

NUEVA TÉCNICA PARA LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DEL ACEITE DE LA *PLUKENETIA VOLUBILIS* L. "SACHA INCHI"

Juana M. Huamán M. , Marco Guerrero A., Nancy Pariona M.

RESUMEN

La técnica usada inicialmente solo para la extracción de aceites de pescado consistió en la hidrólisis alcalina de glicéridos usando un porcentaje de KOH al 50% para la saponificación y cloruro de metileno para extraer la parte no saponificable. Luego de la saponificación y formación de la sal, se acidifica para obtener los ácidos grasos libres, utilizando ácido acético a temperaturas de hasta -20°C . Continuando con la extracción la fase orgánica que contienen los ácidos grasos libres se disuelven en acetona y se llevan a -20°C precipitando los ácidos grasos saturados y separándolos por filtración. Se purifican usando sales de magnesio disueltas en acetona, las cuales hacen que los ácidos grasos insaturados sean más solubles. A la muestra obtenida se le realizó controles de calidad como Índice de Yodo, y dio valores mucho más elevados (196) del que se partió (192). Igualmente, se le realizó un análisis GC ISO5509-2000 y Norma ISO 5508-1990, en el cual se determinó 97,05% de ácidos grasos insaturados entre los cuales ácido linoléico (omega 3) 50,4%, de ácido linoleico (omega 6) 37,66% y de ácido oleico 8,73%.

Palabras clave: Glicéridos, saponificación, ácidos grasos, sales de magnesio.

NEW TECHNIQUE FOR THE REMOVAL OF UNSATURATED FATTY OIL OF *PLUKENETIA VOLUBILIS* L. "SACHA INCHI"

ABSTRACT

This technique has only been used for the extraction of fish oil, it consisted in the alkaline hydrolysis of glycerides using a rate of 50% KOH for saponification and methylene chloride to extract the unsaponifiable part. After saponification and the formation of the salt, it is acidified to obtain free fatty acids, using acetic acid at temperatures lowers than -20°C . Following the extraction the organic phase containing free fatty acids are dissolved in acetone and temperature used -20°C (20 celsius) precipitates the saturated fatty acids and they are separated by filtration. It is purified using magnesium salts dissolved in acetone, which means that the unsaturated fatty acids are more soluble. This sample was tested with quality controls like the Iodine index, giving much higher values (196) from the once we started (192). It was also analyze with a GC ISO5509-2000 and ISO 5508-1990 which determined a 97.05% of unsaturated fatty acids, from which linolenic acid (omega 3) represents a 50.4%, linoleic acid (omega 6) represents 37.66% and 8,73% of oleic acid.

Keywords: Glycerides, saponification, fatty acids, magnesium salts.

I. INTRODUCCIÓN

La *Plukenetia volubilis* L. "sacha inchi" es una planta de la Amazonía peruana conocida por los nativos desde hace miles de años, fue usada por los preíncas e incas.

De la planta del "sacha inchi", se obtiene una almendra, de ella se extrae un aceite

que contiene ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son difíciles de sintetizar.

Los ácidos grasos extraídos son altamente provechosos y actualmente se recomienda su consumo por los efectos biológicos positivos para la salud; algunos de los cuales son conocidos por sus características tera-

1 jmariah25@hotmail.com, Departamento de Química Orgánica, FQIQ-UNMSM.

2 joc515@hotmail.com, Departamento de Química Orgánica, FQIQ-UNMSM.

3 nancypariona@yahoo.com, Tesista de Química, FQIQ-UNMSM.

péuticas. Más aún, éstos están siendo usados en nutrición, en cosmética, sus sales son usadas como pesticidas naturales, se usan en la elaboración de bebidas alimenticias, yogures, etc.^[1-13]

Existen antecedentes en la preparación de ácidos grasos. Rubin^[16] primero yodifica los ácidos grasos, seguido de la saponificación, extracción de los ácidos grasos, mutilación y separación por cromatografía de columna, finalmente desyodizan las fracciones deseadas, esta técnica fue utilizada para separar el ácido icosapentaenoico (EPA) del aceite del hígado de bacalao. C. Michael T.^[17] separa los ácidos grasos insaturados usando un polímero reticulado insoluble hidrofóbico de poliestireno, fijando de tal modo al ácido graso saturado por adsorción. Otra es la realizada por Fujita^[18], que usa úrea para quitar los ácidos grasos saturados. Teshima y otros^[19] describe el método para aislar EPA y DHA del aceite del hígado de bacalao, del calamar saponificándolo, metilándolo y luego purificándolo con una columna de sílica gel 60. Para la preparación y purificación usa nitrato de plata y gel de sílica. El problema son los rastros de plata sueltos en el producto final. Rubin^[20] describe un proceso sin degradación, hidrolizando los triglicéridos de la fuente del aceite bajo condiciones suaves con una lipasa, usando luego úrea para separar los ácidos grasos saturados.

En el presente trabajo se emplea^[15] una técnica utilizada solo para la extracción de ácidos grasos poliinsaturados de aceites de pescado como el salmón o la sardina, que tienen un alto contenido de estos ácidos grasos omega 3, 6 y 9. En la técnica se saponifica con una base el aceite de pescado, al cual se añade una pequeña cantidad de etanol. La mezcla se agita en nitrógeno. Se usa cloruro de metileno, se agita vigorosamente para separar la materia insaponificable. Los ácidos grasos libres son obtenidos de sus sales de sodio agregando ácido acético. Los ácidos grasos saturados son eliminados agregando éter etílico o acetona, se refrigera la mezcla para

solidificar los ácidos grasos saturados y eliminarlos. Para obtener los ácidos grasos omega 3 se agrega una base con NaOH en etanol, se refrigera a -20 °C, los sólidos formados son removidos. La acetona es evaporada y recuperada. Se agrega ácido acético para dejarlos como ácidos grasos libres y se usa sal de magnesio para separar los ácidos grasos en virtud a la diferencia de solubilidad.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Muestra utilizada

La materia prima fue el aceite de "sacha inchi" virgen, cultivada en la región de San Martín y extraído por el método de prensado en frío. Este aceite no tiene ningún aditivo.

Procedimiento

Se determinaron las condiciones óptimas de trabajo para la separación de los ácidos grasos^[3], para lo cual se pesó 50 gramos de KOH en 100 ml de agua para realizar la saponificación, se colocó 40 ml de KOH al 50% en un balón de tres bocas con 40 g de aceite y se realiza la saponificación agregando gota a gota el KOH más 1 ml de etanol en una atmósfera de nitrógeno durante 6 horas a 18 °C, en un sistema a reflujo. Se empleó 40 ml de cloruro de metileno y 20 ml de agua destilada. Luego se retira los materiales insaponificables, para lo cual se usa una pera de decantación, se agrega 40 ml de cloruro de metileno más 20 ml de agua. Se agita y se descarta la fase orgánica. Se agrega a la fase acuosa 360 ml de ácido acético al 50% para la formación de los ácidos grasos libres y se agita vigorosamente. Se agrega 4 g cloruro de sodio. Se descarta la fase acuosa y la fase orgánica se lava tres veces con ácido acético al 50%. Para la purificación se añade a la fase orgánica 800 ml de acetona, se deja en reposo a -20 °C, se recupera la acetona con un rotavapor. Los ácidos grasos saturados precipitan y se separan por filtración en un rango de temperatura -20 a -24 °C.

Luego se agrega 4 g de NaOH en etanol, la cual se agrega a la solución de acetona, dejando en reposo, y se obtiene 32 g de ácidos grasos de color amarillo suave. La acetona se recupera en el rotavapor. Para una mayor purificación se disuelve acetato de magnesio en acetona y se toman 20 ml de ácidos grasos obtenidos y se mezclan, se agitan y se dejan en reposo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se separan por filtración.

Los análisis de los ácidos grasos obtenidos como índice de yodo, método de la AOAC 920.159 y GC NORMA ISO5509-2000 Y NORMA ISO 5508-1990 nos indican que el uso de las sales de magnesio hace que los ácidos grasos insaturados sean mucho más solubles.

III. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Se empleó la técnica de la patente^[15] para el aceite de "sacha inchi", antes solo usado en aceites de pescado. Esta técnica se basa en la saponificación de las grasas o aceite natural con la consecuente conversión de los triglicéridos a una sal. Esta sal se acidifica para obtener los ácidos grasos libres. La técnica utiliza temperaturas muy bajas (hasta de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) con lo que se evita la oxidación del producto. Con el cloruro de metileno se extraen las vitaminas A y E. Los resultados fueron de un mejor rendimiento que con otros solventes tales como éter etílico y hexano. En la etapa de acidificación de la fase acuosa se logra obtener los ácidos grasos libres formados de la sal de potasio utilizando ácido acético. Esta acidificación hace que los ácidos grasos libres se separen en la fase orgánica. La

adición del cloruro de sodio ayuda a una mejor separación de fases. La fase acuosa se descarta. Para la purificación de los ácidos grasos, la fase orgánica que contiene los ácidos grasos libres, se disuelven en acetona y se llevan a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, los ácidos grasos saturados precipitan y se separan por filtración (5.39% a 7,24%). Por último se emplean sales de magnesio disueltas en acetona. Esta técnica novedosa hace que los ácidos grasos insaturados sean mucho más solubles en acetona que la sal de magnesio de los ácidos grasos saturados. Esta diferencia de solubilidad es incluso mayor a temperaturas bajo cero, de esta manera se logra separar los ácidos grasos saturados de los insaturados. A la muestra obtenida se le realizó controles de calidad como índice de yodo, y se obtuvo valores más altos (196) que el inicial (192). Asimismo, se le realizó un análisis GC en la cual se determinó 97.05% de ácidos grasos insaturados, entre ellos, el ácido linolénico (omega 3) 50,4%, de ácido linoléico (omega 6) 37,66% y de ácido oleico (omega 9) 8,73%.

CONCLUSIONES

Según este procedimiento, para separar los ácidos grasos del aceite virgen del "sacha inchi", se ha obtenido una muestra mucho más pura de ácidos grasos insaturados. Se ha llegado a obtener una muestra de hasta 97.05% de ácidos grasos insaturados en la muestra final. Este método separa los ácidos grasos libres saturados de los insaturados. La muestra inicial contenía 6% de saturados, la final solo contiene 2,95%.

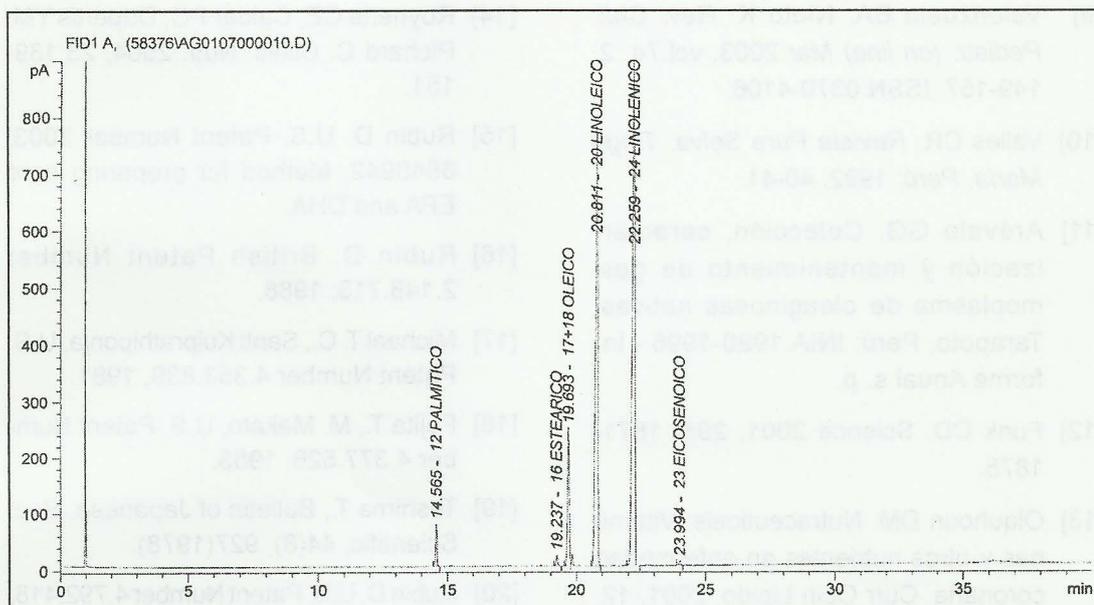


Figura 1. Cromatograma y perfil de los ácidos grasos obtenidos.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos en diferentes aceites.

Ácidos grasos	Sacha inchi (muestra inicial)	Mezcla de ácidos grasos obtenidos	Oliva	Soya	Maíz	Girasol	Algodón	Palma
Palmitico	3,85	2,30	13	10,7	11	12	7,5	18
Esterarico	2,54	0,65	3	3,3	2	2,2	5,3	3
Total saturados	6	2,95	16	14	13	14	13	21
Monosaturados	8,28	9,00	71	22,3	28	43,3	29,3	18,7
Omega 6	36,80	37,66	10	54,5	58	36,8	57,9	57,5
Omega 3	48,60	50,40	1	8,3	1	00	00	0,5
Ácidos grasos esenciales	84,86	88,06	11	62,8	59	36	57,9	58
Total insaturados	93,60	97,06	83	85,1	87	80,1	87,72	76,7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Hayes KC, Pronczuk A, Lindsey S, Diersen-Schade D. American Journal of Clinical Nutrition, 1991, 53:491-498.

[2] Lands W, Simopoulos AP, Kiler RR, Martin RE. The United States of the American Academy Press Inc. 1986, 33-48.

[3] Grundy, Simopoulos, AP, Kiler RR, Martin RE. The United States of the American Academy Press Inc. 1986, 33-48.

[4] Weber PC, Fisher S, Von Schacky C, Lorenz R, Strasser T. The United States of the American Academy Press Inc. 1986, 49-60.

[5] Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodríguez MA, Bruni RC. Dichi Nutrition 2003, 19:837-842.

[6] Remans PH, Sont JK, Wagenaar LW, Wouters-Wesseling W, Zuijderduin WM, Jongma A, Breedveld *et al.* Journal Clinical Nutrition 2004, 58: 839-845.

[7] Curtis CL, Hughes CE, Flannery CR, Lottle CB, Harwood JL, Caterson B. Journal Biol. Chem. 2000, 275, 721-724.

[8] Puglia C, Tropea S, Rizza L, Santagati N, Bonina F. Journal of Pharmaceutics. Catania, Italy: University of Catania, 2005, 299; 41-48.

[9] Valenzuela BA, Nieto K. *Rev. Chil. Pediatr. (on line)* Mar 2003, vol.74: 2, 149-157. ISSN 0370-4106.

[10] Valles CR. *Revista Pura Selva. Tingo María. Perú:* 1992, 40-41.

[11] Arévalo GG. Colección, caracterización y mantenimiento de germoplasma de oleaginosas nativas. Tarapoto, Perú: INIA.1990-1995 - Informe Anual s. p.

[12] Funk CD. *Science* 2001, 294: 1871-1875.

[13] Olquhoun DM. Nutraceuticals: Vitaminas y otros nutrientes en enfermedad coronaria. *Curr Opin Lipido.* 2001, 12: 639-646.

[14] Roynette CE, Calder PC, Dupertis YM, Pichard C. *Clinic. Nutr.* 2004, 23:139-151.

[15] Rubin D. U.S. Patent Number 2003, 6846942, Method for preparing pure EPA and DHA.

[16] Rubin D. British Patent Number 2.148.713, 1988.

[17] Michael T. C., Santi Kulprathiponja, U.S. Patent Number 4.353.839, 1981.

[18] Fujita T., M. Makato, U.S. Patent Number 4.377.526, 1983.

[19] Teshima T., *Bulletin of Japanese, Soc. Scientific,* 44(8), 927(1978).

[20] Rubin D. U.S. Patent Number 4.792.418, 1988.

Table 1. Comparison of fatty acid composition in different species

Species	Linoleic acid (%)	Arachidonic acid (%)	Stearic acid (%)	Palmitic acid (%)	Myristic acid (%)	Oleic acid (%)	Docosahexaenoic acid (%)	Eicosapentaenoic acid (%)
Salmon	12.5	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Trout	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Sea bream	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Sea bass	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0
Atlantic salmon	12.0	1.5	15.0	25.0	10.0	35.0	1.0	35.0

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Hayes KO, Pridmore A, Lindsay S, Deenen Schade D. *American Journal of Clinical Nutrition* 1981; 33: 421-488

[2] Lante V, Pridmore A, Kiser RR, Mader RE. *The United States of the American Academy Press Inc* 1986; 33-48

[3] Grindy Simpodot, R. Kiser RR, Mader RE. *The United States of the American Academy Press Inc* 1986; 33-48

[4] Weber FC, Fisher S, von Schobory G, Lantz R, Stasser T. *The United States of the American Academy Press Inc* 1988; 48-80

[5] Borden DS, Castelli R. *El Nutr* 82

[6] Ramirez PH, Sout JK, Wagoner LW, Wouters-Westering W, Zuidema WJ, Jungma A, Brouwer A, et al. *Int J Clin Nutr* 2004; 58: 539-548

[7] Cude CL, Hughes CE, Pannoy CR, Lutz CB, Harwood JL, Caterson B. *Int J Clin Nutr* 2000; 71: 124-132

[8] Pujós C, Torres B, Rizzal J, Santalucia N, Bonina F. *Journal of Pharmaceutics*. *Catalan Univ University of Catalan* 2008; 308: 41-48