

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>TÍTULO:</b>                | PRODUCTION OF OMEGA-3 FATTY ACIDS ACYLGlycerides BY LIPASE-CATALYZED GLYCEROLYSIS OF SARDINE OIL IN DIFFERENT REACTION MEDIA                       |
| <b>AUTOR:</b>                 | GARCÍA SOLAES, ÁNGELA  |
| <b>PROGRAMA DE DOCTORADO:</b> | AVANCES EN CIENCIA Y BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIAS  |
| <b>FECHA LECTURA:</b>         | 24/11/2017   |
| <b>HORA:</b>                  | 11:30  |
| <b>CENTRO LECTURA:</b>        | FACULTAD DE CIENCIAS. SALÓN DE ACTOS   |
| <b>DIRECTORAS:</b>            | MARÍA TERESA SANZ DÍEZ – SAGRARIO BELTRÁN CALVO  |
| <b>TRIBUNAL:</b>              | JUAN FRANCISCO RODRÍGUEZ ROMERO<br>ÓCAR BENITO ROMÁN<br>TIZIANA FORNARI REALE<br>ANA ALEXANDRA FIGUEREIDO MATIAS<br>BIANCA CELIDET PÉREZ DE LUCANI |

**RESUMEN:** La producción de concentrados de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (AGPI n-3) continúa siendo un tema de interés tanto en la industria farmacéutica como en la alimentaria. Son muy conocidos los efectos beneficiosos en la prevención y reducción de enfermedades de origen cardiovascular e inflamatorio que presentan los principales AGPI n-3, en concreto el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA). Ahora bien, no todas las formas químicas de los AGPI n-3 presentan las mismas propiedades. La biodisponibilidad y la susceptibilidad a la oxidación lipídica de los concentrados de AGPI n-3 dependen de su estructura molecular, siendo los monoglicéridos y diglicéridos (MAG y DAG) de AGPI n-3 altamente biodisponibles y estables a la oxidación lipídica. Además, presentan excelentes propiedades emulsificantes, por lo que son muy usados en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica. Teniendo esto en cuenta y las ventajas que presenta la tecnología enzimática en la formación de estos compuestos, en esta Tesis Doctoral se ha estudiado la producción de MAG ricos en AGPI n-3 mediante glicerolisis catalizada por lipasas abordando diferentes sistemas para llevarla a cabo. El principal inconveniente de este proceso es la inmiscibilidad de los sustratos, por lo que el enfoque de esta tesis es el estudio de diferentes estrategias para mejorar el contacto entre el aceite de sardina y el glicerol para así conseguir altos rendimientos de reacción. Se ha estudiado el uso de tert-alcoholes, surfactantes, CO<sub>2</sub> supercrítico y la emulsificación de los sustratos para llevar a cabo la glicerolisis enzimática. En estos sistemas de reacción se ha investigado el efecto de diferentes variables como son el tipo y la cantidad de lipasa, la temperatura de reacción y la relación molar de sustratos. La oxidación lipídica del aceite de sardina y de los productos de reacción también fue evaluada. En este sentido se ha demostrado que las lipasas inmovilizadas son capaces de adsorber los productos de oxidación, tanto primarios como secundarios, formados durante la reacción de glicerolisis. Además del estudio de la glicerolisis enzimática, otro objetivo de esta Tesis, fue la optimización del proceso de destilación molecular para fraccionar los productos de reacción y concentrar los MAG ricos en AGPI n-3. Se evaluaron diferentes temperaturas de evaporación para maximizar la recuperación de los MAG con alta pureza.

Production of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) concentrates is of great interest for both the pharmaceutical and the food industries. It is well known that the main n-3 PUFA, eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids, have beneficial effects on the prevention and reduction of cardiovascular and inflammatory diseases. However, not all the chemical forms of n-3 PUFA are equal. The bioavailability and susceptibility to oxidation of n-3 PUFA concentrates depend on their molecular structure. Monoacylglycerides and diacylglycerides (MAG and DAG) containing n-3 PUFA present good bioavailability and oxidation stability. Moreover, they present excellent emulsifying properties, being widely used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries. Taking into account these considerations and the advantages of enzymatic technology in the formation of this kind of products, this Thesis is focused on the production of MAG rich in n-3 PUFA by a lipase-catalyzed glycerolysis reaction in different reaction systems. The main drawback of this process is the immiscibility of the substrates; therefore the main challenge of this Thesis is the evaluation of different possibilities to improve the contact between sardine oil and glycerol to achieve high yields of the reaction products. The use of tert-alcohols, surfactants, supercritical CO<sub>2</sub> and a substrate emulsification process are the different alternatives studied in this thesis to carry out the lipase-catalyzed glycerolysis. The effect of different operating variables such as type of lipase, lipase loading, temperature and substrate mole ratio on the kinetic parameters was investigated in the different reaction systems. The lipid oxidation of sardine oil and reaction products has been also evaluated. In this sense, immobilized commercial lipases have showed good adsorption capacity of the oxidation products formed during the glycerolysis reaction. In addition to the study of the lipase-catalyzed glycerolysis reaction, in this PhD Thesis a molecular distillation process to fractionate the reaction products and concentrate the MAG rich in n-3 PUFA has been also optimized. Different evaporation temperatures were evaluated to maximize the MAG recovery at high purity in the distillate product.