas al proceso de escalado y en el seguimiento de la reacción. En este último caso, se observó que la concentración de POP y de POO disminuye mientras que la de POS y el SOS aumenta (Figura 3), siendo mayor la velocidad de formación del POS. El incremento de SOS es bajo (máximo 3,9%), convirtiéndose en una limitante para obtener equivalentes de la manteca de cacao.

El producto obtenido del proceso de escalado se sometió a un proceso de neutralización y posterior fraccionamiento en seco, obteniéndose dos fracciones con propiedades físicas y químicas diferentes. En la Tabla 1, se presenta la composición de los triacilglicéridos. En la fracción uno (F1) de consistencia semilíquida, los TAG

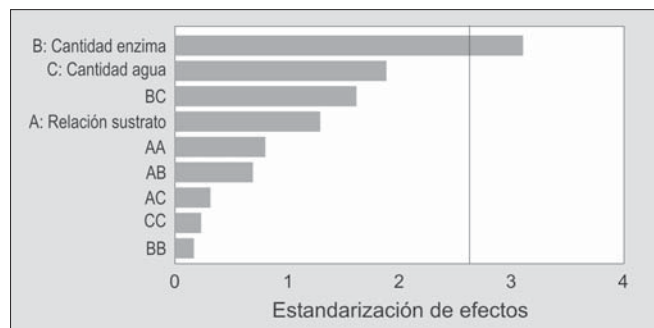


Figura 2 Diagrama estandarizado de Pareto que refleja el efecto de las variables evaluadas sobre la eficiencia de la reacción respuesta 3 (respuesta 2/respuesta 1)

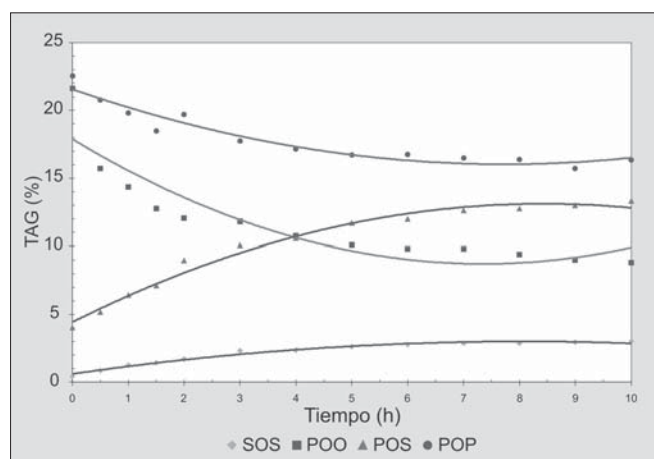


Figura 3 Variación de los TAG durante la cinética de la reacción de transesterificación

Tabla 1 Composición (%) en triacilglicéridos del producto interesterificado sin fraccionar y el de sus fracciones

TAG	Composición (%) ^a			
	OP+HTP sin reaccionar	P ₁ ^b	F1	F2
DAG ^c	0,8	7,3	6,5	4,5
PPP	3,6	4,8	4,0	8,7
PPS	8,5	9,0	3,9	15,8
POP	22,5	17,9	26,4	15,1
POS	4,0	12,1	12,9	7,7
POO	21,6	13,2	17,8	9,5
SSS	5,9	2,7	0,7	6,1
SOS	0,4	3,0	2,8	2,3

a. Los datos están expresados como porcentaje en áreas (A pico/A total)
b. Producto interesterificado sin fraccionar
c. DAG: diacilglicéridos

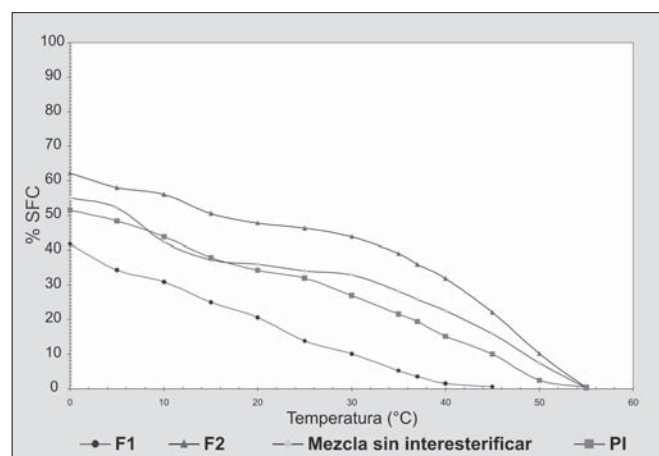
Tabla 2

Temperatura de fusión (°C) y rango plástico de la mezcla sin interesterificar, producto interesterificado y fracciones F1 y F2

Productos	Temperatura a		Rango de temperatura (°C) ^a	T _f (°C) ^b
	15 % SFC	35 % SFC		
Mezcla sin interesterificar	44,6	22,0	22,6	50,8
P.I	48,0	18,2	29,8	48,0
F1	24,0	4,1	19,9	34,5
F2	48,0	36,8	11,2	52,2

a. Rango de temperatura: diferencia entre la temperatura a 15%SFC y 35%SFC, que define el rango plástico de temperatura en la cual una grasa es plástica.

b. T_f: define el punto de fusión como la temperatura por encima de la cual el SFC es menor o igual al 5,0%.

**Figura 4**

Contenido de grasa sólida (SFC) presente en la mezcla sin interesterificar, producto interesterificado (PI) y fracciones F1 y F2

más abundantes fueron POP, POS y POO, que corresponden al 57%. Igualmente se observa, que la suma de los TAG POS y SOS se mantiene constante con respecto a la obtenida en el producto interesterificado, siendo mayor que la de la mezcla sin interesterificar (4,4%).

La fracción dos (F2), además de los TAG POP, POS y POO, contiene cantidades apreciables de otros TAG saturados como PPP, PPS y SSS que le imparten al producto una consistencia sólida a temperatura ambiente (Tabla 1). Dada su composición química se puede decir que esta fracción presentó una composición en TAG similar a la de un hidrogenado de palma, por lo

que podría aprovecharse como sustrato para otras reacciones de transesterificación.

En la Figura 4 se presentan las curvas del contenido de grasa sólida (SFC) para la mezcla sin interesterificar, producto interesterificado y fracciones F1 y F2. En todos los casos las curvas de SFC exhibieron un comportamiento diferente, lo que hace que cada una de las grasas obtenidas presenten aplicaciones variadas. Por ejemplo, el producto interesterificado sin fraccionar (P.I) presentó un rango plástico extenso (Tabla 2), el cual permite prever que esta grasa pueda ser empleada para productos de panadería, pero debido a su alto punto de fusión (48%) requiere que se mezcle en pequeñas proporciones con aceites líquidos, con el fin de disminuir el contenido de sólidos grasos y evitar así una sensación grasosa al gusto.

En cuanto a la fracción uno (F1), se observa que presenta un buen rango plástico no tan extenso como el del P.I, pero sí adecuado, lo cual sumado a su temperatura de fusión, permiten su aplicación grasa en formulaciones para climas con un rango de temperatura entre 15-30°C.

Con respecto a la fracción dos (F2), la cual presentó el menor rango plástico (11,2) y la mayor temperatura de fusión (52 °C) se puede decir que esta grasa puede ser empleada como base grasa para diferentes aplicaciones industriales.

Conclusiones

La reacción de transesterificación enzimática permitió modificar la composición en triacilglicéridos de la mezcla oleína de palma e hidrogenado total de palma, obteniéndose un producto con características físicas y químicas diferentes a las de la mezcla inicial. Sin embargo, la formación de SOS es baja y limita su aplicación como equivalente de la manteca de cacao.

El fraccionamiento en seco permitió obtener dos grasas (F1 y F2) con propiedades físicas y químicas diferentes entre sí, diferentes a la del producto interesterificado sin fraccionar y a la de la mezcla inicial. La fracción uno (F1) por su rango plástico y temperatura de fusión puede ser empleada como margarina para la industria de panadería, reemplazando la utilización de grasas parcialmente hidrogenadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Colciencias, por la financiación del proyecto 1102-07-110115, a C.I Santandereana de Aceites S.A y a la Universidad Industrial de Santander – CICTA. 🌿

Bibliografía

- ARANGO, L. 2003. Tesis de Maestría. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- ARANGO, L. 2001. Tesis de Pregrado Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- BLOOMER, S.; ADLERCREUTZ, P.; MATTIASSON, B. 1990. J. Am. Oil Chem. Soc. 67 (8,) p.19-524.
- CHONG, C. N.; HOH, Y.M.; WANG, C.B. 1992. J. Am. Oil Chem. Soc. 69 (2), p.137-140.
- GHAZALI, H.M.; HAMIDAD, S.; CHE MAN, Y.B. 1995. J. Am. Oil Chem. Soc. 72 (6), p.633-639.
- KAWAHARA, Y. 1993. Food Technology, 4 (6), p.663-667.
- KAWAMURA, K. 1980. J. Am. Oil Chem. Soc, p.48-53.
- KLIVANOV, A.M.; KOSKINEN, A.M.P. 1996. Enzymatic Reactions in Organic Media. First edition. Blackie Academic & Professional. London, UK.
- NAMAL, S.; SHAHIDI, F. 1999. J. Agric. Food Chem. 47, p.3105-3112.
- NORMA TÉCNICA COLOMBIANA. 1996.
- ROUSSEAU, D.; MARANGONI, A. 1998. J. Agric. Food Chem. 46, p.2375-2381.
- SHUKLA, V.K.S. 1997. Chocolate - The Chemistry of Pleasure. Inform. 8 (2), p.152-162.