

Aislamiento de Acidos Grasos Poli-Insaturados por Complejación con Urea

MARIA A. GROMPONE

Facultad de Química, Casilla de Correo 1157,
Montevideo, Uruguay

RESUMEN. Se estudió la complejación con urea del aceite de lobo marino uruguayo (*Arctocephalus australis* Zim.) para obtener concentrados enriquecidos en ácidos grasos poli-insaturados de la serie omega-3. El mejor procedimiento para obtener concentrados de alto contenido en ácidos grasos poli-insaturados usa etanol como solvente y un proceso en dos etapas, la segunda de las cuales consiste en el agregado de urea a las FNCU obtenidas. Cuando se obtiene dicho concentrado a partir de ácidos grasos del aceite de lobo marino, el contenido total en ácidos poli-insaturados es del orden del 90% con un rendimiento global del 17%. La eficiencia de recuperación total en poli-insaturados es del 78%. Este procedimiento es muy simple y relativamente barato.

SUMMARY. "Isolation of Polyunsaturated Fatty Acids by Urea Complexation". The urea complexation of the Uruguayan fur seal oil (*Arctocephalus australis* Zim), was studied in order to obtain enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) concentrates. Ethanol as a solvent and a two steps process (the second step consists of the addition of urea) is the most useful procedure to obtain a concentrate of higher PUFAs content using urea complexation of the free fatty acids from marine oils. When the concentrate is obtained from fur seal fatty acids, the total PUFAs content is of 90% with an overall yield of 17%. The recovery efficiency of total PUFAs is 78%. This procedure is very simple and relatively cheap.

INTRODUCCION

Los aceites de origen marino constituyen una fuente importante de ácidos grasos poli-insaturados pertenecientes a la familia ω -3. Debido a sus efectos profilácticos y terapéuticos ^{1, 2} interesa la obtención de concentrados, ya sea bajo forma de triglicéridos, de ésteres etílicos o metílicos o de

ácidos grasos libres. Con los métodos actuales de producción (frigelización controlada o cristalización fraccionada con solventes) no es posible obtener concentrados de aceites marinos bajo forma de triglicéridos con contenidos en ácidos poli-insaturados mayores del 30%. Si se emplean ácidos grasos libres o sus ésteres como materia prima, se

PALABRAS CLAVE: Complejación por urea; Acidos grasos omega-3; aceite de lobo marino; *Arctocephalus australis* Zim.; Concentrados de omega-3; ácidos grasos poli-insaturados; aceites marinos.

KEY WORDS: Urea complexation; Omega-3 fatty acids; Fur seal oil; *Arctocephalus australis* Zim., Polyunsaturated fatty acids; Omega-3 concentrates; Marine oils.

pueden obtener concentraciones de hasta un 50% por medio de la destilación fraccionada a vacío ³, cromatografía líquida de alta resolución ⁴, cromatografía con resinas argentadas ⁵ o extracción con fluidos supercríticos ⁶. Todos estos métodos tienen el inconveniente de usar equipos muy especializados o de tener un alto costo operativo.

La complejación por urea ⁷⁻¹⁰ es uno de los métodos más promisorios, ya que permite emplear grandes cantidades de materias primas con equipos simples y reactivos relativamente baratos. Este método se basa en la mayor facilidad de formación de compuestos de inclusión (aductos) con los ácidos grasos saturados y monoénicos que con los poliénicos.

En este trabajo se expone una modificación al método de complejación por urea utilizado por Ratnayake *et al.* ⁸, que permite obtener concentraciones mayores de ácidos poli-insaturados. Como materia prima se utilizó un aceite de lobo marino (*Arctocephalus australis* Zimmermann), de origen uruguayo, cuya composición es similar a la de muchos aceites de animales marinos.

PARTE EXPERIMENTAL

A partir de un aceite comercial de lobo marino de procedencia uruguaya se obtuvieron los ácidos grasos por saponificación, de acuerdo con el método Cc 12-59 de la American Oil Chemists' Society (AOCS) ¹¹.

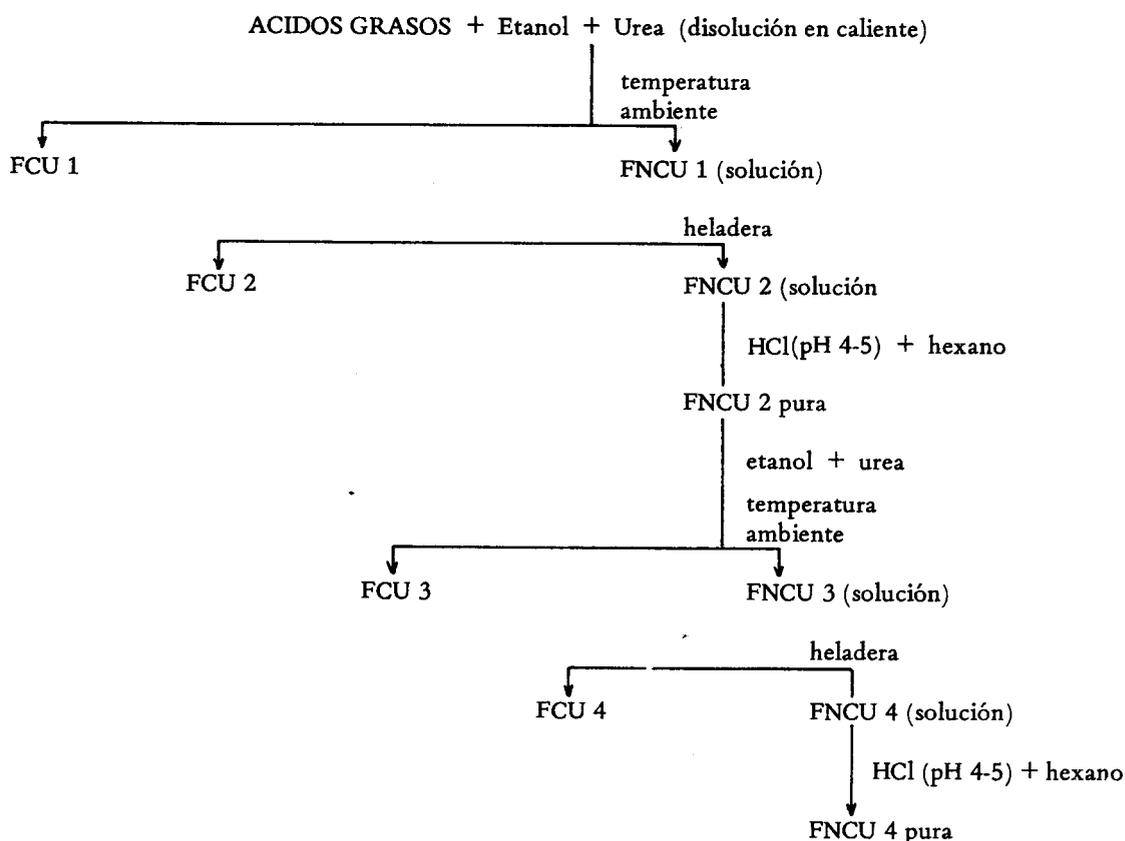


Figura 1. Esquema operativo del método de complejación con urea ¹¹.

Se disolvieron 20 g de dichos ácidos grasos en 250 ml de alcohol etílico, se agregaron 45 g de urea y se calentó con agitación hasta obtener una solución límpida. Se dejó el sistema a temperatura ambiente durante 24 horas. Los cristales formados (FCU₁)* se separaron de la fase líquida (FNCU₁)** por filtración a vacío en un Büchner. La solución resultante se enfrió en un refrigerador doméstico a -6 °C durante 24 horas para continuar la cristalización. Los cristales formados (FCU₂) también se separaron por filtración. La solución etanólica remanente (FNCU₂) se diluyó con un volumen igual de agua destilada y se acidificó a pH 4-5 con HCl concentrado. Los ácidos grasos así separados se extrajeron con hexano. Luego de eliminado el solvente (FNCU₂ pura) se pesaron 10 g de dichos ácidos grasos y se disolvieron en 125 ml de alcohol etílico se agregaron 23 g de urea y se repitió el procedimiento inicial: enfriamiento a temperatura ambiente y filtración (FCU₃ y FNCU₃), enfriamiento en heladera y filtración (FCU₄ y FNCU₄).

Todas las FCU separadas por filtración y la FNCU₄ fueron tratadas por un procedimiento similar al empleado con la solución FNCU₂ a los efectos de liberar los ácidos grasos complejados por la urea y recuperarlos.

* FCU: fracción complejada con urea; ** FNCU: fracción no complejada con urea.

El esquema operativo queda indicado en la figura 1.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos, obtenidos con el método Ce 2-66 de la AOCS¹¹, fueron analizados en un cromatógrafo gaseoso Shimadzu, modelo GC-6, equipado con detectores de ionización de llama. Se usaron columnas de acero inoxidable rellenas con SP-2330, de 10 pies de largo y 1/8 de pulgada de diámetro interno (fabricadas por SUPLECO Inc.). Las columnas fueron operadas isotérmicamente a 200 °C con N₂ como gas transportador.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1. Los ácidos grasos saturados y los mono-insaturados (especialmente 20:1 y 22:1) formaron fácilmente aductos con la urea. El concentrado final (FNCU₄) representó un 17% del total del material de partida. Su contenido en polienos fue del 91,6% (valor muy alto comparado con los de la bibliografía), por lo que el valor inicial del 20% quedó multiplicado aproximadamente por 4,6. En particular, esta concentración se debió al ácido graso 22:6, que pasó del 12,7% inicial al 66,4% final.

Si bien la mayor cantidad de ácidos poli-insaturados se recuperó en FNCU₄, una pequeña proporción de ellos se perdió por complejación con la urea (especialmente en FCU₄). Debido a esto conviene definir el parámetro ER% ("eficiencia de recuperación") de acuerdo con:

$$ER\% = \frac{(\text{Rendimiento \% de FNCU}) \cdot (\% \text{ polieno en FNCU})}{\% \text{ polieno en material de partida}}$$

En la Tabla 2 se dan los valores de ER% para los ácidos poli-insaturados totales y para algunos de ellos por separado. La eficiencia en la recuperación global de los ácidos poli-insaturados fue del 78%, es decir que un 22% de ellos se perdieron en las su-

cesivas separaciones de las FCU. Por otra parte, cada ácido graso tiene su ER%: ésta varía desde el 23% para el ácido 22:5 hasta el 89% para el ácido 22:6. Debido a estas diferencias, el concentrado final tiene una composición relativa en ácidos grasos poli-

Acido graso	inicial	FCU 1	FCU 2	FNCU 2 *	FCU 3	FCU 4	FNCU 4
12:0	0,1	—	0,2	0,2	0,2	—	—
desconocido	—	—	—	—	—	0,2	—
14:0	5,2	6,9	11,2	1,9	3,4	0,4	1,1
14:1	0,4	—	0,1	0,5	1,1	0,6	—
15:0	0,9	0,9	0,5	1,1	1,0	2,3	0,7
15:1	0,1	—	0,1	0,2	0,2	0,3	—
16:0	12,9	25,9	3,5	0,3	0,3	0,5	—
16:1	7,7	3,6	10,3	11,4	20,7	12,2	1,0
17:0	—	—	—	—	—	2,4	0,4
17:1	—	—	0,0	—	0,2	1,0	0,2
18:0	2,6	3,9	1,3	1,7	1,3	2,1	0,5
18:1	22,3	18,6	43,6	20,2	42,4	6,6	0,7
desconocido	—	—	—	—	—	—	0,5
18:2	2,5	0,7	2,4	5,1	6,3	10,8	1,7
20:0	0,6	0,8	—	0,1	—	—	0,2
desconocido	—	—	—	—	—	—	0,4
20:1	11,0	13,5	16,3	5,1	8,6	5,1	0,8
18:4	1,5	—	0,2	3,4	0,7	2,3	7,2
20:2	0,4	0,2	0,4	0,6	1,1	0,7	—
22:0	—	0,1	—	0,2	—	—	0,2
22:1	10,7	18,9	5,0	1,7	1,6	2,5	1,3
desconocido	—	—	—	—	—	0,4	0,3
20:4	1,3	—	0,3	2,9	1,1	5,5	4,1
20:5	2,0	0,3	0,6	4,7	1,7	8,3	6,3
24:1	2,6	4,5	—	—	—	—	—
21:5	—	—	—	0,8	0,2	1,2	1,4
22:4	0,6	—	0,2	1,5	0,5	2,0	2,3
22:5	1,8	0,2	0,7	4,5	2,8	12,2	2,4
22:6	12,7	1,0	2,3	32,1	4,4	20,3	66,4
Rendimiento (por etapa)	—	46	15	(39)	41	14	45
Rendimiento total	100	46	18	(36)	15	4	17
saturados	22,3	38,3	16,7	5,5	6,2	5,3	2,7
monoenos	54,8	59,1	76,0	39,1	74,8	28,5	4,0
polienos	20,0	1,5	4,5	49,7	11,6	54,7	91,6
dienos	2,9	0,9	2,8	5,7	7,4	11,5	1,7

* no incluido en el rendimiento total

Tabla 1. Composición en ácidos grasos de las diferentes fracciones obtenidas por complejación con urea, expresados en forma porcentual.

Acido graso	ER %
18:4	82
20:4	54
20:5	54
22:5	23
22:6	89
polienos totales	78

Tabla 2. Eficiencia de recuperación para los ácidos grasos poli-insaturados contenidos en FNCU 4.

insaturados distinta de la del material de partida; en particular se produjo un enriquecimiento relativo en el 22:6.

En la Tabla 3 se resume la composición en ácidos grasos, determinada por el procedimiento ya descrito, de dos concentrados de aceite de pescado en venta en el Uruguay, bajo forma de cápsulas: Promega y Epa-Max. Estos concentrados resultaron ser similares a los analizados por Ackman *et al.*¹² para algunos encapsulados de U.S.A., Reino Unido y Canadá. De la comparación de los resultados del presente trabajo se deduce que el procedimiento aquí expuesto es muy eficiente para obtener productos de

Acido graso	PROMEGA	EPA-MAX
14:0	5,4	7,2
16:0	7,6	16,2
16:1	10,0	8,8
18:0	2,2	3,9
18:1	11,7	15,2
18:2	5,6	4,4
20:1	2,6	4,7
18:4	4,9	2,9
22:1	0,8	4,2
20:4	1,2	0,8
20:5	28,1	15,5
22:4	0,3	0,2
22:5	2,2	2,0
22:6	13,6	10,8
saturados	15,6	28,0
monoenos	25,8	34,0
dienos	5,6	5,3
polienos	53,0	32,7

Tabla 3. Composición en ácidos grasos de dos encapsulados que se comercializan en el Uruguay. Solamente se indican los ácidos grasos principales; los otros han sido omitidos por razones de claridad.

alto contenido en ácidos poli-insaturados y que mejora sensiblemente al método en el cual se basó.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lands, W.E.M. (1986) "Fish and human health", Academic Press, Orlando
2. Kinsella, J.E. (1987) "Seafoods and fish oils in human health and disease". M. Dekker, New York
3. Ackman, R.G., P.J. Ke y P.M. Jangaard (1973) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 50: 1-8
4. Wille, H.J., H. Traitler y M. Kelly (1987) *Rev. Fr. Corps. Gras.* 34: 69-74
5. Adlof, R.O. y E.A. Emken (1985) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 62: 1592-5
6. Nilsson, W.B., E.J. Gauglitz, J.K. Hudson, V.F. Stout y J. Spinelli (1988) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 65: 109-17
7. Haagsma, N., C.M. van Gent, J.B. Luten, R.W. de Jong y E. van Doorn (1982) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 59: 117-8
8. Ratnayake, W.M.N., B. Olsson, D. Matthews y R.G. Ackman (1988) *Fat Sci. Technol.* 90: 381-6

9. Ackman, R.G., W.M.N. Ratnayake y B. Olsson (1988) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 65: 136-8
10. Ackman, R.G. (1988) *Chemistry and Industry*, 7 de Marzo, págs. 139-45
11. Walker, R.C. (ed.) (1988) "*Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*", A.O.C.S., Illinois
12. Ackman, R.G., W.M.N. Ratnayake y E.J. Macpherson (1989) *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 66: 1162-4