



# Transesterificación enzimática de aceite de palma como alternativa para producción de alimentos libres de grasas *trans*



**INNOVACIÓN Y SOSTENIBILIDAD  
EN PALMA DE ACEITE**  
Nutriendo Personas y Protegiendo el Planeta

26, 27 y 28 de septiembre de 2018  
Centro de Convenciones Cartagena de Indias, Colombia

Gina López R Ph.D / Sandra Baena Ph.D

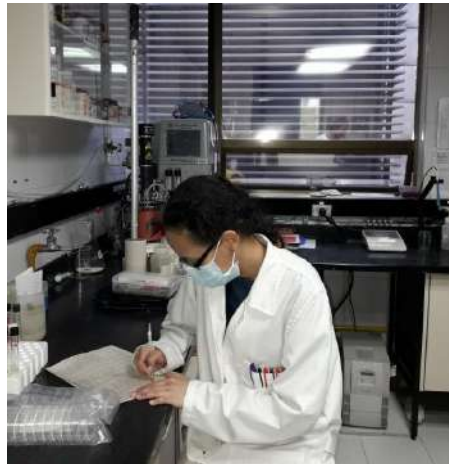
Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental  
Departamento de Biología  
Pontificia Universidad Javeriana  
2018

**UNIDAD DE SANEAMIENTO Y  
BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL  
- USBA**

Facultad de Ciencias

**Línea de investigación**

Diversidad biológica aplicada a la  
biotecnología ambiental



# Contenido

1. Enzimas lipolíticas como agentes de transformación
2. Procesos verdes
3. Actividad de las enzimas lipolíticas
4. ¿Dónde intervienen las enzimas lipolíticas? – Procesos biotecnológicos
5. Grasas *cis* vs *trans*
6. Aceite de palma y las grasas *trans*
7. Sustitutos e imitadores de grasas
8. Enzimas lipolíticas y producción de grasas tipo *trans*
9. Otras enzimas lipolíticas - USBA



**BIO** - CATALIZADOR



# Procesos verdes



Generación de productos con mayor alcance nutricional.  
(Transformación de alimentos vía biológica)



<http://www.tekton.es/wp-content/uploads/2014/05/Imagen-Post-semana-5-al-11-de-mayo.jpg>

Disminución de compuestos colaterales que no son de interés dentro del proceso

Reducción de sustancias indeseables en los procesos industriales

# Enzimas lipolíticas como agentes de transformación



Transesterificación enzimática de  
aceite de palma como alternativa  
para producción de alimentos libres  
de grasas *trans*



# ENZIMAS LIPOLÍTICAS

## Hidrólisis de enlaces ester



## Formación de enlaces ester



## Transformación de enlaces ester



## INDUSTRIA OLEOQUÍMICA

Transesterificación



<https://lipogen-ig.com/materias-primas/aceite-crudo-palmiste/>

[http://todaystrucking.com/images/usr\\_110909170419\\_greenfuel-logo.jpg](http://todaystrucking.com/images/usr_110909170419_greenfuel-logo.jpg)

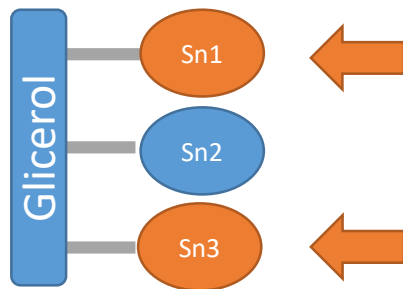
## INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Enantioselectividad

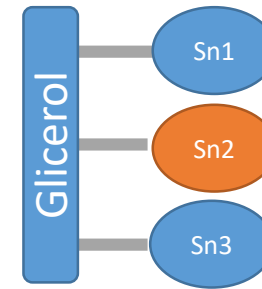


# PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

## INDUSTRIA ALIMENTOS

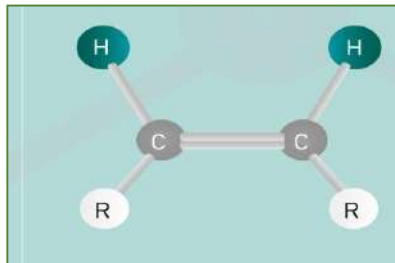


Regioselectividad

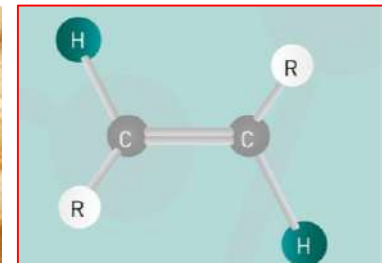


Interesterificaciones

# Grasas *Cis* y Grasas *Trans*



Aumentan  
el colesterol  
**HDL**



Elevan el  
colesterol  
**LDL**

<https://www.mipielsana.com/wp-content/uploads/2015/02/Grasas-buenas-vs-grasas-malas.jpg>

**Hidrogenación**



**Enzimas lipolíticas  
(Interesterificaciones)**



# Aceite de palma y las grasas *trans*

El aceite de palma debido a que carecen de ácidos grasos tipo *trans*, **no requiere de hidrogenación** para fabricar grasas sólidas o semisólidas (Rincón & Martínez, 2009).



Ley 1355 de 2009 y las Resoluciones No. 333 de 2011 y No. 2508 de 2012 (Colombia).

# Sustitutos e imitadores de grasas

- Los nuevos sustitutos deben brindar a los productos formulados las mismas propiedades organolépticas y físicas
- Tener igual o mayor vida útil.
- Estabilidad térmica y oxidativa
- No tener efectos nocivos

Table 2 Contribution of various foods to trans fat intake in the diet

Food group	Contribution (per cent of total trans fats consumed)
Cakes, cookies, crackers, bread etc.	40
Animal products	21
Margarine	7
Fried potatoes	8
Potato chips, corn chips, popcorn	5
Household shortening	4
Breakfast cereals and candy etc.	5

Tomado: Dhaka et al., 2011

A low *trans* margarine fat analog to beef tallow for healthier formulations:  
Optimization of enzymatic interesterification using soybean oil and fully hydrogenated palm oil

Ying Li<sup>a,b</sup>, Jinli Zhao<sup>a,1</sup>, Xiaodong Xie<sup>a,b</sup>, Zhen Zhang<sup>b</sup>, Ning Zhang<sup>a,b,4</sup>, Yong Wang<sup>a,b,5</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Science and Engineering, College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China

<sup>b</sup> Guangdong Engineering Technology Research Center for Oils and Fats Biorefinery, Guangdong Engineering Technology Research Center for Cereals and Oils Byproducts Biorefinery, Guangzhou 510632, China

**Table 1**

Acidity, peroxide value and total fatty acids of soybean oils (SO), fully hydrogenated palm oils (FHPO), interesterified oils (IO) and beef tallow (BT), triacylglycerol (TAG) species; melting point, *sn*-2 positional and *trans* fatty acids of the SO-FHPO blend, IO and BT.

	Soybean oil	FHPO	Interesterified oil	Beef tallow
Acid value (mg KOH/g)	0.097 ± 0.03	1.94 ± 0.01	1.96 ± 0.06	
Peroxide value (mmol/kg)	1.90 ± 0.06	0.60 ± 0.01	1.02 ± 0.01	
Fatty acid composition (%)				
Lauric acid (C12:0)				3.5 ± 0.01
Myristic acid (C14:0)				0.7 ± 0.05
Pentadecanoic acid (C15:0)				0.9 ± 0.05
Palmitic acid (C16:0)	10.9 ± 0.10	58.8 ± 0.83	31.3 ± 0.26	27.4 ± 0.10
Palmitoleic acid (C16:1)				2.9 ± 0.08
Heptadecanoic acid (C17:0)				1.20 ± 0.01
Stearic acid (C18:0)	3.9 ± 0.10	41.2 ± 0.77	21.3 ± 0.14	21.9 ± 0.11
Oleic acid (C18:1)	24.5 ± 0.23		16.6 ± 0.10	38.4 ± 0.03
Linoleic acid (C18:2)	54.8 ± 0.18		27.9 ± 0.08	2.5 ± 0.08
α-Linolenic acid (C18:3)	5.9 ± 0.16		2.9 ± 0.05	0.3 ± 0.08
Arachidic acid (C20:0)				0.2 ± 0.01
Eicosenoic acid (C20:1)				0.1 ± 0.01
UFAs	85.2 ± 0.20		47.4 ± 0.20	44.2 ± 0.06
SFAs	14.8 ± 0.10	100.0 ± 0.80	52.6 ± 0.12	55.8 ± 0.05
SO-FHPO blend			Interesterified oil	Beef tallow
Melting point (°C)	53.1		48.8	56.1
<i>sn</i> -2 positional fatty acid composition (%)				
C16:0	42.07 ± 0.51		48.95 ± 0.53	53.25 ± 0.59
C18:0	30.64 ± 0.53		21.45 ± 0.48	23.22 ± 0.57
C18:1	9.64 ± 0.35		21.97 ± 0.31	19.26 ± 0.40
C18:2	17.64 ± 0.74		7.63 ± 0.71	4.28 ± 0.76
<i>trans</i> fatty acid composition (%)				
Oleic acid (C18:1t)	N.D.		N.D.	3.36 ± 0.04
Linoleic acid (C18:2t)	0.49 ± 0.03		0.28 ± 0.04	0.65 ± 0.03
α-Linolenic acid (C18:3t)	0.69 ± 0.03		0.39 ± 0.03	0.14 ± 0.05
TFAs	1.18 ± 0.03		0.67 ± 0.04	4.15 ± 0.04
Triacylglycerol species (%)				
C <sub>16</sub> C <sub>16</sub> C <sub>16</sub>	11.6 ± 0.2		5.4 ± 0.06	9.7 ± 0.18
C <sub>16</sub> C <sub>16</sub> C <sub>18</sub>	19.5 ± 0.1		23.7 ± 0.10	21.0 ± 0.34
C <sub>16</sub> C <sub>18</sub> C <sub>18</sub>	28.9 ± 0.05		44.1 ± 0.20	48.4 ± 0.05
C <sub>18</sub> C <sub>18</sub> C <sub>18</sub>	40.0 ± 0.03		26.8 ± 0.40	20.9 ± 0.22

UFAs: unsaturated fatty acids; SFAs: saturated fatty acids; TFAs: *trans* fatty acids; N.D.: not detected.

Research article | Open Access

# Enzymatic transesterification of palm stearin and olein blends to produce zero-trans margarine fat

Mohamed Sellami, Hanen Ghamgui, Fakher Frikha, Youssef Gargouri and Nabil Miled

BMC Biotechnology 2012 12:48  
<https://doi.org/10.1186/1472-6750-12-48> © Sellami et al.; licensee BioMed Central Ltd. 2012

Received: 5 August 2011 | Accepted: 2 August 2012 | Published: 13 August 2012

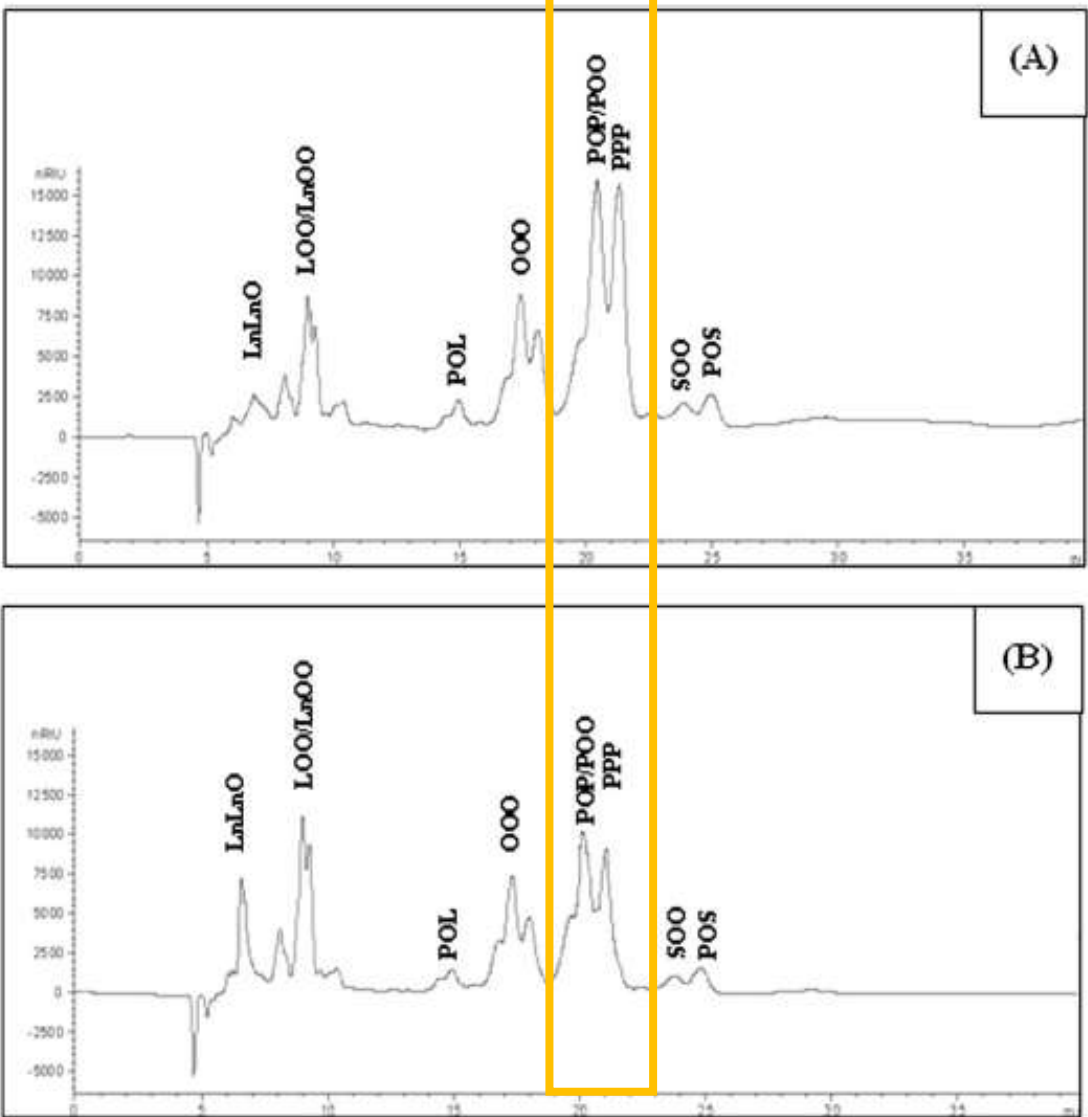


Figure 2 HPLC Chromatograms of (A) non-transesterified and (B) transesterified palm stearin and palm olein blend (40:60) obtained after 24 h of reaction time (P, Palmitic; O, oleic acid; L, linoleic; Ln, Linolenic acid; S, stearic acid).

Original article

## Production of trans-free margarine fat by enzymatic interesterification of soy bean oil, palm stearin and coconut stearin blend

Ruttiya Lakum  & Sopark Sonwai\*

Department of Food Technology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University, Nakhonpathom 73000, Thailand

**Table 2** Triacylglycerol composition of soybean oil (SBO), palm stearin (PS), coconut stearin (CNS), physical blend PB3 and its structured lipid SL3

TAG species	ECN	SBO	PS	CNS	PB3	SL3
CpCLa	30	ND	ND	1.6 ± 0.00 <sup>a</sup>	ND	ND
CCLa	32	ND	ND	7.51 ± 0.71 <sup>b</sup>	1.42 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.62 ± 1.81 <sup>b</sup>
CLaLa	34	ND	ND	12.23 ± 0.70 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.75 ± 0.44 <sup>b</sup>
LaLaLa	36	ND	ND	17.36 ± 0.99 <sup>c</sup>	0.76 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.06 <sup>b</sup>
LLnLn	38	2.54 ± 0.10 <sup>b</sup>	ND	ND	1.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.32 ± 0.07 <sup>a</sup>
LaLaM	38	ND	ND	19.24 ± 0.22 <sup>c</sup>	0.58 ± 0.13 <sup>a</sup>	5.61 ± 0.25 <sup>b</sup>
LLLn	40	13.88 ± 0.06 <sup>c</sup>	ND	ND	8.88 ± 0.16 <sup>b</sup>	2.93 ± 0.06 <sup>a</sup>
LaLaO	40	ND	ND	1.04 ± 0.03 <sup>a</sup>	ND	ND
LaMM	40	ND	ND	17.36 ± 0.67 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.15 ± 0.07 <sup>b</sup>
LaLaP	40	ND	ND	0.63 ± 0.11 <sup>a</sup>	ND	ND
LLL	42	21.41 ± 0.20 <sup>c</sup>	ND	ND	15.96 ± 0.27 <sup>b</sup>	1.09 ± 0.24 <sup>a</sup>
PoLL	42	6.44 ± 0.48 <sup>c</sup>	ND	ND	4.19 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.09 <sup>a</sup>
OLLn	42	5.87 ± 0.56 <sup>b</sup>	ND	ND	3.77 ± 0.15 <sup>a</sup>	7.75 ± 0.05 <sup>c</sup>
LaMO	42	ND	ND	2.66 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>a</sup>	9.62 ± 0.09 <sup>c</sup>
LaMP	42	ND	ND	6.13 ± 0.59 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>
OLL	44	15.94 ± 0.20 <sup>d</sup>	1.45 ± 0.42 <sup>a</sup>	ND	11.53 ± 0.14 <sup>c</sup>	3.16 ± 0.18 <sup>b</sup>
PLL	44	15.6 ± 0.57 <sup>d</sup>	5.06 ± 0.82 <sup>a</sup>	ND	12.56 ± 0.22 <sup>c</sup>	6.92 ± 0.14 <sup>b</sup>
LaOO	44	ND	ND	2.38 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.83 ± 0.45 <sup>c</sup>
LaPO	44	ND	ND	2.29 ± 0.54 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.02 <sup>a</sup>	8.36 ± 0.01 <sup>c</sup>
LaPP+MMO	44	ND	ND	2.62 ± 0.43 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.07 <sup>b</sup>
MMP	44	ND	ND	1.75 ± 0.37 <sup>a</sup>	ND	ND
OLO	46	5.54 ± 0.02 <sup>d</sup>	3.76 ± 0.28 <sup>b</sup>	ND	4.85 ± 0.05 <sup>c</sup>	2.67 ± 0.14 <sup>a</sup>
PLO/OLP	46	8.44 ± 0.14 <sup>b</sup>	17.85 ± 0.74 <sup>d</sup>	2.43 ± 0.22 <sup>a</sup>	10.05 ± 0.19 <sup>c</sup>	10.16 ± 0.31 <sup>c</sup>
PPL	46	1.28 ± 0.03 <sup>a</sup>	21.64 ± 1.24 <sup>d</sup>	ND	6.46 ± 0.16 <sup>b</sup>	9.74 ± 0.32 <sup>c</sup>
POM	46	ND	0.59 ± 0.22 <sup>cd</sup>	0.72 ± 0.10 <sup>d</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>bc</sup>
OOO	48	2.44 ± 0.13 <sup>c</sup>	3.11 ± 0.29 <sup>d</sup>	0.37 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.29 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.16 <sup>a</sup>
POO	48	0.62 ± 0.01 <sup>a</sup>	13.98 ± 0.77 <sup>d</sup>	0.96 ± 0.09 <sup>ab</sup>	4.59 ± 0.16 <sup>c</sup>	1.66 ± 0.04 <sup>b</sup>
POP	48	ND	21.24 ± 0.83 <sup>d</sup>	0.74 ± 0.07 <sup>a</sup>	5.47 ± 0.15 <sup>c</sup>	2.16 ± 0.01 <sup>b</sup>
PPP	48	ND	4.53 ± 0.37 <sup>c</sup>	ND	1.19 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.07 <sup>a</sup>
SOO	50	ND	1.78 ± 0.82 <sup>b</sup>	ND	0.56 ± 0.34 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.12 <sup>a</sup>
POS	50	ND	4.07 ± 0.92 <sup>b</sup>	ND	0.67 ± 0.28 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.04 <sup>a</sup>
PPS	50	ND	0.94 ± 0.03 <sup>b</sup>	ND	0.32 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.03 <sup>a</sup>

Cp, caprylic acid; C, capric acid; La, lauric acid; M, myristic acid; P, palmitic acid; Po, palmitoleic acid; S, stearic acid; O, Oleic acid; L, linoleic acid; Ln, linolenic acid; ND, not detected. Values followed by the same letters within the same row are not significantly different ( $P > 0.05$ ).

Equivalent carbon number (ECN) = CN - 2DB, where CN is carbon number of TAG and DB is total number of double bond in TAG.

# Enzimas comerciales

Table 1. Source of free and immobilised lipases used for biodiesel production

Lipase source	Commercial name	Supplier	Support	Reference
<i>Candida antarctica</i>	SP435	Novo	Acrylic resin <sup>(a)</sup>	Nelson <i>et al.</i> , 1996
	Novozym 435	Novo	Acrylic resin <sup>(a)</sup>	Shimada <i>et al.</i> , 1999
	Chirazyme L-2	Roche	None	(Lee <i>et al.</i> , 2002)
<i>Candida cylindracea</i>	OF	Meito Sangyo	None	Lara and Park 2004
<i>Candida rugosa</i>	-	Meito Sangyo	None	Kaieda <i>et al.</i> , 2001
<i>Chromobacterium viscoum</i>	-	Asahi	Celite-545 <sup>(b)</sup>	Shah <i>et al.</i> , 2004
<i>Cryptococcus</i> spp. S-2	Lipase produced in the researchers' laboratory		None	Kamini and Iefuji 2001
<i>Porcine pancreatic</i>	-	Sigma	Anion exchange resin <sup>(a)</sup>	Yesiloglu, 2004
<i>Pseudomonas cepacia</i>	PS	Amano	Sol-gel matrix <sup>(b)</sup>	Noureddini <i>et al.</i> , 2005
	PS	Amano	None	Kaieda <i>et al.</i> , 2001
	PS-30	Amano	None	Abigor <i>et al.</i> , 2000
	PS-30	Amano	Pyllosilicate sol-gel matrix <sup>(b)</sup>	Hsu <i>et al.</i> , 2002
	PS-D	Amano	Diatomaceous earth <sup>(a)</sup>	Salis <i>et al.</i> , 2005b
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	Rhöm GmbH	None	Mittlebach, 1990
	AK	Amano	None	Kaieda <i>et al.</i> , 2001
	AK	Amano	Porous kaolinite <sup>(b)</sup>	Iso <i>et al.</i> , 2001
	AK	Amano	Polypropylene EP100 <sup>(b)</sup>	Soumanou and Bornscheuer, 2003b
<i>Mucor Miehei</i>	Lipozyme IM60	Novo	Anion exchange resin <sup>(a)</sup>	Nelson <i>et al.</i> , 1996
<i>Rhizopus oryzae</i>	F-AP15	Amano	None	Kaieda <i>et al.</i> , 1999
<i>Thermomyces lanuginosa</i>	Lipozyme TL IM	Novo	Acrylic resin <sup>(a)</sup>	Du <i>et al.</i> , 2003
	-	Novo	Pyllosilicate sol-gel matrix <sup>(b)</sup>	Hsu <i>et al.</i> , 2004b

<sup>(a)</sup> : Commercially available immobilised lipases.

<sup>(b)</sup> : Lipases immobilised by researchers in their own laboratories.

Polaina, 2007. Industrial Enzymes. Springlink

# Exploración de la diversidad y búsqueda de microorganismos lipolíticos



Colombia megadiverso



> 3500 m.s.n.m

Ambientes poco comunes

Diversidad microbiana de ambientes extremos

Colección de extremófilos con aplicaciones industriales



Catalizadores biológicos para transformación eficiente de materias primas y productos naturales

# ¿Qué hemos obtenido?

	Fracciones enzimáticas	Enzimas lipolíticas
	10 FE	3
Características	499EST (López et al., 2014)	505LIP (Bernal et al., 2016)
Temperatura	55 (30 – 70)	55 (30 – 80)
pH óptimo	9.0 (5.0 – 11.0)	7.5 (6 – 10)
Sustratos lipídicos	Esterasa (C6 – C10)	Lipasa (C10 – C12)
Detergentes	Triton X100, Tween	Tween20
Iones metálicos	Fe <sup>3+</sup>	-
Solvente orgánicos	DMSO y glicerol	Metanol y glicerol

- Temperaturas y pH óptimas
- Preferencia por sustratos
- Actividad hidrolítica en triacilgliceridos
- Regioselectividad
- Estabilidad en presencia de solventes
- Estabilidad térmica
- Actividad en presencia de aditivos
- Ensayos de inmovilización



# Proyectos realizados

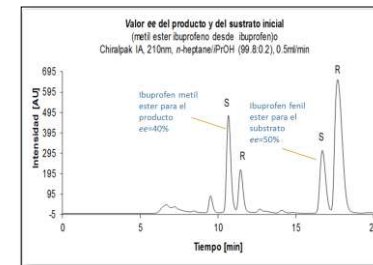
“Desarrollo de reacciones de transformación de oleorresinas de coníferas, triacilgliceroles y ácidos grasos usando enzimas lipolíticas”  
**Colciencias 642**

“Producción de esteres de enantiomeros S(+) de ibuprofeno y naproxeno por biocatálisis de la enzima inmovilizada 499EST” **Convocatoria PUJ** -Pruebas validación de concepto.

## Evaluación de la regioespecificidad de las enzimas



499EST, y 514FE son 1,3 regioespecíficas, ya que sus cortes no afectaron la posición **2sn** de los triacilgliceroles



**A novel thermoalkalostable esterase from *Acidicoccus* sp. strain USBA-GBX-499 with enantioselectivity isolated from an acidic hot springs of Colombian Andes**

Gina López • Jennifer Chow • Patrick Bongen • Benjamin Lauinger • Jörg Pietruszka • Wolfgang R. Streit • Sandra Baena

Industria y Comercio  
SUPERINTENDENCIA

TODOS POR UN  
NUEVO PAÍS

REPÚBLICA DE COLOMBIA  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Resolución N° 63585

Ref. Expediente N° 14093195

Por la cual se otorga una Patente de invención

CONSIDERANDO:

**PRIMERO:** Que mediante escrito radicado en esta Superintendencia el 30 de abril de 2014 con el N° 14-093195-00000-0000, por CORPORACION CORPOGEN, PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA, presentó la solicitud de patente de invención titulada "ENZIMA ESTERASA MODIFICADA ENANTIOSELECTIVA Y PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE LA MISMA".

# ¿Qué se quiere alcanzar al usar este tipo de enzimas?

Reducción de  
costos por  
materias primas  
Importadas

Mayor  
utilización de  
materias primas  
Locales (**uso de  
biodiversidad**)

Reemplazo de  
síntesis química  
por síntesis  
biológica

Ingreso a  
mercado de  
alimentos  
naturales

Trabajar con tecnología local para desarrollar productos intermediarios que vayan acorde con la legislación nacional e internacional.



**Información nutricional**  
Tamaño de la porción 1/4 de taza (113 g)  
Porciones por envase 8

Cantidad por porción  
Calorías 100      Calorías de las grasas 20

% de valor diario\*

<b>Grasa total</b> 2g	3%
Grasas saturadas 1.5g	7%
Grasas trans 0g	
<b>Colesterol</b> 10mg	3%
<b>Sodio</b> 450mg	19%
<b>Total de carbohidratos</b> 4g	1%
Fibra 0g	0%
Azúcares 4g	
<b>Proteína</b> 16g	

Vitamina A 0%      •      Vitamina C 0%  
Calcio 8%      •      Hierro 0%

\*Porcentaje de valores diarios basados en una dieta de 2,000 calorías.

# GRACIAS