

SÍNTESIS DE TRIACILGLICÉRIDOS RICOS EN CLA MEDIANTE ESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA EN UN MEDIO LIBRE DE SOLVENTE

Aurora Huesca Toral, Arnoldo López-Hernández, Hugo S. García Galindo*. UNIDA, Instituto Tecnológico de Veracruz. Miguel Angel de Quevedo 2779. Fax: (229) 934-1469 Ext 201. *correo electrónico: hsgarcia@itver.edu.mx. Veracruz, Ver. Mexico.

Palabras clave: CLA, lipasa, poliesterificación.

Introducción. El término “ácido linoleico conjugado” (CLA, por sus siglas en inglés) se emplea para designar a una mezcla de isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico cuyas instauraciones se encuentran conjugadas y formando isómeros *cis* y/o *trans*. Siendo los isómeros *cis,9-trans,11* y *trans,10-cis,12* los más abundantes. En años recientes se han reportado numerosos efectos metabólicos benéficos atribuibles a dicha mezcla de isómeros. Diversos experimentos efectuados en modelos animales y humanos demuestran que el CLA posee actividad anticarcinogénica, antiaterogénica y tiene la capacidad de disminuir el contenido de grasa corporal ⁽¹⁾. Como resultado de dichas investigaciones se ha determinado que la dosis diaria sugerida para que dichos efectos puedan ser evidentes es de 3.5 gCLA/día para una persona de 70 Kg ⁽²⁾. Desafortunadamente el CLA solo se encuentra presente, de manera natural en ciertos alimentos (lácteos y algunos productos cárnicos), y en cantidades sumamente bajas. Una estrategia para proveer dosis adecuadas de CLA en la dieta es la elaboración de alimentos formulados con grasas enriquecidas con dichos isómeros. La tecnología enzimática es una alternativa que se puede emplear para incorporar con ácidos grasos específicos, como el CLA, a las grasas comestibles ⁽³⁾.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de factores como la temperatura, relación molar de sustratos y tipo de catalizador, sobre la producción de triacilglicéridos (TAGs) ricos en CLA generados mediante la reacción de poliesterificación enzimática.

Metodología. Se efectuaron reacciones de poliesterificación entre el glicerol anhidro (JT Baker) y un producto comercial denominado CLA One (Pharma Nutrients) cuyo contenido mínimo de CLA es de 70%, en un sistema por lotes con agitación constante. Con el objetivo de minimizar la presencia de agua en el medio y favorecer la esterificación de los ácidos grasos (AG) se adicionaron mallas moleculares a la mezcla de reacción. Las reacciones se efectuaron a cuatro temperaturas (40, 50, 60 y 70°C), y a dos relaciones molares de sustratos (3:1 y 4:1, AG:Glicerol). Las enzimas empleadas para la síntesis (en un 5% del peso total de los sustratos) fueron una lipasa comercial de *Candida antarctica* fracción B (Chyrazyme L-2, Boehringer) y otra de *Rhizomucor miehei* (IM-60, Novo Nordisk). La evolución de los productos de reacción (monoacilglicéridos, diacilglicéridos y triacilglicéridos) y la desaparición del ácido graso libre en el medio de reacción fue monitoreada mediante cromatografía de líquidos de alta

resolución ⁽⁴⁾. La diferencia entre los tratamientos se determinó por análisis de varianza, siendo los equivalentes de AG esterificados como TAGs en el equilibrio la variable de respuesta a comparar, la elección de los mejores tratamientos se efectuó aplicando una prueba de rango múltiple de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión. Los tratamientos que permitieron la mayor generación de TAGs fueron aquellos en los que se empleó AG en exceso (4:1) y las temperaturas de reacción más elevadas (60 y 70°C). En estos casos se obtuvieron resultados similares para ambas enzimas. Cuando se usó la relación estequiométrica (3:1), a una temperatura de 70°C y la lipasa de *Rhizomucor miehei* se logró un rendimiento de TAGs estadísticamente similar al obtenido en los casos anteriores (76% \pm 2.7 de los moles totales de ácido graso fueron esterificados para formar triacilglicéridos). Los resultados mostraron claramente que existe una relación lineal ascendente entre la producción de TAGs en el equilibrio y la temperatura de reacción para ambas lipasas.

Conclusiones. Fue posible generar una alta cantidad de triacilglicéridos ricos en CLA mediante la reacción enzimática aquí descrita. Puede decirse que en función de la cantidad inicial de ácido graso utilizada, el mejor tratamiento resultó ser la reacción a 70°C, usando la enzima IM-60 y la relación estequiométrica de sustratos. Los TAGs sintetizados podrían ser purificados mediante destilación molecular para su posterior inclusión en productos alimenticios. Los subproductos, monoacilglicéridos y diacilglicéridos, restantes pueden ser, a su vez, empleados como agentes emulsificantes.

Bibliografía.

- 1.) Arcos, J., Otero, C., Hill, Jr. C. G. (1998). Rapid enzymatic production of acylglycerols from conjugated linoleic acid and glycerol in a solvent-free system. *Biotechnology Letters*. 20 (6): 617-621.
- 2.) Ip, C., Lisk, D., Scimeca, J. (1994). Potential of food modification in cancer prevention. *Cancer Research* (Supp.) 54. 1957s-1959s.
- .) Garcia, H.S.; Arcos, J A.; Ward D.; Hill, Jr, C.G. (2001). Synthesis of glycerides containing n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid by solvent-free acidolysis of fish oil. *Biotechnology and Bioengineering* 70 (5): 587-591.
- 4.) Liu, J. (1993). Quantitative determination of monoglycerides and diglycerides by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 70 (4): 343-347.