



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**SÍNTESIS DE UN LÍPIDO ESTRUCTURADO CON ELEVADO CONTENIDO DE
ÁCIDOS GRASOS DE CADENA MEDIA A PARTIR DE ACEITE DE PALMA
AFRICANA (*Elaeis guineensis* Jacq.)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

MARISOL MENDOZA GARCÍA

ASESORES:

DRA. ANGÉLICA ALEJANDRA OCHOA FLORES

DRA. EDITH MIRANDA CRUZ

ASESOR EXTERNO

DR. JOSAFAT ALBERTO HERNÁNDEZ BECERRA

“Estudio en la duda. Acción en la fe”

Villahermosa, Tabasco. Diciembre del 2016



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS

Asunto: Autorización de Impresión de
Trabajo Recepcional bajo la
Modalidad de: Tesis.

Fecha: 9 de diciembre de 2016

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON,
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E.

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo a usted, con base al artículo 86 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** al (la) **C. Marisol Mendoza García**, con **matrícula 112C14001**, egresado(a) de la licenciatura de **Ingeniería en Alimentos**, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, Titulado: **"Síntesis de un lípido estructurado con elevado contenido de ácidos grasos de cadena media a partir de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq)"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DR. ROBERTO FLORES BELLO
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno.
Archivo
DR. RFB/MC.MBC

Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA RED DE CALIDAD PARA LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km 25 de la carr. fed. 195, tramo Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 3581500-Ext. 6614
Correo electrónico: terminalesdaca@gmail.com

www.ujat.mx
www.facebook.com/uiat.mx | www.twitter.com/uiat | www.youtube.com/UJATmx

CARTA DE AUTORIZACION

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el trabajo recepcional de tesis titulado: SÍNTESIS DE UN LÍPIDO ESTRUCTURADO CON ELEVADO CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA MEDIA A PARTIR DE ACEITE DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis* Jacq). De la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación y la institución.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México a los 9 días del mes de Diciembre de 2016.

ATENTAMENTE



Pas. I.A. MARISOL MENDOZA GARCIA

DEDICATORIAS

A dios por permitirme vivir y poder terminar mi carrera.

A mis padres y amigos que me motivaron y apoyaron en todo momento.

A mi abuela y tía que son como mis segundas madres, gracias por sus consejos, regaños y su apoyo incondicional. Y por su ayuda en mis tareas de mamá.

A mi herma y prima por ayudarme en todo lo que pudieron y soportarme durante el desarrollo de este trabajo.

A mi esposo, amigo y cómplice gracias por su ayuda y paciencia que me tuvo durante el desarrollo de mi tesis.

Y para el mayor motivo que tengo todos los días para levantarme y seguir adelante, mi hija Ximena a quien amo incondicionalmente.

No fue una combinación fácil el ser mama, esposa y estudiante, pero gracias al apoyo de mi familia, amigos y maestros, pude realizar mi trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por haberme aceptado ser parte de ella y poder estudiar mi carrera.

A los doctores Josafat y Angélica por el apoyo, la paciencia y la confianza que tuvieron en mi durante el desarrollo de la Tesis.

A la doctora Edith por la paciencia, orientación y motivación que siempre me dio.

A todos mis maestros de la carrera de Ingeniería en Alimentos por todos los conocimientos que me transmitieron durante la carrera, sin ellos no hubiese podido llegar hasta el día de hoy.

A mis compañeros y amigos de la carrera, gracias por su amistad y compañerismo que tuvimos durante la carrera, en especial a mis amigas Sara y Grecia.

RESUMEN

Actualmente ha crecido el interés por el cuidado de la alimentación y su relación con el estado de salud; esto ha llevado a la comprensión de las propiedades nutricionales, pero sobre todo funcionales, de los lípidos, en especial su efecto metabólico asociado al consumo de triglicéridos que contienen ácidos grasos específicos y que ayudan a la prevención de enfermedades. El consumo de aceite de palma esta al alza, por su contenido de ácidos grasos, pero además por sus elevados niveles de antioxidantes. La modificación enzimática de este aceite con la incorporación de ácidos grasos de cadena media le otorga propiedades superiores a las de un aceite sin modificar, como el potenciar sus propiedades funcionales. Por todo lo anterior, en el presente trabajo se sintetizaron lípidos estructurados con alto contenido de ácidos grasos de cadena media a partir de aceite de palma a través de una reacción enzimática de acidólisis, comparando la efectividad de las enzimas lipasas Lipozyme TL IM de *Thermomyces lanuginosa*, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* y Novozym 435 de *Candida antarctica* para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite, obteniéndose que de las tres enzimas lipasas evaluadas, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* demostró ser más efectiva para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma, lográndose con ésta una incorporación del 59.10 % molar de ácidos grasos de cadena media, a las 24 horas de reacción, utilizando como condiciones de reacción una relación molar de sustratos de 1:10, 10 % de enzima y una temperatura de 50 °C. Con estas condiciones, se obtuvo un lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media con potenciales beneficios nutracéuticos constituido principalmente por los ácidos caprílico C8:0 (41.64 %), cáprico C10:0 (16.61 %), palmítico C16:0 (13.45 %), oleico C18:1 (19.44 %) y linoleico C18:2 (5.78 %); además de pequeñas proporciones de los ácidos caproico C6:0 (0.61 %), láurico C12:0 (0.24 %), mirístico C14:0 (0.69 %), palmitoleico C16:1 (0.28 %), esteárico C18:0 (1.17 %), linolénico C18:2 (0.05 %) y araquídico C20:0 (0.03 %).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
1. Alimentos funcionales y nutraceuticos	3
2. Lípidos	6
2.1. Triglicéridos	7
2.2. Triglicéridos de cadena media	8
3. Lípidos funcionales	8
3.1. Ácidos grasos de cadena media	9
4. Palma de aceite	12
4.1. Aceite de palma	15
4.2. Oleína y estearina de palma	17
5. Lípidos estructurados	18
5.1. Transesterificación	18
5.2. Acidólisis	19
HIPÓTESIS	22
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22

METODOLOGÍA	23
1. Materiales	23
2. Métodos	23
2.1. Obtención de la mezcla de ácidos grasos de cadena media	23
2.2. Determinación del porcentaje de ácidos grasos libres	24
2.3. Obtención de la fracción de oleína de palma a partir del aceite de palma crudo	24
2.4. Determinación por cromatografía de gases de la composición en ácidos grasos (mol %)	24
2.5. Síntesis del lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media	25
2.6. Determinación de la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma por cromatografía de gases	25
2.7. Separación de los lípidos estructurados en fase sólida	26
3. Diseño experimental y análisis estadístico	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
1. Obtención de los ácidos grasos de cadena media	28
2. Obtención de la fracción de oleína de palma a partir del aceite de palma crudo	29
3. Síntesis de lípidos estructurados ricos en ácidos grasos de cadena media	31

4. Efectividad de las enzimas lipasas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435 para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma	33
5. Separación de los lípidos estructurados en fase sólida	35
6. Lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media	37
CONCLUSIONES	38
BIBLIOGRAFÍA	39

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Compuestos biológicamente activos	4
Cuadro 2. Clasificación de lípidos	6
Cuadro 3. Principales lípidos funcionales	9
Cuadro 4. Principales aplicaciones y mecanismo de acción de los ácidos grasos de cadena media	11
Cuadro 5. Condiciones para la producción y desarrollo de la Palma Africana	13
Cuadro 6. Superficie de los principales cultivos de oleaginosas en México	14
Cuadro 7. Producción de Palma Africana en el estado de Tabasco	15

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura1. Producción de Palma Africana, 2006 – 2010 (millones de toneladas).	14
Figura 2. Esquema general de la reacción de transesterificación catalizada por lipasas <i>sn</i> -1,3 específicas (<i>Rhizomucor miehei</i> (RML) o <i>Thermomyces lanuginosa</i> (TL)) para producir lípidos estructurados.	19
Figura 3. Esquema general de la reacción de Acidólisis catalizada por lipasas de <i>Rhizomucor miehei</i> (RML) para producir lípidos estructurados.	20
Figura 4. Esquema general de las dos etapas, hidrólisis y esterificación, en la reacción de Acidólisis para producir lípidos estructurados.	21
Figura 5. Cromatograma obtenido para la mezcla de ácidos grasos de cadena media	29
Figura 6. Cromatograma obtenido para la fracción de oleína de palma	30
Figura 7. Cinéticas de incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma obtenidas con las enzimas lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435. Las condiciones de reacción fueron: temperatura de 50 °C, concentración de enzima de 10 % y relación molar de sustratos (oleína de palma:ácidos grasos de cadena media) 1:10.	32

- Figura 8. Cromatograma obtenido para la reacción de incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma por la enzima Lipozyme RM IM, a las 24 horas de reacción. Las condiciones de reacción fueron: temperatura de 50 °C, concentración de enzima de 10 % y relación molar de sustratos (oleína de palma: ácidos grasos de cadena media) 1:10. 33
- Figura 9. Resultados obtenidos del análisis estadístico para la incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma por las enzimas lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435. 34
- Figura 10. Capa fina revelada con ácido sulfúrico en etanol de la mezcla de reacción y de las fracciones obtenidas a partir de su separación en fase sólida en columna empacada con silica gel, utilizando un gradiente escalonado de éter dietílico en hexano. 36
- Figura 11. Composición en ácidos grasos del lípido estructurado obtenido por transesterificación enzimática del aceite de palma con ácidos grasos de cadena media, a través de una reacción de acidólisis. 37

INTRODUCCIÓN

Actualmente se ha despertado el interés por una adecuada alimentación para el mantenimiento de la salud. Existe una estrecha relación entre el consumo de lípidos y la prevalencia de enfermedades cardiovasculares, lo anterior ha sido relacionado por mucho tiempo con su cantidad, pero más recientemente se ha enfocado en su calidad. No obstante, los lípidos, junto con las proteínas y los carbohidratos son macronutrientes necesarios para la nutrición humana, son necesarios para la formación de membranas y estructuras celulares, además nos proveen de ácidos grasos esenciales, entre muchas otras funciones.

Un buen número de investigaciones se han enfocado en el uso potencial de triglicéridos que contienen niveles sustanciales de ácidos grasos específicos, conocidos como lípidos funcionales o nutracéuticos; aceites o grasas que tienen efectos positivos en la salud de niños y adultos, debido a que contienen compuestos biológicamente activos que aportan beneficios a la salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades; sustancias lipídicas orgánicas naturales que son o forman parte de un alimento o se adicionan a éste.

Algunos estudios confirman el potencial de los ácidos grasos de cadena media para reducir el peso corporal y particularmente la grasa corporal; reducir la secreción de lipoproteínas y atenuar la respuesta postprandial a los triglicéridos y colesterol; además de reducir más rápida y eficientemente los niveles séricos de triglicéridos, glucosa e insulina que los ácidos grasos mono o poliinsaturados. Reducen el daño intestinal, al regular la respuesta inmune y aumentar la secreción de lipopolisacáridos protectores de la mucosa, así como la hepatotoxicidad inducida por el consumo de alcohol.

Por otro lado, una de las oleaginosas más importantes en cuanto a la producción de aceite se refiere es la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.); del total de aceites vegetales que se comercializan y consumen en el mundo, el aceite de palma ocupa el primer lugar (32.8 %), seguido por los de soya, canola y girasol. Además, su rendimiento es hasta 10 veces superior al que proporcionan otros cultivos; su aceite es de fácil digestión, asimilación y aprovechamiento, fuente de

energía y de micronutrientes como la vitamina E, de la que el aceite de palma es potencialmente la mayor fuente natural (600-1000 ppm).

Los antioxidantes del aceite de palma han sido reportados como mediadores en la disminución de la tendencia trombótica aterosclerótica, al reducir la síntesis de tromboxano A₂, un agregador de plaquetas. Además, ha sido reportada su actividad antitumoral en animales de experimentación y su inhibición en el crecimiento de células de cáncer de mama humanas. También han sido reportados como promotores del crecimiento óseo y de la reducción del colesterol plasmático.

El aceite de palma es utilizado cada vez más en la síntesis de lípidos estructurados, lípidos que han sido modificados, química o enzimáticamente, para cambiar su composición natural o la posición en que sus ácidos grasos se unen al esqueleto de glicerol para lograr un cambio nutricional, físico o químico deseado, lo que les proporciona nuevas propiedades funcionales. Las ventajas de la transesterificación enzimática incluyen su especificidad, el uso de condiciones suaves de reacción, disminución en el uso de solventes, facilidad de purificación y recuperación de los productos finales. Además, el uso de lipasas sn-1,3-regioespecíficas, permite la modificación de los ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de los triacilglicéridos, al mismo tiempo que permite la retención de los ácidos grasos esenciales localizados generalmente en la posición 2.

Por todo lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo el obtener un lípido estructurado con un elevado contenido de ácidos grasos de cadena media a partir de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis* Jaq.), a través de una reacción enzimática de acidólisis, utilizando las enzimas lipasas Lipozyme TL IM de *Thermomyces lanuginosa*, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* y Novozym 435 de *Candida antarctica*.

MARCO TEÓRICO

1. Alimentos funcionales y nutraceuticos

Cada día aumenta el número de consumidores interesados en conocer la composición de los alimentos que ingieren, así como el efecto de su dieta en su salud, bienestar y posible prevención de enfermedades (Hailu *et al.*, 2009). Surge así el concepto de "Alimentos funcionales", aquellos que actúan beneficiosamente sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su aspecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad (Hasler y Brown, 2009). El concepto tiene su origen en el Japón, en los años 80, cuando el Ministerio de Salud y Asistencia Social da inicio a un sistema de regulación para los alimentos cuyos beneficios a la salud estuvieran documentados, a fin de garantizar una mejor calidad de vida para la población de edad avanzada, reduciendo el riesgo de contraer enfermedades (Siró *et al.*, 2008).

El concepto de nutraceutico, muchas veces relacionado con el de alimentos funcionales, fue definido en 1989 por el doctor Stephen L. De Felice como una sustancia que es o forma parte de un alimento y que aporta beneficios médicos o de salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades (Birute-Guzmán *et al.*, 2009). Sin embargo, esta definición ha evolucionado para distinguir entre un alimento y un componente aislado de uno de éstos. En 1999 un nutraceutico se definió entonces como un producto aislado o purificado desde un alimento, contenido en una matriz no alimenticia, utilizado para mejorar la salud por sus propiedades fisiológicas benéficas probadas, en dosis que exceden aquellas que podrían obtenerse normalmente en el alimento (Thakur *et al.*, 2010).

Los alimentos funcionales y los nutraceuticos actúan beneficiosamente sobre una o más funciones del cuerpo debido a que contienen compuestos biológicamente activos (Arai, 2002; ILSI, 1999); sustancias orgánicas presentes en diferentes alimentos de origen vegetal y animal con utilidad para la promoción de la salud y

prevención de algunas enfermedades crónicas y degenerativas (Santos-Badenes y Soriano-del Castillo, 2006); algunos de éstos se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Compuestos biológicamente activos

Compuesto bioactivo	Fuente	Beneficios potenciales
Carotenoides		
Alfa-caroteno	Zanahorias	Neutraliza radicales libres que pueden causar daño celular
Beta-caroteno	Varias frutas y vegetales	Neutraliza radicales libres
Luteína	Vegetales verdes, espinacas	Contribuye al mantenimiento de la salud visual
Licopeno	Tomates y sus productos	Reduce el riesgo de cáncer de próstata
Zeaxantina	Huevos, cítricos y maíz	Contribuye al mantenimiento de la salud visual
Colágeno hidrolizado	Gelatina	Ayuda en la disminución de algunos de los síntomas asociados con la osteoartritis
Fibra dietaria		
Fibra insoluble	Salvado de trigo	Reduce el riesgo de padecer cáncer de pecho y de colon
Beta glucano	Avena	Reduce el riesgo padecer enfermedades cardiovasculares
Fibra soluble	<i>Psyllium</i>	Reduce el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares
Granos enteros	Granos de cereales	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares
Ácidos grasos		
Omega-3 DHA/EPA	Pescados y aceites de pescado	Reduce el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y mejora las funciones visuales y cerebrales
CLA	Quesos, productos cárnicos	Mejora el estado corporal y reduce el riesgo de padecer diferentes tipos de cáncer
Flavonoides		
Antocianinas	Frutas	Neutralizan radicales libres y reducen el riesgo de padecer cáncer
Catequinas	Tés, té verde	Neutralizan radicales libres y reducen el riesgo de padecer cáncer
Flavanonas	Cítricos	Neutralizan radicales libres y reducen el riesgo de padecer cáncer
Flavonas	Frutas y vegetales	Neutralizan radicales libres y reducen el riesgo de padecer cáncer

Cuadro 1. Compuestos biológicamente activos (continuación)

Compuesto bioactivo	Fuente	Beneficios potenciales
Glucosinolatos, Indoles, Isotiocianatos	Crucíferas, rábanos	Inducen la detoxificación enzimática y reducen el riesgo de padecer cáncer
Fenoles Ácido cafeico/Ácido ferúlico	Frutas, vegetales y cítricos	Presentan actividad antioxidante, reducen el riesgo de padecer enfermedades degenerativas, del corazón y de la vista
Fitoesteroles y Esteres de estanol	Maíz, soya, trigo y Margarinas fortificadas	Inhiben la absorción del colesterol, disminuyen los niveles de colesterol en sangre
Prebióticos/Probióticos		
Fructo-oligosacáridos	Alcachofas, chalotas y polvo de ajo	Mejoran la salud gastrointestinal
Lactobacilos	Yogurt y otros productos lácteos fermentados	Mejoran la salud gastrointestinal
Saponinas	Soya	Bajan los niveles de colesterol LDL, actividad anticancerígena
Proteína de soya	Soya	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardíacas
Fitoestrógenos		
Isoflavonas Daidzeína/ Genisteína	Soya	Reducen los síntomas de la menopausia
Lignanós	Lino, centeno y vegetales	Protegen contra el cáncer y enfermedades cardíacas
Sulfitos/tioles		
Dialil sulfito	Ajos, cebollas, poro y cebollinos	Bajan los niveles de colesterol LDL, mantienen el sistema inmunológico saludable
Alilmetiltrisulfito, ditioalifonas	Crucíferas	Bajan los niveles de colesterol LDL, mantienen el sistema inmunológico saludable
Taninos		
Proantocianidinas	Arándanos, cocoa y chocolate	Mejoran la salud de vías urinarias y reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares

Fuente: Hasler, 2000.

2. Lípidos

Los lípidos son sustancias solubles en solventes orgánicos, son compuestos que suministran energía y son vehículo de compuestos liposolubles (Fahy *et al.*, 2005). Por definición, los lípidos son biomoléculas orgánicas formadas principalmente por carbono e hidrógeno y, en porcentajes mucho más bajos, por oxígeno; también pueden contener fósforo, nitrógeno y azufre. Todos los lípidos comparten una característica fisicoquímica en común, son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Los lípidos que se incluyen en una dieta constituyen uno de los aportes más importantes en la alimentación, con varias funciones vitales que los convierten en nutrientes fundamentales para el buen funcionamiento del organismo (FAO, 1997).

Los lípidos biológicos, de acuerdo con sus propiedades físico-químicas y por su estructura molecular, han sido clasificados en ocho grupos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación de lípidos

Categoría	Ejemplo
Ácidos grasos	Ácido oleico
Glicerolípidos	Triglicéridos
Glicerofosfolípidos	Fotidilcolina
Esfingolípidos	Esfingosina
Esteroles	Colesterol
Isoprenoides	Farmesol
Glucolípidos	UDP-3-0-(-3 hidroxitetradecano)-N-acetilglucosamina
Policétidos	Aflatoxina

Fuente: Fahy *et al.*, 2005.

Los lípidos con mayor importancia en la absorción y metabolismo humano son los siguientes:

- Ácidos grasos:** Se dice que son cadenas hidrocarbonadas de longitud variable, con un grupo carboxilo en un extremo, pueden ser saturados o

- insaturados. Son constituyentes de los triglicéridos, los lípidos complejos o pueden encontrarse en forma libre. Este tipo de lípidos son una fuente importante de energía para las células, ya que pueden oxidarse para obtener ATP (trifosfato de adenosina).
- b) **Triglicéridos:** Son compuestos formados por tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol, de modo que en la hidrólisis se obtiene glicerol y tres moléculas de ácidos grasos libres, estos últimos producen grandes cantidades de energía.
 - c) **Lípidos de membranas o lípidos complejos:** No tienen tanta importancia nutricional, sin embargo, estos compuestos tales como los glicerofosfolípidos, los esfingolípidos y el colesterol, determinan las propiedades físicas de las membranas, como su fluidez, su capacidad para transportar compuestos y la señalización.
 - d) **Otros lípidos:** Se incluyen las hormonas esteroideas, las vitaminas liposolubles A, D, E y K, así como los esteroides (colesterol, esteroides vegetales y fitoesteroides) estos cumplen una función reguladora y derivan de ácidos grasos esenciales (Palou *et al.*, 2008).

2.1. Triglicéridos

Los ésteres de los ácidos grasos y el alcohol trihidroxilado glicerol se llaman acilglicéridos o glicéridos. Cuando los tres grupos hidroxilo del glicerol se encuentran esterificados con ácidos grasos, la estructura se llama triacilglicérido o triglicérido (Lehninger, 1997).

Los triglicéridos constituyen la familia más abundante de lípidos y son los componentes principales de los lípidos de depósito o reserva de las células animales y vegetales. A los triglicéridos que son sólidos a temperatura ambiente, se les conoce como grasas, a los que son líquidos se les llama aceites (Mathews, 2002).

Están presentes en el torrente sanguíneo y en el tejido adiposo. Un exceso de este tipo de grasa puede contribuir al endurecimiento y estrechamiento de las

arterias. Enfermedades como la diabetes, la obesidad, la insuficiencia renal pueden causar un aumento en los triglicéridos (Baron, 2005).

2.2. Triglicéridos de cadena media

Los triglicéridos de cadena media son triglicéridos constituidos principalmente por ácidos grasos de cadena media, fueron introducidos en los 50's como una fuente de energía especial para una serie de padecimientos clínicos nutricionales, incluyendo insuficiencia pancreática, malabsorción grasa, transporte linfático inadecuado de quilomicrones, hiperquilomicronemia severa y nutrición parenteral (Nagao y Yanagita, 2010). También se están utilizando en fórmulas para infantes pretérmino y desde 1994 su uso en productos alimentarios es reconocido como seguro (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos de Norteamérica (FDA) (Traul *et al.*, 2000).

Las grasas dietarias contienen principalmente ácidos grasos de 14 o más carbonos; sin embargo, existen algunas fuentes naturales con altas cantidades de ácidos grasos de cadena media (mayores al 50 % en peso del total de ácidos grasos) como los aceites de coco y de palmiste (Nagao y Yanagita, 2010). La leche de vaca contiene de un 4 a 12 % de ácidos grasos C6:0 a C10:0 y de un 2 a 5 % de C12:0 (Jensen, 2002). Los aceites de ácidos grasos de cadena media son producidos por hidrólisis del aceite de coco o de palmiste, separación de los ácidos grasos libres de cadena media y subsecuente re-esterificación. Estos aceites contienen casi exclusivamente ácidos octanoico y decaenoico, en proporciones desde 50:50 hasta 80:20 (Bach *et al.*, 1996)

3. Lípidos funcionales

Los lípidos funcionales son sustancias lipídicas orgánicas naturales que tienen efectos positivos en la salud de niños y adultos debido a que contienen compuestos biológicamente activos que aportan beneficios a la salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades (Alabdulkarim *et al.*, 2012); éstos forman parte de un alimento o se adicionan a éste. Un lípido funcional cuenta con propiedades superiores a las de otros lípidos, pueden ser utilizados en la

elaboración de alimentos funcionales con propiedades saludables añadidas, productos nutraceuticos y para el enriquecimiento de alimentos con algunos lípidos específicos que presentan funciones especiales (Cuadro 3) (Palou, 2008).

Los lípidos están relacionados con enfermedades como diabetes, obesidad, cáncer y enfermedades cardiovasculares, pero no todas las grasas son perjudiciales para la salud especialmente si se consumen en las cantidades adecuadas. Se necesita consumir grasas para el correcto funcionamiento del organismo, ya que estas cumplen funciones muy importantes, constituyen el mayor aporte de energía, forman parte de las membranas celulares, ayudan a la formación de hormonas o análogos, como los eicosanoides y proporcionan beneficios específicos para la salud (Huang, 2007).

La funcionalidad de los lípidos está relacionada con las diferentes etapas en la vida del ser humano, desde la gestación, lactancia y la infancia. Son usados también en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades autoinmunes (Mesa, 2005).

Cuadro 3. Principales lípidos funcionales

Ácidos grasos y triglicéridos de cadena media
Diglicéridos
Fitoesteroles y fitoestanoles
Ácido Eicosapentaenoico (EPA) y Ácido Docosahexaenoico (DHA)
Ácido linoleico conjugado (CLA)
Éteres lipídicos o alquilgliceroles
Escualeno
Tocoferoles y tocotrienoles
Fosfolípidos

Fuente: Palou, 2008.

3.1. Ácidos grasos de cadena media

Los ácidos grasos de cadena media (AGCM) son los ácidos grasos que contienen entre seis y doce átomos de carbono; estos son el ácido caproico (C6:0), el ácido

caprílico (C8:0), el ácido cáprico (C10:0) y el ácido láurico (C12:0). Se encuentran en algunos aceites como el de coco o el de palmiste, cuyo contenido en AGCM supera el 50 % del total de ácidos grasos (Bach *et al.*, 1996), y en una pequeña proporción en otros productos naturales como la leche bovina en la que constituyen del 4 al 12 % del total de ácidos grasos (Jensen, 2002).

Los AGCM se metabolizan de manera diferente a los ácidos grasos de cadena larga (AGCL); la hidrólisis intraluminal de los triglicéridos de cadena media es más rápida y más eficiente que la hidrólisis de los triglicéridos de cadena larga y, la absorción de los AGCM libres es también más rápida y más eficiente que la absorción de los AGCL. A diferencia de éstos últimos, los AGCM estimulan en menor grado la secreción de la colecistoquinina, los fosfolípidos biliares y el colesterol; y pueden ser absorbidos en presencia de la lipasa pancreática o en ausencia de sales biliares (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2008).

La mayor parte de los AGCM son absorbidos y transportados hasta el hígado, mientras que los AGCL son incorporados a los quilomicrones y llevados a la circulación sistémica vía el sistema linfático; en los hepatocitos, así como en otras células, los AGCM son tan rápidamente oxidados como la glucosa; no requieren de la enzima carnitin palmitoil transferasa para su transporte intramitocondrial, cruzan fácilmente su membrana y dentro de éstas son activados por la enzima cadena media acil CoA sintetasa (Willis *et al.*, 1998).

Los AGCM se han utilizado como fuente de energía, tanto en nutrición oral como enteral, se utilizan en casos de insuficiencia pancreática, malabsorción de grasa y deficiencia en el transporte linfático de quilomicrones. Algunos estudios confirman su potencial para reducir el peso corporal y particularmente la grasa corporal; reducir la secreción de lipoproteínas y atenuar la respuesta posprandial a los triglicéridos. Además, su administración en cantidades moderadas, reduce más rápida y eficientemente los niveles lipídicos séricos que los ácidos grasos mono o poliinsaturados (Marten *et al.*, 2006).

En animales alimentados con triglicéridos de cadena media, se obtuvo una menor ganancia de peso corporal que con la administración de dietas isoenergéticas

conteniendo AGCL, esta pérdida de peso fue asociada con una disminución en la acumulación grasa (Bach *et al.*, 1996), lo mismo ocurrió en humanos (St Onge *et al.*, 2003). La administración de AGCM reduce la respuesta posprandial a los triglicéridos, en comparación con la administración de AGCL, tanto en animales como en humanos (Asakura *et al.*, 2000); también reduce la respuesta posprandial al colesterol (Kasai *et al.*, 2003), así como los niveles séricos de glucosa e insulina en sujetos obesos (Krotkiewski, 2001). En el Cuadro 4 se resumen sus principales aplicaciones y mecanismo de acción.

Además, los triglicéridos de cadena media pueden reducir el daño intestinal al regular la respuesta inmune, aumentando la secreción de lipopolisacáridos por la sobre-expresión de la inmunoglobulina A (Kono *et al.*, 2004) y pueden reducir la hepatotoxicidad inducida por alcohol (Ronis *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Principales aplicaciones y mecanismo de acción de los ácidos grasos de cadena media

Uso/aplicación	Mecanismo
Nutrición oral, enteral y parenteral.	Fuente rápida de energía. Triglicéridos conteniendo ácidos grasos caprílico y cáprico son rápidamente hidrolizados por las lipasas gástricas y lingual, rápidamente absorbidos.
Síndrome del intestino corto, Insuficiencia pancreática biliar, Fibrosis cística.	Los AGCM son digeridos y absorbidos con rapidez. No se ven afectados por factores intestinales que inhiben la absorción de grasa.
Obesidad	No son almacenados en los adipocitos o en otros tejidos. Mayor efecto termogénico, Saciedad y Oxidación. Menor lipogénesis, Grasa corporal y Peso corporal.
Alimentación infantil	Mayor absorción de calcio. Fuente de energía de rápida absorción. Mantenimiento de concentraciones elevadas de ácidos grasos.
Epilepsia infantil	Mantenimiento del estado de cetosis.
Fármacos y cosméticos	Agentes acondicionantes de la piel. aumentan la viscosidad del producto.

Fuente: Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2008.

4. Palma de aceite

La palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.), también conocida como palma aceitera, es una planta nativa de varios países de África. Se trata de un cultivo perenne con un alto rendimiento ya que su tiempo de productividad puede ser de más de 50 años (SAGARPA, 2010). Además, diferencia de otros cultivos que inician su producción a los cuatro años o más, esta palma inicia su producción a los dos años de su plantación (INIFAP, 2011). Se considera una de las oleaginosas más importantes en cuanto a la producción de aceite, se encuentra en primer lugar de los aceites comercializados seguido de la soya, girasol y canola (Yuen, 2013).

En México, en los últimos años se ha visto incrementado el número de plantaciones de palma africana debido a la viabilidad económica de su cultivo y a los aceites de alta calidad que se extraen de ella; el aceite de palma que se extrae de su mesocarpio o pulpa, posee un color anaranjado oscuro y es consumido en todo el mundo como aceite de cocina para freír, en panadería, repostería, confitería y congelados; el aceite de palmiste que se extrae de su endospermo, es duro, aceitoso y con un color gris a blanco, se usa en la producción de margarinas, mantecas, aceites de mesa, de cocina y en jabones, velas, tinta de imprenta, y crema para zapatos; se utiliza también en la industria textil y del cuero, en la producción de vitamina A y de ácidos grasos (Cala-Gaitan y Bernal-Castillo, 2008; SAGARPA, 2010).

La primera plantación de palma africana en México ocurrió en 1952, en el estado de Chiapas, en la comunidad de “La lima”, en el municipio de Pueblo Nuevo Comaltitlán, con semillas originarias de Costa Rica. En 1996 el gobierno federal implementó un programa de plantaciones en el sur y sureste de México, donde se concretaron las primeras plantaciones de palma africana en 1997 en los estados de Chiapas y Campeche, posteriormente en el año de 1998 se unieron los estados de Tabasco y Veracruz (Palacios *et al.*, 2003).

La palma africana es una planta de origen tropical, por lo que se desarrolla mejor en regiones con clima tropical húmedo. Los principales aspectos agroecológicos para la producción de la palma africana se muestran el Cuadro 5.

Cuadro 5. Condiciones para la producción y desarrollo de la Palma Africana

Concepto	Bueno	Mediano	Marginal
1. Agua Precipitación media anual, Mm. Numero de meses secos, < 60 mm de lluvia al mes	> 1800 < 1	1500 - 1800 2 - 3	< 1500 4
2. Temperatura, °C Media anual promedio Máxima anual promedio Mínima anual promedio Media mensual	22 - 28 27 - 33 18 - 27 > 18	18 - 22, 28 - 32 22 - 27, 33 - 37 14 - 18, 27 - 33 < 18	< 18, > 32 < 22, > 37 < 14
3. Suelo Profundidad, cm Drenaje Pendiente, % Inundación Salinidad, mmhos/cm	> 75 Moderado a imperfecto < 12 Ninguna < 1.0	75 - 50 Pobre, fácil de drenar 12 - 23 Menor, máximo 2 días 1 - 3	< 50 Pobre, difícil de drenar > 23 Severa > 3
4. Fertilidad pH CIC, meq/100g Bases intercambiables, %	4.0 - 6.0 > 16 > 20	3.5 - 4.0 14.0 - 16.0 < 20	< 3.5 < 16
5. Varios Humedad relativa media anual, % Altitud, msnm Luminosidad Horas sol anual Horas sol diario Radiación, MJ/m ² día	> 80 % < 300 > 2000 > 7 > 12	 300 – 400 	 > 400

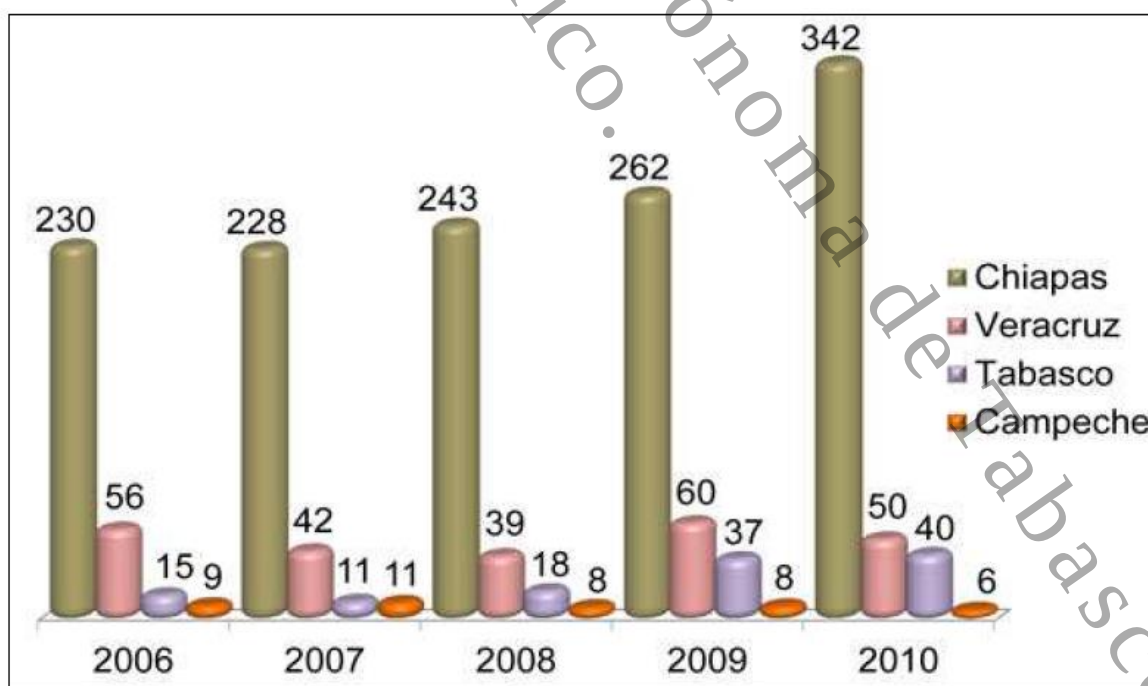
Fuente: INIFAP, 2011.

La producción de aceites en el país se basa en siete principales oleaginosas, que alcanzan una superficie de cultivo de 706,648.34 miles de hectáreas (Cuadro 6). En el sureste del país el cultivo de palma africana tiene una extensión de siembra de temporal de un poco más de 34 mil hectáreas, que en el periodo 2006 - 2010 presentó un crecimiento del 9.1 % anual (SAGARPA, 2011).

Cuadro 6. Superficie de los principales cultivos de oleaginosas en México

Cultivo	Superficie sembrada (Ha)	Participación (%)
Soya	165,010.70	23.4
Copra	132,837.84	18.8
Algodón	120,117.81	17.0
Cártamo	100,821.27	14.3
Ajonjolí	82,812.62	11.7
Cacahuete	55,466.21	7.8
Palma africana	49,581.89	7.0
Total	706,648.34	100.0

Fuente: SAGARPA, 2011.



Fuente: SAGARPA, 2011.

Figura 1. Producción de Palma Africana, 2006 – 2010 (millones de toneladas).

En México, los estados con mayores superficies sembradas de palma africana son Chiapas, Veracruz, Tabasco y Campeche (Figura 1). En el estado de Tabasco, de los ocho municipios que tienen plantaciones de palma africana es el municipio de Tenosique el que tiene la mayor superficie sembrada, con 2,871 ha, el mayor rendimiento es para el municipio de Teapa con 25.5 ton/ha (Cuadro 7). Toda la producción del estado es de temporal.

Cuadro 7. Producción de Palma Africana en el estado de Tabasco

Municipio	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)
Balancan	1,600.00	600.00	2,400.00	4.00
Centro	22.09	22.09	458.00	20.73
Emiliano Zapata	400.00	200.00	800.00	4.00
Jalapa	559.49	559.49	14,546.74	26.00
Macuspana	141.39	124.00	2,728.00	22.00
Tacotalpa	307.58	307.58	5,8550.74	19.02
Teapa	38.36	38.36	978.00	25.50
Tenosique	2,871.00	2,229.00	12,329.00	5.53
Total	5,939.91	4,080.52	40,090.48	9.82

Fuente: SAGARPA, 2011.

4.1. Aceite de palma

Los aceites de palma y palmiste se obtienen del fruto de la palma (*Elaeis guineensis* Jacq.); el aceite de palma se extrae del mesocarpio carnoso del fruto, mientras que el aceite de palmiste se extrae de su nuez. El aceite crudo de palma presenta un color naranja característico y es semisólido a la temperatura ambiente. En contraste, las características del aceite de palmiste son muy similares a las del aceite de coco, incoloro a amarillo, que solidifica en climas templados a una grasa de color blanco amarillento. Actualmente, el aceite de palma representa el 32.8 % del consumo mundial de aceites (Yuen, 2013) y se utiliza en la elaboración de productos como margarinas, mantecas, aceites para freír de alta estabilidad oxidativa, lociones para manos y cuerpo, entre otros (Pande y Akoh, 2013; Rincón y Martínez, 2009; Liu *et al.*, 2007); su éxito se debe

a la alta productividad de la palma aceitera en comparación con otras plantas (SAGARPA, 2010).

El aceite de palma incluye ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (39.3 - 47.5 %) y el esteárico (3.5 – 6 %), e insaturados como el ácido oleico (36 – 44 %) y el linoleico (9 – 12 %), así como trazas de ácidos grasos poliinsaturados. Más del 95 % del aceite de palma se compone de triglicéridos con un amplio rango en sus puntos de fusión, por lo que puede ser separado por medio de cristalización fraccionada en sus fracciones sólida y líquida, conocidas como estearina y oleína de palma. Los principales triglicéridos en el aceite de palma son dipalmitooleína (POP), dioleopalmitina (POO), palmitooleolinoleína (PLO), trioleína (OOO), dioleolinoleína (OOL) y tripalmitina (PPP) (Rincón y Martínez, 2009).

El aceite de palma posee una mínima cantidad de los ácidos grasos láurico (< 5 %) y mirístico (0,5 – 2 %), que son considerados hipercolesterolémicos, por lo que no genera un aumento del colesterol en la sangre (May y Nesaretman, 2014); más aún, gracias a la biodisponibilidad que poseen sus ácidos grasos insaturados, ayuda a disminuir las concentraciones de colesterol en sangre, por lo que es considerado un aceite hipocolesterolémico (Stanley, 2008).

Otra característica importante del aceite de palma es su alto contenido de antioxidantes naturales, como los carotenos y la vitamina E. Los primeros, β -caroteno (62 %) y α -caroteno (38 %), son precursores de la vitamina A (Rincón y Martínez, 2009). El aceite crudo de palma es potencialmente la mayor fuente natural de vitamina E (600-1000 ppm: 70 % de tocotrienoles y 30 % de tocoferoles) (Lai, 2005). Los tocotrienoles sirven como antioxidantes, pero también tienen un efecto inhibitorio de la β -hidroxi- β -metil glutaril CoA reductasa, lo que influye en la disminución del colesterol endógeno y en la agregación de plaquetas. Esto explica por qué el consumo de aceite de palma en humanos puede disminuir el colesterol sérico total (Rincón y Martínez, 2009).

Estudios realizados por Abdul-Hafid *et al.* (2013) y Selvaduray *et al.* (2012), reportaron la actividad antitumoral de una dieta a base de aceite de palma en animales de experimentación. Un estudio en humanos demostró que una fracción

de aceite de palma rica en tocoferoles inhibió el crecimiento de células de cáncer de mama humano (Nesaretnam *et al.*, 2004,2008). Antioxidantes del aceite de palma también han sido reportados como promotores del crecimiento óseo (Nirwana *et al.*, 2012; Hermizi *et al.*, 2009).

Los antioxidantes también son de mucha importancia en la estabilidad del aceite, ya que estos actúan inhibiendo o retardando el proceso de oxidación de los ácidos grasos, en donde se generan peróxidos e hidroperóxidos, estos son los principales responsables en los cambios organolépticos del aceite. Los principales factores responsables de la oxidación son el contenido de trazas de metales como hierro y cobre, alto contenido de clorofila que proviene de frutos inmaduros y la exposición directa al sol (Delgado, 2004).

4.2. Oleína y estearina de palma

El aceite de palma se compone de triglicéridos con un amplio rango en sus puntos de fusión, por lo que puede ser separado por medio de cristalización fraccionada en dos fracciones, una sólida y otra líquida, conocidas como estearina y oleína de palma. El fraccionamiento del aceite de palma es considerado como un proceso de modificación termomecánico, donde los triglicéridos que componen el aceite son separados en una mezcla de cristalización parcial (CODEX STAN 210, 1999).

La estearina de palma contiene altas cantidades de triglicéridos de alto punto de fusión, es sólida por lo que se utiliza en la elaboración de margarina, mantecas, vanaspati y jabones. La oleína de palma presenta un bajo punto de fusión, líquida en climas cálidos y se comercializa como un aceite vegetal importante. Tiene un rango más estrecho de triglicéridos y se mezcla bien con otros aceites vegetales (Pande y Akoh, 2013).

El alto contenido de antioxidantes naturales hace que el aceite de palma y la oleína tengan una alta estabilidad oxidativa (Trujillo-Castillo *et al.*, 2010). Se ha comprobado que la oleína de palma tiene una mayor vida de anaquel ya que se deteriora mucho más lento en comparación del aceite de girasol o el de soya (García *et al.*,2008).

La estearina es considerada un co-producto de la oleína de palma, representa una fracción pequeña (25 %) en comparación con la oleína (75 %) (Gustone, 2004). Es de gran importancia en el comercio internacional, como materia prima en la elaboración de otras grasas o como alternativa en la alimentación animal (Kellens, 2000); es muy resistente a la oxidación lo que le otorga una larga vida útil (Trujillo-Castillo *et al.*, 2010).

5. Lípidos estructurados

Los lípidos estructurados son lípidos “hechos a la medida” para cumplir con una función específica (Valenzuela y Sanhueza, 2008). Son lípidos que han sido modificados para cambiar su composición natural o la posición en que sus ácidos grasos se unen al esqueleto de glicerol para lograr un cambio nutricional, físico o químico deseado (Fauzi *et al.*, 2013; Farfán *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2012). Esto se puede conseguir por ingeniería genética o por transesterificación química o enzimática (Akoh, 2002). El uso de la ingeniería genética para la producción de lípidos estructurados está limitada por cuestiones naturales, prácticas y económicas, así como por la opinión pública desfavorable acerca de los alimentos genéticamente modificados (Knauf y Del Vecchio, 2002).

5.1. Transesterificación

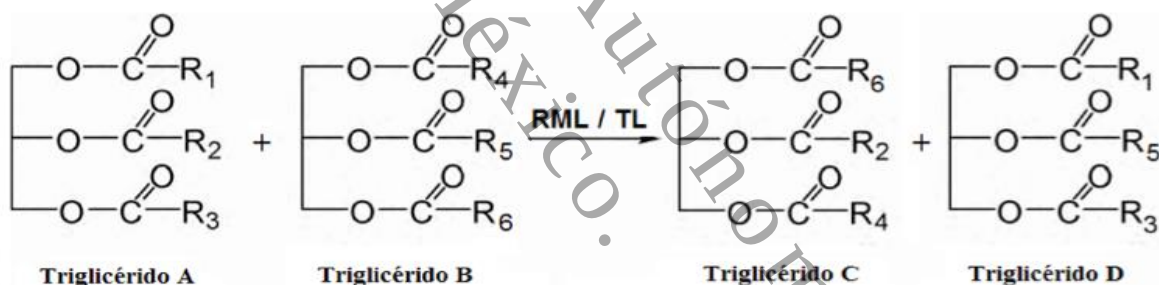
La transesterificación es un proceso *in vitro* que es catalizado por una enzima (Baeza-Jimenez *et al.*, 2014) o un catalizador químico (Gao *et al.*, 2013). En la transesterificación química, la reacción se caracteriza por una migración al azar de los grupos acilo entre las moléculas del triglicérido, requiere de altas temperaturas y rinde productos aleatorios por reacciones secundarias no deseadas.

La transesterificación enzimática tiene varias ventajas sobre la catálisis química (Figura 2), la más importante es su especificidad, otras incluyen el uso de condiciones suaves de reacción, poco o nada de reacciones secundarias no deseadas o productos secundarios, disminución en el uso de solventes o sustancias tóxicas, facilidad de purificación y recuperación de los productos

finales, fácil control sobre el proceso y menor eliminación de residuos (Paivi *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2003).

El uso de enzimas lipasas en las reacciones de transesterificación para la modificación de grasas y aceites no es reciente (Valenzuela y Nieto, 1994), pero éste se ha visto incrementado debido a la producción de lipasas microbianas con altos rendimientos, con mayor actividad catalítica y al uso de soportes para inmovilización de enzimas, lo que permite la fácil recuperación de la enzima al término de la reacción y su posterior reutilización (Bornscheuer, 2005).

Además, las lipasas *sn*-1,3-regioespecíficas, pueden ser utilizadas para modificar la composición de ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos para satisfacer requisitos estructurales específicos, al mismo tiempo que permiten la retención de los ácidos grasos esenciales localizados en la posición *sn*-2 (Willis *et al.*, 1998).



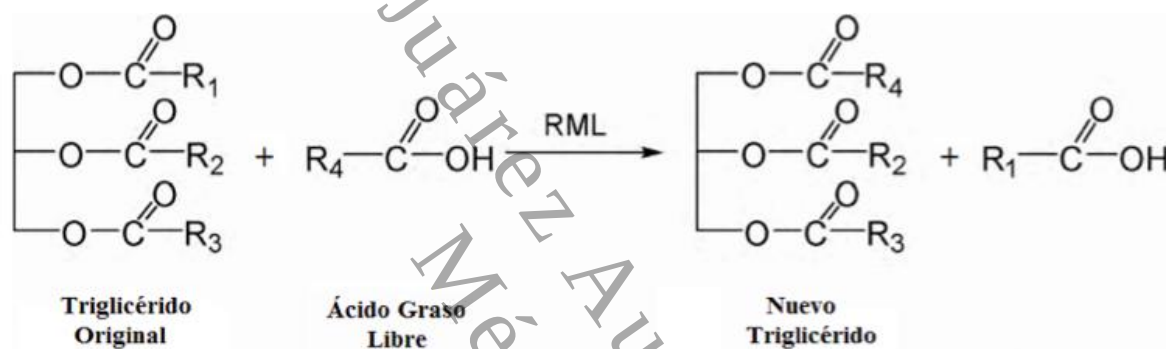
Fuente: Palla y Carrín, 2014.

Figura 2. Esquema general de la reacción de transesterificación catalizada por lipasas *sn*-1,3 específicas (*Rhizomucor miehei* (RML) o *Thermomyces lanuginosa* (TL)) para producir lípidos estructurados.

5.2. Acidólisis

El término transesterificación, en general, se refiere a aquellas reacciones en que un compuesto formado por ácidos grasos esterificados en una molécula de glicerol reacciona con ácidos grasos, alcoholes o ésteres (Block y Barrera-Arellano, 2012). Más específicamente, dependiendo del tipo de sustrato que reaccione con el

triglicérido será la denominación de la reacción; la transesterificación directa, involucra el intercambio de grupos acilo entre dos triglicéridos, resultando en la formación de nuevos triglicéridos con propiedades químicas y físicas diferentes de los que se partió; la reacción entre un triglicérido y alcohol se denomina alcoholisis y da lugar a un nuevo éster y a otro alcohol, su más importante aplicación es la producción de mono y diglicéridos cuando se usa glicerol en exceso; la reacción entre triglicéridos y ácidos grasos libres se denomina acidólisis (Figura 3) y, al igual que la transesterificación directa, se emplea para lograr productos grasos con propiedades funcionales mejoradas (Palla y Carrín, 2014).

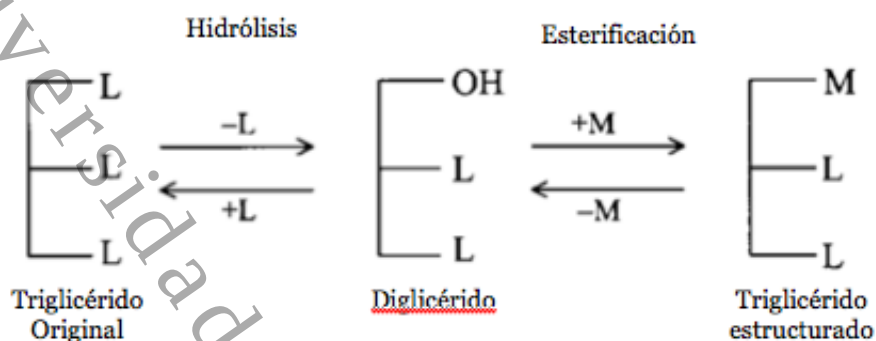


Fuente: Palla y Carrín, 2014.

Figura 3. Esquema general de la reacción de Acidólisis catalizada por lipasas de *Rhizomucor miehei* (RML) para producir lípidos estructurados.

La acidólisis es en realidad un proceso de dos etapas, hidrólisis y esterificación (Figura 4), en el primer paso se elimina un ácido graso del triglicérido, para que posteriormente se introduzca un nuevo ácido graso en la posición libre del diglicérido. No obstante, el diglicérido puede hidrolizarse nuevamente para producir un monoglicérido, en lugar de favorecerse la reacción de esterificación para la obtención del triglicérido. Para reducir la formación de monoglicéridos y favorecer la incorporación de ácidos grasos para la producción de triglicéridos, las condiciones de reacción deben ser cuidadosamente seleccionadas y controladas durante el proceso (Ainsworth *et al.*, 1996). Algunos estudios han reportado la importancia de parámetros como tipo y cantidad de enzima, tipo y cantidad de

solvente, presencia de agua, tipo y relación de sustratos, tiempo y temperatura de reacción, sobre las características y el rendimiento de los productos (Xu, 2000).



Fuente: Xu, 2000.

Figura 4. Esquema general de las dos etapas, hidrólisis y esterificación, en la reacción de Acidólisis para producir lípidos estructurados.

Algunas de las aplicaciones de esta reacción han sido su uso como alternativa tecnológica para la hidrogenación parcial de aceites vegetales, con las ventajas asociadas al uso de catalizadores biológicos y la estructuración de triglicéridos aún más definida que la obtenida por transesterificación directa; se ha utilizado también para concentrar los ácidos grasos EPA y DHA en los glicéridos de aceites marinos (Yamane *et al.*, 1992, 1993; Adachi *et al.*, 1993); así como para concentrar los ácidos grasos de cadena media en los aceites de coco o de palmiste (Long *et al.*, 1997).

HIPÓTESIS

Una de las tres lipasas a probar mostrará mayor selectividad por los ácidos grasos de cadena media en la reacción de transesterificación por acidólisis, lo que resultará en una mayor incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma por el uso de esta enzima, en comparación con las otras dos enzimas evaluadas.

OBJETIVO GENERAL

Obtener un lípido estructurado con elevado contenido de ácidos grasos de cadena media a partir de aceite de palma a través de una reacción enzimática de acidólisis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener y caracterizar una mezcla de ácidos grasos de cadena media libres a partir de un aceite rico en triacilglicéridos de cadena media.
- Obtener y caracterizar la fracción de oleína de palma a partir de aceite de palma crudo.
- Evaluar la efectividad de las enzimas lipasas Lipozyme TL IM de *Thermomyces lanuginosa*, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* y Novozym 435 de *Candida Antarctica* para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma.
- Obtener, con la enzima más efectiva para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma, el lípido estructurado con elevado contenido de ácidos grasos de cadena media.

METODOLOGÍA

1. Materiales

Se utilizó aceite de palma crudo donado por la empresa Agroipsa (Agroindustrias de Palenque S.A. de C.V.), en su planta localizada en el municipio de Jalapa, Tabasco, México.

Aceite comercial rico en triacilglicéridos de cadena media de la marca Original Thin Oil®, de la compañía Sound Nutrition en Dover, Idaho.

Las enzimas Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*), Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*), Novozym 435 (*Candida antarctica* B, CAL), adquiridas de la compañía NOVO® (Salem, VA).

2. Métodos

2.1. Obtención de la mezcla de ácidos grasos de cadena media

La mezcla de ácidos grasos de cadena media libres se obtuvo por saponificación del aceite comercial (Original Thin Oil®), de la compañía Sound Nutrition (Dover, Idaho), de acuerdo con el método descrito por Kim *et al.* (2007). Se tomaron 100 g del aceite, se mezclaron con 40 g de NaOH en agua destilada (100 mL) y 300 mL de etanol (99 %). La mezcla se calentó en reflujo por 30 minutos con agitación (500 rpm), se enfrió y se transfirió a un embudo de separación de 2 L. Se le adicionaron 200 mL de agua destilada y la materia insaponificable fue extraída con 300 mL de hexano. La fase acuosa, conteniendo los ácidos grasos saponificados, se transfirió a un embudo de separación, se le adicionó HCl concentrado hasta alcanzar un valor de pH 1.0; la capa inferior fue descartada y se le adicionaron 400 mL de hexano y 200 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y la capa inferior se descartó; se realizó un segundo lavado con 200 mL de agua destilada descartándose la fase inferior. La fase hexánica remanente, conteniendo los ácidos grasos de cadena media, se filtró a través de una capa de sulfato de sodio anhidro y se pasó por una columna empacada con sílica gel activada. El hexano fue evaporado con un rotavapor a 40 °C y la mezcla de ácidos grasos de cadena

media libres se almacenó en congelación bajo atmósfera de nitrógeno hasta su empleo en las reacciones de acidólisis. El peso molecular promedio de la mezcla de ácidos grasos de cadena media se calculó en base a su análisis por cromatografía de gases, para determinar la cantidad del saponificado a mezclar con el aceite de palma, de acuerdo con la relación de sustratos a preparar.

2.2. Determinación del porcentaje de ácidos grasos libres

Se determinó el porcentaje de ácidos grasos libres a la mezcla de ácidos grasos de cadena media obtenida de la saponificación del aceite comercial Original Thin Oil®, por el método oficial para la cuantificación de ácidos grasos libres en aceites vegetales crudos y refinados Ca 5a-40 de la AOCS (2012).

2.3. Obtención de la fracción de oleína de palma a partir del aceite de palma crudo

La fracción conocida como oleína de palma, se obtuvo a partir del aceite de palma crudo por separación en frío; ésta se realizó por crio-centrifugación, utilizando una centrífuga refrigerada, a 500 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. Después de la centrifugación, la fracción de oleína se separó de la fracción de estearina, con ayuda de una pipeta. El peso molecular promedio de la fracción de oleína de palma se calculó en base a su análisis por cromatografía de gases, para determinar la cantidad de oleína de palma a mezclar con los ácidos grasos de cadena media libres, de acuerdo con la relación de sustratos a preparar.

2.4. Determinación por cromatografía de gases de la composición en ácidos grasos (mol %)

La composición porcentual en ácidos grasos de la mezcla de ácidos grasos de cadena media libres, así como de la fracción de oleína de palma, se obtuvieron por metilación directa con HCl metanólico 1N. Se tomaron 100 µL de la mezcla de ácidos grasos de cadena media libres, o de la fracción de oleína de palma, se mezclaron con 1 mL de HCl metanólico 1N y la mezcla se calentó a 65 °C por 2 horas. Se agregaron entonces 100 µL de agua destilada para detener la reacción y los metilésteres de los ácidos grasos fueron extraídos con 2 mL de hexano. Una

alícuota del extracto (1 μL) se inyectó a un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 6890 equipado con un detector de ionización de flama y una columna capilar HP-INNOWAX Polietilenglicol (60 m X 0.25 mm X 0.25 mm). El método consistió en: para el horno, una temperatura inicial de 50 °C por 1 minuto, seguido por una rampa de 15 °C por minuto hasta alcanzar una temperatura final de 200 °C, esta se mantuvo por 24 minutos, siendo el tiempo de corrida de 35 minutos. El puerto de inyección se mantuvo a 200 °C y el detector a 230 °C. La composición en ácidos grasos (mol %) fue analizada e integrada utilizando a C17:0 como estándar interno.

2.5. Síntesis del lípido estructurado ricos en ácidos grasos de cadena media

La síntesis de los lípidos estructurados ricos en ácidos grasos de cadena media se realizó a través de una reacción enzimática de acidólisis, utilizando las lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM de *Thermomyces lanuginosa*, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* y Novozym 435 de *Candida antarctica* B CAL, todas de NOVO®. Las condiciones de reacción fueron, una temperatura (T) de 50 °C, una concentración de enzima (CE) de 10 % y una relación de sustratos (Oleína de palma:ácidos grasos de cadena media) 1:8 molar. Para todas las reacciones se utilizaron 2.5 g de la mezcla de sustratos, se colocaron en matraces Erlenmeyer de 50 mL y se mezclaron con la enzima inmovilizada. La reacción se llevó a cabo en un agitador orbital operando a 200 rpm, a la temperatura de 50 °C por un periodo de 24 horas. Se tomaron muestras a las 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12 y 24 horas de reacción para determinar la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

2.6. Determinación de la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma por cromatografía de gases

La incorporación de los ácidos grasos de cadena media al aceite de palma se determinó por metilación alcalina; se tomaron 100 μL de la mezcla de reacción, se adicionó 1 mL de metóxido de sodio en metanol 0.5 N y se mantuvo a temperatura ambiente por 5 minutos. Se agregaron 100 μL de agua destilada para detener la

reacción y los metil ésteres fueron extraídos con 2 mL de hexano. Una alícuota del extracto (1µL) se inyectó al cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 6890 equipado con un detector de ionización de flama, la columna capilar fue una HP-INNOWAX Polietilenglicol (60 m X 0.25 mm X 0.25 mm), utilizando el método descrito en el apartado 2.4.

2.7. Separación de los lípidos estructurados en fase sólida

La separación del lípido estructurado, producto obtenido de la reacción de acidólisis para la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma, se realizó por cromatografía en columna de acuerdo con la metodología descrita por Christie y Xan (2003). Para ello se utilizó una columna cromatográfica de 460 mm de largo por 57 mm de diámetro, empacada con 600 g de silica gel grado reactivo de diámetro medio de partícula de 60-200 mesh y de diámetro medio de poro de 150 Å. Se utilizó como fase móvil hexano, conteniendo proporciones cada vez mayores de éter dietílico para la separación de los triglicéridos o lípidos estructurados ricos en ácidos grasos de cadena media (5 % de éter dietílico en hexano), diglicéridos (15 % de éter dietílico en hexano), monoglicéridos (95 % de éter dietílico en hexano) y ácidos grasos libres (98 % de éter dietílico, 2 % de ácido acético). Eluyéndose con aproximadamente 20, 30, 40 y 45 volúmenes, respectivamente (Christie y Xan, 2003).

3. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental que se utilizó fue un diseño completamente aleatorizado, con tres repeticiones, considerando como tratamientos, los realizados con las diferentes enzimas lipasas (Lipozyme TL IM de *Thermomyces lanuginosa*, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* o Novozym 435 de *Candida Antarctica*) que se utilizaron para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma a través de la reacción de acidólisis. La variable de respuesta fue la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma, en porcentaje molar (% molar).

Los tratamientos fueron los siguientes:

TRATAMIENTO	TIPO DE ENZIMA
1	Lipozyme TL IM de <i>Thermomyces lanuginosa</i>
2	Lipozyme RM IM de <i>Rhizomucor miehei</i>
3	Novozym 435 de <i>Candida Antarctica</i>

Los resultados obtenidos del experimento se analizaron por medio de un análisis de varianza, con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó para ello una prueba de Tukey a una $P < 0.05$. El paquete estadístico utilizado fue STATISTICA V. 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Obtención de los ácidos grasos de cadena media

Se obtuvo la mezcla de los ácidos grasos de cadena media, misma que se utilizó para su incorporación al aceite de palma, para la producción del lípido estructurado vía las enzimas lipasas. Se utilizó el aceite comercial rico en ácidos grasos de cadena media Original Thin Oil®, el cual fue sometido a saponificación con NaOH. La mezcla purificada de ácidos grasos de cadena media libres fue analizada por cromatografía de gases para la determinación de su composición porcentual molar en ácidos grasos.

De la saponificación del aceite rico en ácidos grasos de cadena media, se obtuvo un rendimiento del 85.32 % de la mezcla de ácidos grasos de cadena media libres; y de su análisis por cromatografía de gases, se obtuvo que su composición molar en ácidos grasos fue de 0.04 % de ácido caproico (C6:0), 71.20 % de ácido caprílico (C8:0), 28.57 % de ácido cáprico (C10:0) y 0.19 % de ácido láurico (C12:0).

En relación a la composición de la mezcla de ácidos grasos de cadena media obtenida a partir del saponificado del aceite, encontramos que nuestros resultados son consistentes con los reportados por Bach y Babayan (1982), quienes han indicado que los aceites de ácidos grasos de cadena media, producidos por hidrólisis del aceite de coco, separación de los ácidos grasos de cadena media libres y subsecuente reesterificación con glicerol, contienen casi exclusivamente ácidos caprílico y cáprico, en proporciones desde 50:50 hasta 80:20.

El cromatograma obtenido para la mezcla de ácidos grasos de cadena media (Figura 5) muestra los tiempos de retención en minutos, para cada uno de los metil ésteres de los ácidos grasos que forman parte de la mezcla: ácido caproico (C6:0), 5.249 min; ácido caprílico (C8:0), 8.250 min; ácido cáprico (C10:0), 10.254 min; ácido láurico (C12:0), 11.786 min. Esta fue la fuente de ácidos grasos de cadena

media que se utilizó como donador de grupos acilo en la reacción de acidólisis para la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma.

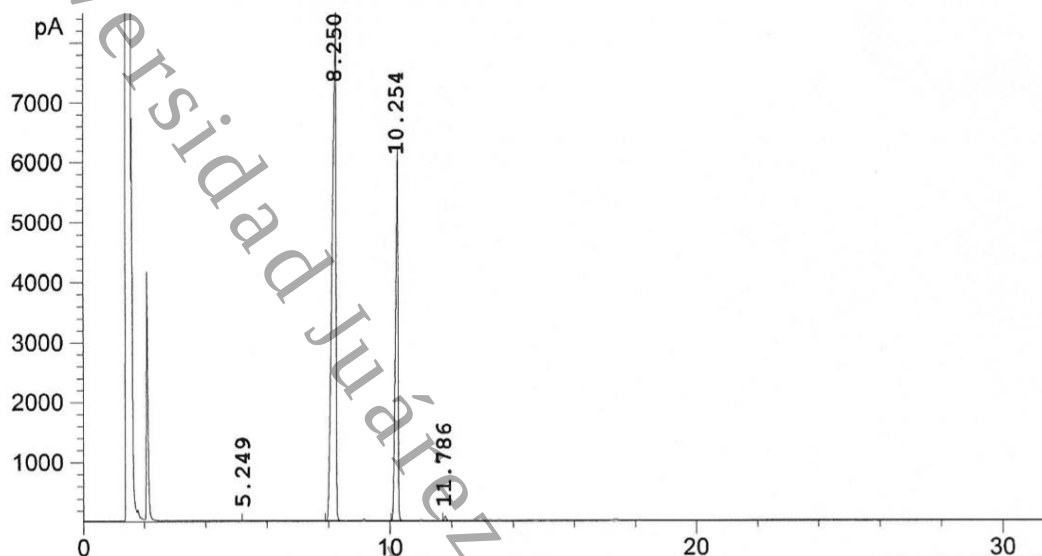


Figura 5. Cromatograma obtenido para la mezcla de ácidos grasos de cadena media

De la composición porcentual molar en ácidos grasos obtenida del análisis cromatográfico de la mezcla de ácidos grasos de cadena media, se determinó su peso molecular que resultó de 498.23 g/mol. Con este peso molecular se calculó la cantidad en gramos, de la mezcla de ácidos grasos de cadena media a utilizar en las reacciones de acidólisis.

2. Obtención de la fracción de oleína de palma a partir del aceite de palma crudo

Se obtuvo la fracción conocida como oleína de palma, a partir del aceite de palma crudo y se determinó su composición porcentual molar de ácidos grasos por cromatografía de gases, para calcular su peso molecular.

De la separación por centrifugación en frío de las fracciones de oleína y estearina a partir del aceite de palma, se obtuvo un rendimiento del 63.47 % de la fracción oleínica; de su análisis por cromatografía de gases, se obtuvo que su composición

molar en ácidos grasos fue: ácido mirístico (C14:0) 1.55 %, ácido palmítico (C16:0) 42.88 %, ácido palmitoleico (C16:1) 0.31 %, ácido esteárico (C18:0) 3.56 %, ácido oleico (C18:1) 39.42%, ácido linoléico (C18:2) 11.69 %, ácido linolénico (C18:3) 0.36 % y ácido araquídico (C20:0) 0.23 %.

Velázquez-Martínez y Gómez-Vásquez (2010) obtuvieron también las fracciones de oleína y estearina del aceite de palma, por fraccionamiento en seco, calentando el aceite hasta lograr su fusión, para posteriormente enfriar lentamente durante 24 horas a 29°C, para lograr la formación de los cristales de estearina que se separaron primero por decantación y después por filtración; obteniéndose un rendimiento del 61 % de oleína y 39 % de estearina de palma.

En relación a la composición en ácidos grasos de la fracción conocida como oleína de palma, obtenida a partir del aceite de palma crudo, encontramos que nuestros resultados son consistentes con los reportados por Tang (2000), así como con la composición en ácidos grasos de la oleína de palma que se indica en la Norma del Codex para aceites vegetales especificados (CODEX STAN 210-1999).

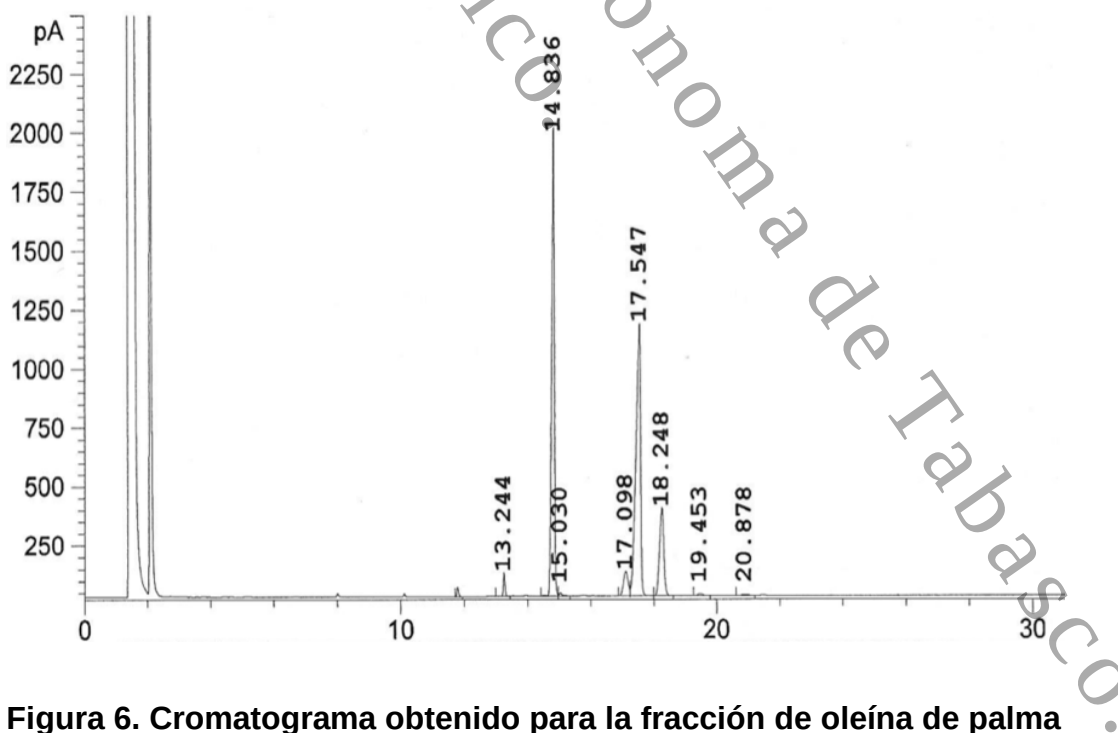


Figura 6. Cromatograma obtenido para la fracción de oleína de palma

En el cromatograma obtenido para la oleína de palma utilizada como sustrato para la síntesis del lípido estructurado enriquecido con ácidos grasos de cadena media (Figura 6), se muestran los tiempos de retención en minutos, para cada uno de los metil ésteres de los ácidos grasos presentes en el aceite: ácido mirístico (C14:0), 13.244 min; ácido palmítico (C16:0), 14.836 min; ácido palmitoleico (C16:1), 15.030 min; ácido esteárico (C18:0), 17.098 min; ácido oleico (C18:1), 17.547 min; ácido linoléico (C18:2), 18.248 min; ácido linolénico (C18:3), 19.453 min; ácido araquídico (C20:0), 20.878 min.

De la composición porcentual molar en ácidos grasos obtenida del análisis cromatográfico de la fracción de oleína de palma; se determinó su peso molecular que resultó de 849.92 g/mol. Con este peso molecular se calculó la cantidad en gramos, de la fracción de oleína de palma a utilizar en las reacciones de acidólisis.

3. Síntesis de lípidos estructurados ricos en ácidos grasos de cadena media

Se llevó a cabo la síntesis de los lípidos estructurados ricos en ácidos grasos de cadena media a través de la reacción enzimática de acidólisis, utilizando las enzimas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435, en matraces Erlenmeyer de 25 mL, en un agitador orbital operando a 200 rpm, a 50 °C, con 10 % de enzima y una relación molar de sustratos (fracción de oleína de palma: mezcla de ácidos grasos de cadena media) 1:8. Se tomaron muestras a las 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12 y 24 horas de reacción para determinar la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma para cada una de las enzimas probadas y para cada uno de los puntos de las cinéticas. Las cinéticas de incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma se observan en la Figura 7.

La incorporación de los ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma durante la reacción enzimática de acidólisis puede evidenciarse en el cromatograma de la Figura 8, que corresponde a la incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma por la enzima Lipozyme RM IM, a las 24 horas de reacción. En éste cromatograma se observan los picos

correspondientes a los metil ésteres de los ácidos grasos de cadena media, que se han incorporado a la fracción de oleína de palma.

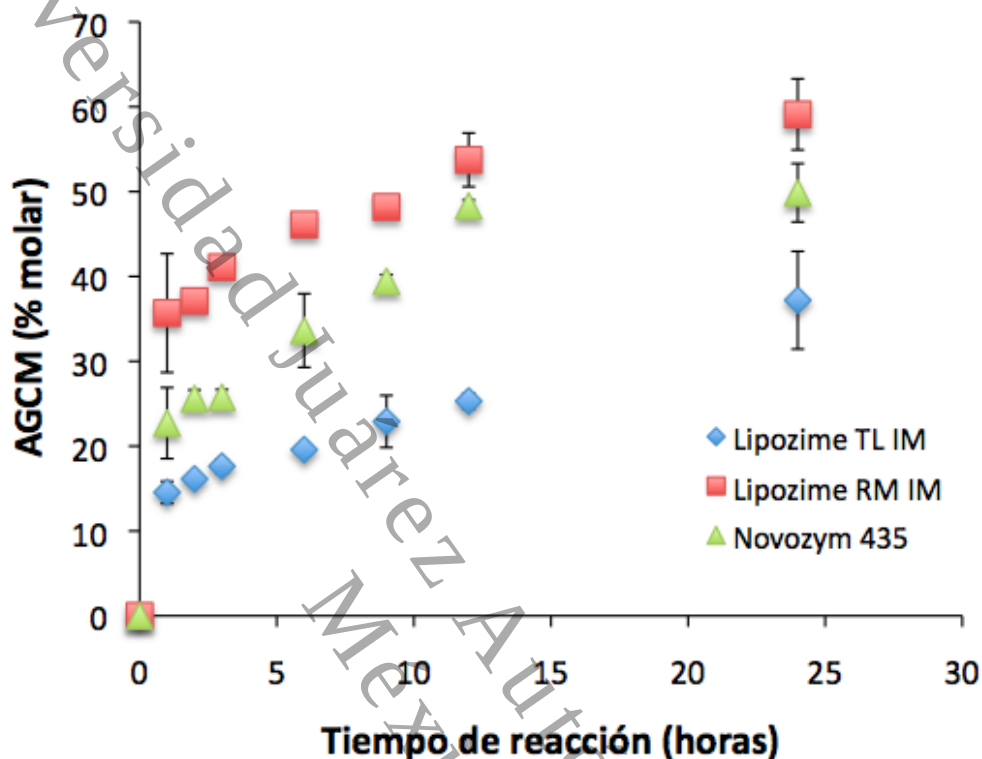


Figura 7. Cinéticas de incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma, obtenidas con las enzimas lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435. Las condiciones de reacción fueron: temperatura de 50 °C, concentración de enzima de 10 % y relación molar de sustratos (oleína de palma: ácidos grasos de cadena media) 1:10.

Los tiempos de retención en minutos, para cada uno de los metil ésteres de los ácidos grasos de cadena media incorporados son: ácido caproico (C6:0), 5.059 min; ácido caprílico (C8:0), 7.982 min; ácido cáprico (C10:0), 10.063 min; ácido láurico (C12:0), 11.724 min.

Las reacciones de transesterificación han sido estudiadas por algunos autores como Otero *et al.* (2006), en la transesterificación de aceite de sésamo con una grasa completamente hidrogenada; Ronne *et al.* (2005), en la transesterificación

de grasa láctea con aceite de colsa; o Yang *et al.* (2005) en la transesterificación de aceite de palma con aceite de palmiste. De acuerdo con Cert *et al.* (2000), la transesterificación de una mezcla de aceite de soya, aceite de palmiste, fue monitoreada por cromatografía de gases de alta resolución, realizando la identificación y la cuantificación de los ácidos grasos C:8, C:10 y C:12, cuyos picos presentaron los tiempos de retención de 8.87, 11.03 y 13.00 min, respectivamente.

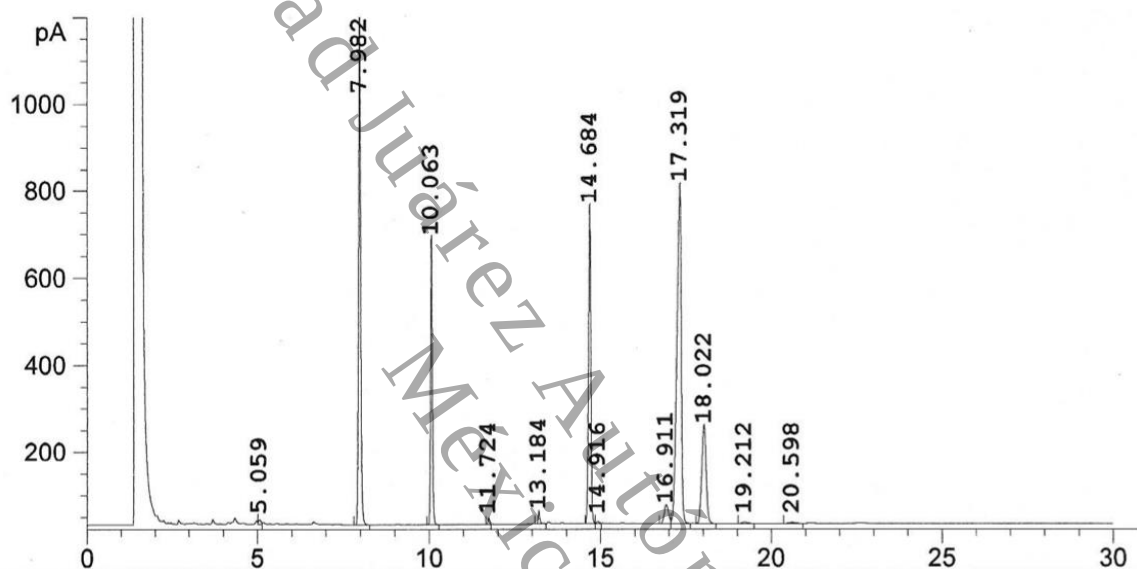


Figura 8. Cromatograma obtenido para la reacción de incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma por la enzima Lipozyme RM IM, a las 24 horas de reacción. Las condiciones de reacción fueron: temperatura de 50 °C, concentración de enzima de 10 % y relación molar de sustratos (oleína de palma: ácidos grasos de cadena media) 1:10.

4. Efectividad de las enzimas lipasas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435 para incorporar ácidos grasos de cadena media al aceite de palma

La incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma a través de la reacción enzimática de acidólisis, alcanzada a las 24 horas de reacción, utilizando las lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM de *Thermomyces*

lanuginosa, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* y Novozym 435 de *Candida antarctica*, fue de 37.20, 59.10 y 48.86 % molar, respectivamente (Figura 7).

Del análisis estadístico de estos resultados, a través de un análisis de varianza, con posterior análisis de comparación de medias de Tukey a una $P < 0.05$, se encontró que existen diferencias significativas entre los valores obtenidos para la incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma, para cada una de las tres enzimas lipasas probadas (ver Figura 9); obteniéndose que la mayor incorporación de ácidos grasos de cadena a la fracción de oleína de palma es alcanzada con la enzima lipasa inmovilizada Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei*, seguida por la enzima Novozym 435 de *Candida antarctica*.

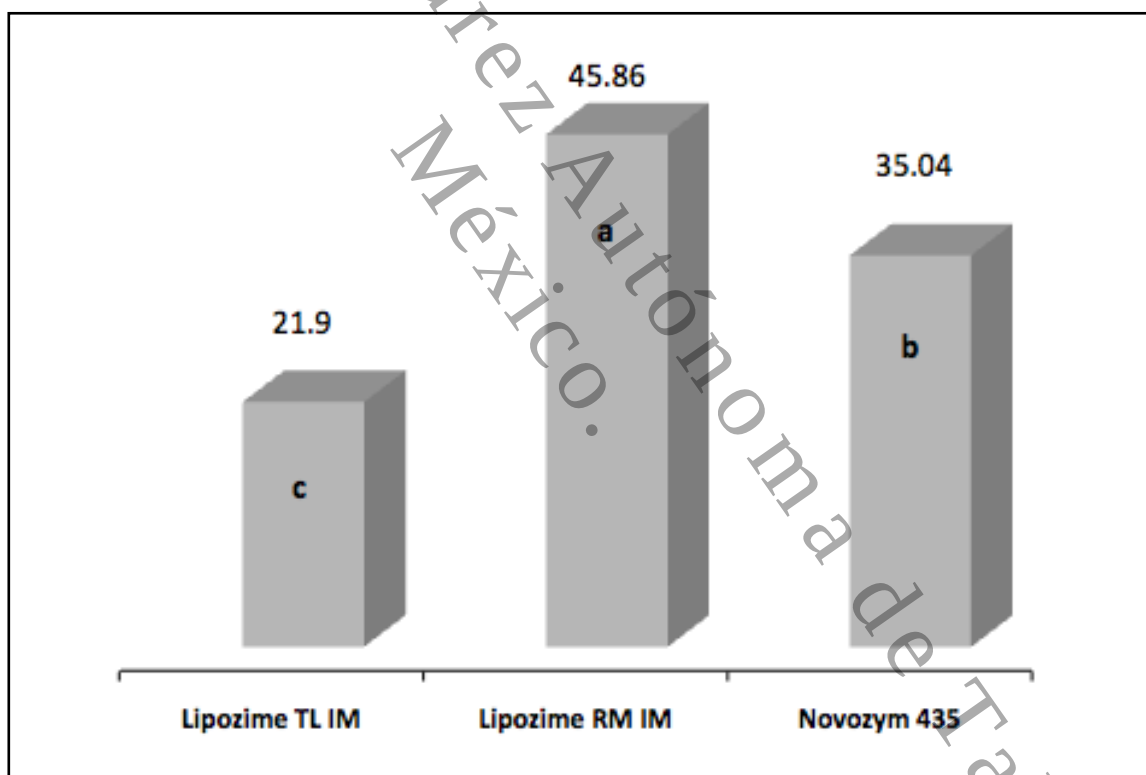


Figura 9. Resultados obtenidos del análisis estadístico para la incorporación de ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma por las enzimas lipasas inmovilizadas Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM y Novozym 435.

Estos resultados son consistentes con los reportados por Herawan y Klaas (2014), quienes indican que, de 10 enzimas lipasas probadas, la enzima lipasa de *Candida Antarctica*, así como Lipozyme RM IM, fueron las más efectivas para llevar a cabo la transesterificación del aceite de palmiste con dimetil carbonato y etanol, respectivamente.

Moreno-Safra y Perea-Villamil (2008) reporta también el uso de las enzimas lipasas Lipozyme RM IM y Lipozyme TL IM como catalizadores en una reacción de interesterificación entre los aceites de palma y de palmiste, encontrando que para todas las diferentes condiciones de reacción evaluadas, la enzima Lipozyme RM.IM presentó mejores resultados, estadísticamente significativos.

De lo anterior podemos decir que de las tres enzimas lipasas evaluadas, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* demostró ser más efectiva para incorporar ácidos grasos de cadena media a la fracción de oleína de palma; lográndose una incorporación del 59 % molar, a las 24 horas de reacción, a una relación molar de sustratos 1:10, 10 % de enzima y una temperatura de 50 °C.

5. Separación de los lípidos estructurados en fase sólida

Se llevó a cabo la separación de los lípidos estructurados obtenidos como producto de la reacción de acidólisis para la incorporación de ácidos grasos de cadena media al aceite de palma, por cromatografía en columna. Se requirió de 21 volúmenes (de 125 mL) de éter dietílico al 5 % en hexano para la separación de los lípidos estructurados o triglicéridos, 9 volúmenes de éter dietílico al 15 % en hexano para la separación de los diglicéridos, 10 volúmenes de éter dietílico al 95 % en hexano para la separación de los monoglicéridos y finalmente, se utilizaron 6 volúmenes de ácido acético al 2 % en éter dietílico para la extracción de los ácidos grasos libres.

La identificación de las diferentes clases de lípidos separados en fase sólida (triglicéridos, diglicéridos y monoglicéridos) se realizó por cromatografía de placa fina de silica gel, utilizando como fase móvil una mezcla de hexano, éter dietílico, ácido acético (80:20:2 en volumen); las placas se revelaron con ácido sulfúrico en

etanol (10:170 en volumen). Una de las placas de capa fina obtenidas a partir de la mezcla de reacción y de las fracciones separadas en fase sólida se muestra en la Figura 10, donde TAG F₁₉, TAG F₂₀ y TAG F₂₁, corresponden a las fracciones 19, 20 y 21, de éter dietílico al 5 % en hexano eluidos en la columna empacada, empleadas para la separación de los lípidos estructurados o triglicéridos; APC corresponde a el aceite de palma crudo; MR a la mezcla de reacción y AGL, a la fracción de ácido acético al 2 % en éter dietílico para la extracción de los ácidos grasos libres.

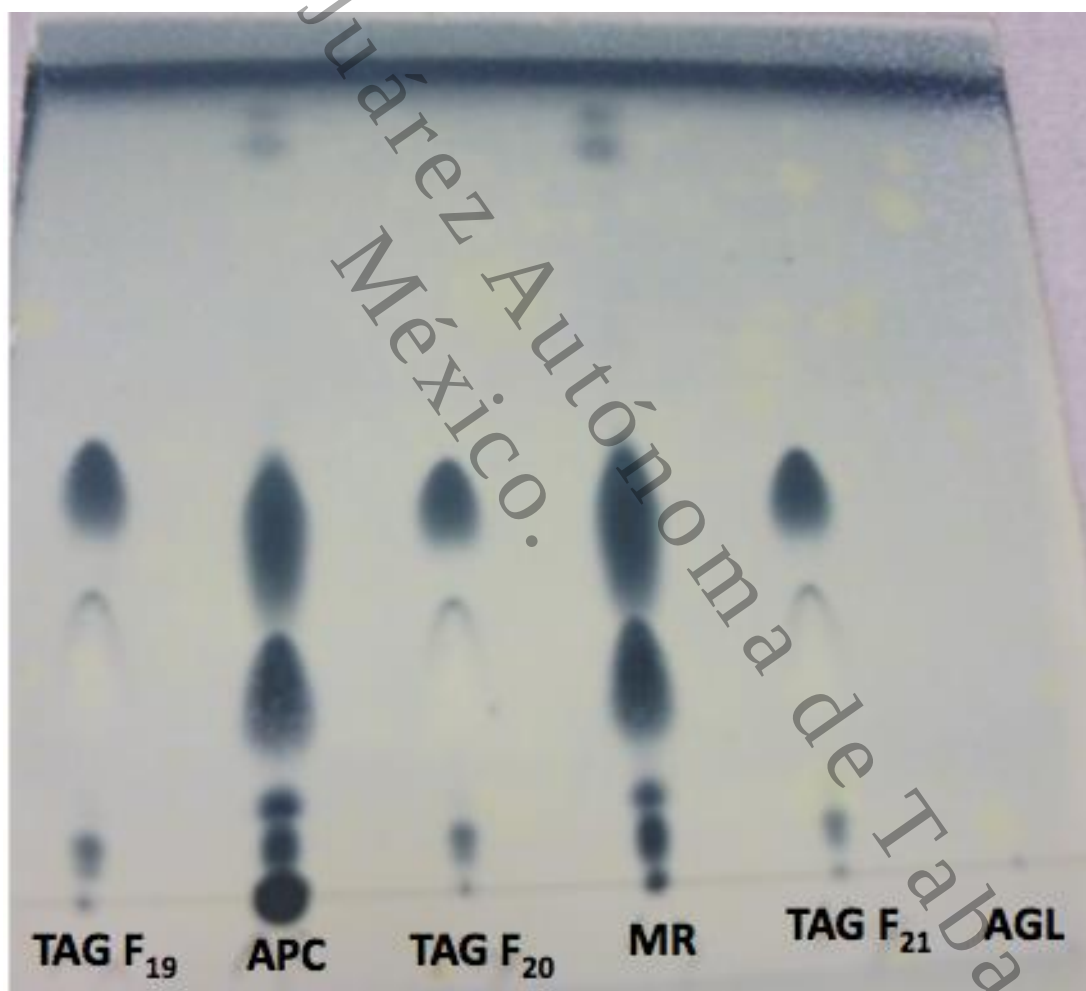


Figura 10. Capa fina revelada con ácido sulfúrico en etanol de la mezcla de reacción y de las fracciones obtenidas a partir de su separación en fase sólida en columna empacada con silica gel, utilizando un gradiente escalonado de éter dietílico en hexano.

La separación en fase sólida rindió un 32.69 % de lípidos estructurados o triglicéridos, cuyo análisis por cromatografía de gases indicó una composición en ácidos grasos de cadena media de 59.10 % molar.

6. Lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media

La transesterificación enzimática del aceite de palma con ácidos grasos de cadena media, a través de una reacción de acidólisis, permitió la obtención de un lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media, con potenciales beneficios nutracéuticos. En la Figura 11, puede observarse su composición en ácidos grasos, destacando su elevada proporción en ácidos caprílico (41.64 %) y cáprico (16.61 %), además de los ácidos oleico (19.44 %), palmítico (13.45 %) y linoleico (5.78 %), incluye también pequeñas proporciones los ácidos caproico (0.61 %), láurico (0.24 %), mirístico (0.69 %), palmitoleico (0.28 %), esteárico (1.17 %), linolénico (0.05 %) y araquídico (0.03 %).

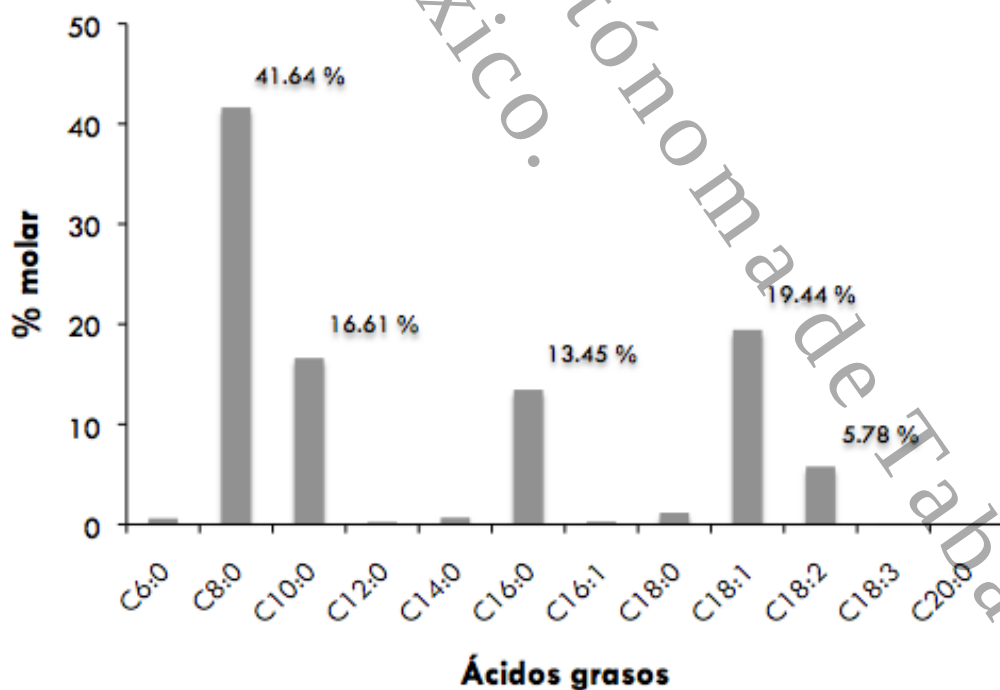


Figura 11. Composición en ácidos grasos del lípido estructurado obtenido por transesterificación enzimática del aceite de palma con ácidos grasos de cadena media, a través de una reacción de acidólisis.

CONCLUSIONES

Se obtuvo una mezcla de ácidos grasos de cadena media, a partir de un aceite comercial rico en éstos ácidos grasos, de cadena media, con una composición molar de 0.04 % de ácido caproico (C6:0), 71.20 % de ácido caprílico (C8:0), 28.57 % de ácido cáprico (C10:0) y 0.19 % de ácido láurico (C12:0), con un peso molecular promedio de 498.23 g/mol.

Se obtuvo una oleína de palma, a partir de aceite de palma crudo, con una composición molar de 1.55 % de ácido mirístico (C14:0), 42.88 % de ácido palmítico (C16:0), 0.31 % de ácido palmitoleico (C16:1), 3.56 % de ácido esteárico (C18:0), 39.42 % de ácido oleico (C18:1), 11.69 % de ácido linoléico (C18:2), 0.36 % de ácido linolénico (C18:3) y 0.23 % de ácido araquídico (C20:0), con un peso molecular promedio de 849.92 g/mol.

De las tres enzimas lipasas evaluadas, Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* demostró ser la más efectiva para incorporar ácidos grasos de cadena media a la oleína de palma, lográndose con ésta una máxima incorporación de 59.10 % molar de ácidos grasos de cadena media, a las 24 horas de reacción, a una relación molar de sustratos 1:10, 10 % de enzima y una temperatura de 50 °C.

La enzima Lipozyme RM IM de *Rhizomucor miehei* produjo un lípido estructurado rico en ácidos grasos de cadena media, con potenciales beneficios nutraceuticos, constituido mayoritariamente por los ácidos caprílico C8:0 (41.64 %), cáprico C10:0 (16.61 %), palmítico C16:0 (13.45 %), oleico C18:1 (19.44 %) y linoleico C18:2 (5.78 %); además de pequeñas proporciones de los ácidos caproico C6:0 (0.61 %), láurico C12:0 (0.24 %), mirístico C14:0 (0.69 %), palmitoleico C16:1 (0.28 %), esteárico C18:0 (1.17 %), linolénico C18:3 (0.05 %) y araquídico C20:0 (0.03 %).

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul-Hafid, S.R., Chakravarthi, S., Nesaretnam, K., and Radhakrishnan, A.K. (2013). Tocotrienol-Adjuvanted Dendritic Cells Inhibit Tumor Growth and Metastasis: A Murine Model of Breast Cancer. *PLoS ONE*, 8: e74753
- Adachi, S., Okumura, K., Ota, Y. and Mankura, M. (1993). Acidolysis of sardine oil by lipase to concentrate EPA and DHA in glycerides. *J. Ferment. Bioeng.*, 75:259-264.
- Ainsworth, S., Versteeg, C., Plamer, M. and Millikan, M.B. (1996). Enzymatic interesterification of fats. *Australian Journal of Dairy Technology*, 51:105-107.
- Akoh, C.C. (2002). Structured lipids: Cap. 28 in "Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology" (Eds.), C.C. Akoh and D.B. Min (pp. 877-908). Marcel Dekker, Inc., New York.
- Alabdulkarim, B., Nabi, B.Z.A., and Arzoo, S. (2012). Role of some functional lipids in preventing diseases and promoting health. *Journal of King Saud University – Science*, 24:319-329.
- AOCS (2012) Official Method Ca 5a-40 Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils.
- Arai, S. (2002). Global view on functional foods: Asian perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88(Suppl. 2):S139-S143.
- Asakura, L., Lottenberg, A.M.P., Neves, M.Q.T.S., Nunes, V.S., Rocha, J.C., and Passarelli, M. (2000). Dietary medium-chain triacylglycerol prevents the postprandial rise of plasma triacylglycerols but induces hypercholesterolemia in primary hypertriglyceridemic subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71:701–705.
- Bach, A.C., and Babayan, V.K. (1982). Medium-chain triglycerides: an update. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 36:950–962.

- Bach A.C., Ingenbleck Y., and Frey A. (1996) The usefulness of dietary médium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J Lipid Res*; 37:708-726.
- Baeza-Jiménez, R., López-Matrínez, L. X., García, H. S. (2014). Biocatalytic Modification of Food Lipids: Reactions and Applications. *Revista mexicana de Ingeniería Química*, 13:29-47.
- Baron, R.B. (2005). Diagnóstico clínico y Tratamiento. 40a ed. Manual moderno. México.
- Biruete-Guzmán A., Juárez, Hernández E., Sieiro, Ortega. E., Romero Viruegas. R., y Silencio, Barrita JL. (2009) Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. *Revista mexicana de pediatría*, 76 (3): 136- 145.
- Block, J.M., y Barrera-Arellano, D. (2012). Temas selectos en aceites y grasas. Blucher. AOCS. SBOG.
- Bloomer S. (1992). Lipase- catalyzed lipid modifications in non- aqueous media. Departamento de Biotecnología Universidad de Lend, Suecia.
- Bornscheuer, U.T. (2005). Trends and challenges in enzyme technology. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 100:181-203.
- Cala-Gaitán G., y Bernal-Castillo, G. (2008) Procesos Modernos de extracción de aceite de Palma. Publicaciones de la Federación Nacional de Cultivadores de Palma de aceite, Sociedad de Agricultores de Colombia y el Servicio Nacional de Aprendizaje. Fedepalma. Bogotá, Colombia. The oily press. WP. Oxford.
- Cert, A., Moreda, W., and PEREZ-CAMINO, M.C. (2000). Methods of preparation of fatty acid methyl esters (FAME). Statistical assessment of the precision characteristics from a collaborative trial. *Grasas y Aceites*, 51:447-456.
- Christie, W.W., and Han, X. (2003). Lipid analysis. Isolation, separation, identification and lipidomic analysis. 4a ed.

CODEx STAN 210-1999. NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS CODEX STAN 210-1999.

Delgado, W. (2004). Porque se enrancian las grasas y los aceites. Palmas (Colombia) 25 (2): 35-43.

Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H.A., Glass, C.K., Merrill Jr., A.H., ...Dennis, E.A. (2005). A comprehensive classification system for lipids. *Journal of Lipid Research*, 46:839-861.

FAO. (1997). Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición – 57. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.

Farfán, M., Villalón, M.J., Ortiz, M.E., Nieto, S., and Bouchon, P. (2013). The effect of interesterification on the bioavailability of fatty acids in structured lipids. *Food Chemistry*, 139:571-577.

Fauzi, S.H.M., Rashid, N.A., and Omar, Z. (2013). Effects of chemical interesterification on the physicochemical, microstructural and thermal properties of palm stearin, palm kernel oil and soybean oil blends. *Food Chemistry*, 137:8-17.

Gao, M., Yan, Y-Q., and Lin, X. (2013). Alkali-Catalyzed Transesterification of Palm Oil by Ultrasonication. *Advanced Materials Research*, 803:13-16.

García, S.D., Sandoval, A.J., Saldaña, R, R., Cárdenas, R. G., Saplin, R.J.A., Sotero, S.V., Pavon, T.R. y Mancin, F.J. (2008). Fraccionamiento e interesterificación del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) cultivado en la amazonia peruana. Grasas y aceites, 59 (2), pp. 104-109.

Gustone, F.D. (2004). The chemistry of oils and fats, CRC Press.

Hailu, G., Boecker, A., Henson, S., and Cranfield, J. (2009). Consumer valuation of functional foods and nutraceuticals in Canada. A conjoint study using probiotics. *Appetite*, 52:257–265.

- Hasler, C.M. (2000). The changing face of functional foods. *Journal of the American College of Nutrition*, 19:499–506.
- Hasler, C. M., and Brown, A. C. (2009). Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 109:735-746.
- Herawan, T., and Klaas, M.R.G. (2014). Lipase-Catalyzed Transesterification of Palm Kernel Oil with Dialkylcarbonates. *American Journal of Applied Sciences*, 11:1212-1223.
- Hermizi, H., Faizah, O., and Ima-Nirwana, S. (2009). Beneficial effects of tocotrienol and tocopherol on bone histomorphometric parameters in Sprague-Dawley male rats after nicotine cessation. *Calcified. Tissue International*, 84:65-74.
- Huang, Y.S. (2007). Lipids as Functional Foods, En: Lipids as Functional Food. Ed. C.T. Hou y J.-F. Shaw. CRC Press: Boca Raton, FL.
- ILSI. (1999). Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria. International Life Sciences Institute North America Technical Committee on Food Components for Health Promotion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39:203-316.
- Irma-Nirwana, S., Suhana, M.R.E., Fadziyah, M.A.S., Farihah, H.S., Fairus, A., and Alfakri, M.N.M. (2012). Piper sarmentosum improves bone structure and biomechanical strength of rats given excess glucocorticoid. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 2:168-187.
- Jensen, R.G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85:295-350.
- Kasai, M., Maki, H., Nosaka, N., Aoyama, T., Ooyama, K., and Uto, H. (2003). Effect of medium-chain triglycerides on the postprandial triglyceride concentration in healthy men. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67:46–53.

- Kellens, M. (2000). Oil Modification processes, in Edible oil procesing. Eds. Hamm and Hamilton, Sheffield Academic press.
- Kim, I.H., Garcia, H.S., and Hill, C.G. (2007). Phospholipase a_1 catalyzed synthesis of phospholipids enriched in *n*-3 polyunsaturated fatty acid residues. *Enzyme and Microbial Technology*, 40:1130–1135.
- Knauf, V.C., and Del Vecchio, A.J. (2002). Genetic engineering of crops that produce vegetable oil, in “Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology,” (Eds.), C.C. Akoh and D.B. Min. (pp.967-996). Marcel Dekker, Inc., New York.
- Kono, H., Fujii, H., Asakawa, M., Maki, A., Amemiya, H., and Hirai, Y. (2004). Medium chain triglycerides enhance secretory IgA expression in rat intestine after administration of endotoxin. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 286;1085-1089.
- Krotkiewski, M. (2001). Value of VLCD supplementation with medium chain triglycerides. *International Journal of Obesity*, 25;1393–1400.
- Lai, O.M., (2005). Palm oil, its fractions and components in “Healthfyl Lipids”, eds. C.C. Akoh and O. M. Lai, pp. 731-749. AOCS Press, Champaign, IL.
- Leal M.J.L. (1989). La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) estudio de caso en la costa de Chiapas. Chapingo, México.
- Lehninger, A.L. (1997). Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y la Función celular. 3ra ed. Omega. Barcelona.
- Liu, K.J., Chang, H.M., and Liu, K.M. (2007). Enzymatic synthesis of cocoa butter analog trough interesterification of lard and tristearin in supercritical carbon dioxide by lipase. *Food Chemistry*, 100:1303-1311.
- Long, K., Ghazali, H.M., Arriff, A. and Bucke, C. (1997). Acidolysis of several vegetable oils by micelium- bound lipase of *Aspergillius flavus* link. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74: 1121-1128.

- Marten, B., Pfeuffer, M., and Schrezenmeir, J. (2006). Review medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16:1374–1382.
- Mathews, C.K. (2002). Bioquímica. 3ra ed. Addison Wesley. Madrid.
- May, C.Y., and Nesaretnam, K. (2014). Research advancements in palm oil nutrition. *European Journal Lipid Science Technology*, 116:1301-1315.
- Mesa, M.D. (2005). Lípidos como alimentos funcionales, En: Lípidos como alimentos funcionales. FECYT. Madrid.
- Moreno-Safra, N., y Perea-Villamil, A. (2008). Producción de lípidos estructurados por transesterificación enzimática del aceite de soja y aceite de palmiste en reactor de lecho empacado. *Grasas y aceites*. 59:337-345.
- Nagao, K., and Yanagita, T. (2010). Medium-chain fatty acids: Functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Pharmacological Research*, 61:208-212.
- Nesaretnam, K., Ambra, R., Selvaduray, K.R., and Radhakrishnan, A. (2004). Tocotrienol-rich fraction from palm oil affects gene expression in tumors resulting from MCF-7 cell inoculation in athymic mice. *Lipids*, 39:459-467.
- Nesaretnam, K., Koon, T.H., Selvaduray, K.R., Bruno, R.S., and Ho, E. (2008). Modulation of cell growth and apoptosis response in human prostate cancer cells supplemented with tocotrienols. *European Journal of Lipid Science Technology*, 110:23-31.
- Otero, C., López-Hernández, A., García, H.S., Hernández-Martín, E., and Hill, C.G. Jr. (2006). Continuous enzymatic transesterification of sesame oil and a fully hydrogenated fat: effects of reaction conditions on product characteristics. *Biotechnology and Bioengineering*, 94:877-87.
- Paivi, A.L., Balcão, V.M., and Malcata, F.X. (2000). Kinetics and mechanisms of reactions catalyzed by immobilized lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 27:187-204.

- Palacios, P.A., Ku, N. R., Estrada, V.J.D., y Tucuch, C.M. (2003). Cadena agroalimentaria e industrial de Palma de aceite. COFRUPO. Fundación produce Campeche, A.C. INIFAP. Campeche, México.
- Palla C.A., y Carrin M.E. (2014). 0% Trans: Interesterificación y fraccionamiento como estrategias tecnológicas. *Ciencia e Invetigacion*. 64: 21-34.
- Palou, O.A., Picó S.C., Bonet P.M.A., Serra V.F., Oliver V.P., y Rodríguez G.A.M., Ribiot R.J. (2008). Lípidos: Definición, funciones y principales tipos de las grasas alimentarias. El libro Blanco de las Grasas en la alimentación Funcional. España.
- Pande, G., and Akoh, C.C. (2013). Enzymatic synthesis of trans-free structured margarine fat analogs with high stearate soybean oil and palm stearin and their characterization. *LWT-Food Science and Technology*, 50:232-239.
- Rincón, M.S.M., y Martínez, C.D.M. (2009). Análisis de las propiedades del aceite de palma en el desarrollo de su industria. *Revista Palmas*, 30:11-24.
- Ronis, M.J.J., Korourian, S., Zipperman, M., Hakkak, R., and Badger, T.M. (2004). Dietary saturated fat reduces alcoholic hepatotoxicity in rats by altering fatty acid metabolism and membrane composition. *Journal of Nutrition*, 134;904-912.
- Ronne, T.H., Yang, T.K., Mu, H.L., Jacobsen, C., and Xu, X.B. (2005). Enzymatic interesterification of butterfat with rapeseed oil in a continuous packed bed reactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:5617-5624.
- SAGARPA. (2011). Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sur-Sureste de México: Trópico Húmedo 2011. Paquete Tecnológico Palma de Aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). Establecimiento y mantenimiento. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- SAGARPA. (2010). Monografía de cultivos. Palma de aceite. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

- Santos-Badenes, G., y Soriano del Castillo, J.M. (2006). Nutrición básica humana. Capítulo 14 en Componentes biológicamente activos de los alimentos. Publicaciones Universidad de Valencia. España.
- Sáyago-Ayerdi, S.G., Vaquero, M.P., Schultz-Moreira, A., Bastida, S., y Sanchez-Muniz, F.J. (2008). Utilidad y controversia del consumo de ácidos grasos de cadena media sobre el metabolismo lipoproteico y obesidad. *Nutrición Hospitalaria*, 23:191-202.
- Selvaduray, K.R., Radhakrishnan, A.K., Kutty, M.K., and Nesaretnam, K. (2011). Palm tocotrienols decrease levels of pro-angiogenic markers in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and murine mammary cancer cells. *Genes and Nutrition*, 7:53-61.
- Siró, I., Kápolna, E., Kapólna B., and Lugasi, A. (2008), Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. *Appetite*, 51:456-467.
- Stanley, J.C. (2008). The Nutritional Reputation of Palm Oil. *Lipid Technology*, 20:112-114.
- St Onge, M.P., Ross, R., Parsons, W.D., and Jones, P.J.H. (2003). Medium-chain triglycerides increase energy expenditure and decrease adiposity in overweight men. *Obesity Research*, 11:395-402.
- Tang, T.S. (2000). Composition and properties of palm oil products in "Advances in Oil Palm Research", (Eds.), Y. Basiron, B.S. Jalani, and K.W. Chan. Vol. 2. (pp. 845-894.), Malaysian Oil Palm Board.
- Thakur, N., Gupta, B. P., Nagariya, A. K., Jain, N. P., Banweer, J., and Jain, S. (2010). Nutraceutical: New era's safe pharmaceuticals. *Journal of Pharmacy Research*, 3:1243-1247.
- Torres, C.F., Lin, B., Moeljadi, M., and Hill, C.G. (2003). Lipase-catalysed synthesis of designer acylglycerols rich in residues of eicosapentaenoic, docosahexaenoic, conjugated linoleic, and/or stearic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105:614-623.

- Traul, K.A., Driedger, A., Ingle, D.L., and Nakhasi, D. (2000). Review of the toxicologic properties of medium-chain triglycerides. *Food and Chemical Toxicology*, 38:79–98.
- Trujillo-Castillo, LF., Velásquez-Martínez, JR., López-Hernández, E. y Gómez-Vásquez, A. (2010). Palma de Aceite Africana, en J. Velásquez Martínez y A. Gómez Vásquez, ed., *Palma Africana en Tabasco*, 1ra ed. Villahermosa Tabasco: Universidad Autónoma de Tabasco, p. 13.
- Valenzuela A., and Nieto S. (1994). Biotechnology of lipids. The use of lipases for the structural modification of fats and oils. *Grasas y aceites*, 45:337-343.
- Valenzuela A., y Sanhueza J. (2008). Estructura de lípidos y sustitutos de grasas. ¿Lípidos del futuro?. *Aceites y grasas*, 135:394-404.
- Velásquez-Martínez, J.R., y Gómez-Vásquez, A. (2010). *Palma Africana en Tabasco*. UJAT. Tabasco, México.
- Willis, W.M., Lenki, R.W., and Marangoni, A.G. (1998). Lipid modification strategies in the production of nutritionally functional fats and oils. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38:639-674.
- Xu X. (2000). Enzymatic production of structured lipids: Process reactions and acyl migration. *Inform*, 11:1121-1131.
- Yamane, T., Tomomasa, S., Sahashi, Y., Vikersveen, L. and Hoshino, T. (1992). Production of n-3 PUFA-enriched fish oil by lipase- catalyzed acidolysis without solvent. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69: 1104-1107.
- Yamane, T., Suzuki, T. and Hoshino, T. (1993). Increasing n-3 polyunsaturated fatty acid content of fish oil by temperature control of lipase- catalyzed acidolysis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70: 1285-1287.
- Yang, T., Rebsdorf, M., Engelrud, U., and Xu, X. (2005). Synthesis via enzymatic glycerolysis using a simple and efficient reaction system. *Journal of Food Lipids*, 12: 299-312.

Yuen M.C. (2013). Innovation towards enhancing the value of oils and fats. *Revista Palmas*, 34;251-261.

Zhu, X.M., Hu, J.N., Xue, C.L., Lee, J.H., Shin, J.A., Hong, S.T., Sung, C.K., and Lee, K.T. (2012). Physiochemical and oxidative stability of interesterified structured lipid for soft margarine fat containing Δ^5 -UPIFAs. *Food Chemistry*, 131:533-540.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Síntesis de un lípido estructurado con elevado contenido de ácidos grasos de cadena media a partir de aceite de palma africana (*Elaeis guineensis* jacq.)

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	archivos.ujat.mx Internet	623 palabras — 9%
2	docplayer.es Internet	159 palabras — 2%
3	www.scribd.com Internet	126 palabras — 2%
4	www.aargentinapciencias.org Internet	106 palabras — 1%
5	rinacional.tecnm.mx Internet	71 palabras — 1%
6	bc201622209.wordpress.com Internet	48 palabras — 1%
7	repositorio.uchile.cl Internet	44 palabras — 1%
8	dspace.unitru.edu.pe Internet	42 palabras — 1%
9	noesis.uis.edu.co Internet	40 palabras — 1%

10	infomedicinales.blogspot.com Internet	39 palabras — 1%
11	sites.google.com Internet	21 palabras — < 1%
12	www.scielo.org.mx Internet	21 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 20 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.