

## Innovación tecnológica aplicable a los aceites marinos ricos en ácidos grasos N-3 para permitir su uso nutricional y farmacológico: Un desafío para la presente década

Alfonso Valenzuela<sup>1</sup> y Susana Nieto<sup>2</sup>

Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos. Unidad de Nutrición Clínica.  
Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile

**RESUMEN.** Las importantes propiedades fisiológicas y nutricionales descritas para los ácidos grasos poliinsaturados n-3 de origen marino han motivado la búsqueda de procedimientos que permitan obtenerlos, preservarlos y concentrarlos, con la finalidad de poder incorporarlos a productos de uso farmacológico o nutricional. La industria de harina de pescado provee importantes cantidades de aceite de pescado, sin embargo este aceite debe ser sometido a diferentes procedimientos de purificación para ser utilizado con fines alimenticios. Este trabajo describe el estatus actual de la investigación sobre los procedimientos aplicables para incorporar ácidos grasos poliinsaturados n-3 en nuestra alimentación. Se discute la factibilidad de aplicar técnicas de concentración química, procedimientos de transesterificación mediante enzimas estereoespecíficas y la estabilización mediante sustancias naturales. Se plantea, además la posibilidad que algunas aves, como el pollo, alimentadas con una dieta rica en ácidos grasos n-3 puedan constituir un buen vehículo para que el hombre pueda adquirir estos ácidos grasos en forma sana, segura y nutricionalmente recomendable.

**SUMMARY.** Technological innovation applicable to marine oils rich in N-3 fatty acids to allow its nutritional and pharmacological use: A challenge for the current decade. The important physiological properties described for marine oils rich in n-3 polyunsaturated fatty acids have give rise to increasing efforts to develop procedures for obtaining, preserve and concentrate these oils aiming its nutritional and pharmacological use. The fish meal industry provides high quantities of fish oil, however this oil being not suitable for human consumption must be subjected to different refining procedures to allow its use for feeding purposes. This review describes the current research about the employment of different procedures to incorporate n-3 polyunsaturated fatty acid to our feeding. The feasibility for the application of chemical methods and stereospecific enzyme-transesterification procedures for obtaining oil concentrates, and the use of natural substances for stabilizing the oil against oxidation are discussed. The possibility that some birds such as the chicken, feeding a diet rich in n-3 polyunsaturated fatty acids, as a healthy, safe and suitable vehicle to provide these fatty acid for human nutrition is also discussed.

### INTRODUCCION

A partir de los trabajos pioneros de Ban y Dyerberg realizados en la década de los años setenta (1), se ha producido un inusitado interés en los efectos beneficiosos para la salud humana derivados del consumo de ácidos grasos n-3 de origen marino. Estos investigadores observaron que la incidencia de enfermedades cardiovasculares en la población esquimal de Groenlandia es anormalmente baja, comparada con las estadísticas mundiales. Inicialmente Dyerberg y Bang pensaron que un factor genético asociado a esta población, tan aislada y de costumbres tan peculiares, las protegía del desarrollo de la arteriosclerosis y de accidentes trombóticos vasculares. Sin embargo, la continuación de sus estudios los llevó a demostrar

que los esquimales que vivían en Europa continental presentaban una morbi-mortalidad por enfermedades cardiovasculares semejante a la de los europeos. La conclusión final a que llegaron, es que la dieta de estos individuos contenía algún(os) componente(s) que modificaban y/o prevenían el desarrollo de las patologías vasculares (arteriosclerosis, trombosis, infarto, etc). La alimentación de los esquimales está mayoritariamente compuesta por peces y mamíferos marinos y, éstos les proveen de cantidades relativamente altas de ácidos grasos de la serie n-3, principalmente ácido eicosapentaenoico (C20:5, n-3, EPA) y ácido docosahexaenoico (C22:6, n-3, DHA).

El consumo de ambos ácidos grasos produce efectos nutricionales y farmacológicos (dependiendo de la dosis) muy

característicos y a los cuales se atribuye la observación de Dyerberg y Bang (2). Poblaciones que tradicionalmente han incorporado el consumo de peces y otros animales marinos a su dieta en forma frecuente, como es el caso de los japoneses, los españoles y los portugueses, entre otros, presentan índices de morbi-mortalidad por enfermedades cardio-vasculares más bajos que el resto de la población mundial.

Se ha descrito que el EPA posee, principalmente, efectos antitrombóticos ya que al competir con el ácido araquidónico (C20:4, n-6) en el proceso de la activación plaquetaria, forma un tipo de tromboxano que es poco activo, a diferencia del metabolito formado por el ácido araquidónico que es muy activo (3). Dependiendo de su concentración sanguínea y tisular el EPA produce, además, efectos hipotriglicéridémicos e hipocolesterolémicos a través de mecanismos que no son aún del todo conocidos, y su consumo ha sido recomendado para el tratamiento de ciertas afecciones dermatológicas (psoriasis, dermatitis crónicas, etc.) y en el tratamiento de algunos tumores (4). Estos efectos, de por sí beneficiosos, han llevado a recomendar el consumo de EPA en forma suplementaria para los individuos adultos mayores, especialmente a aquellos con estados avanzados de compromisos cardiovasculares. Por otro lado, se ha descrito que el DHA es fundamental en la formación del tejido nervioso y ocular en el recién nacido y en el lactante, ya que su deficiencia temprana puede producir retraso psicomotor y deficiencia visual (5). La leche humana provee pequeñas cantidades de DHA que a veces no son suficientes para satisfacer las necesidades del lactante (especialmente si este es prematuro). Por otro lado, las fórmulas lácteas que se utilizan en reemplazo de la leche materna, prácticamente no aportan DHA, por lo cual numerosos investigadores han sugerido la necesidad de suplementar con DHA al recién nacido, especialmente a aquellos que nacen en forma prematura y/o con bajo peso y que no reciben leche materna (6,7).

De esta manera, la suplementación de la dieta del adulto con EPA o el tratamiento profiláctico de individuos con propensión al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, y la adición de DHA en la nutrición del recién nacido, aparecen como altamente recomendables y en algunos casos necesarias. Sin embargo, para lograr este objetivo es requisito fundamental contar con fuentes naturales que provean de EPA y/o DHA en forma segura, accesible y tecnológicamente factible. El propósito de esta revisión es analizar el estatus actual de la tecnología que permite proveer de EPA y DHA a la industria alimentaria y farmacéutica, las fuentes para su obtención, sus limitaciones y riesgos, así como también las importantes proyecciones, que a juicio de los autores, tiene el desarrollo de una tecnología para obtener ácidos grasos n-3 de origen marino de alta pureza y concentración.

### Los aceites marinos como fuente de ácidos grasos N-3 en nuestra dieta

Los vegetales constituyen, en general, una fuente adecuada de ácidos grasos poliinsaturados. Muchos aceites obtenidos de semillas vegetales contienen importantes cantidades de ácido linoleico (C18:2, n-6) y de ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3, n-3). Este último ácido graso está presente, particularmente en altas concentraciones, en los cloroplastos de las hojas más que en las semillas. Por lo cual, los componentes vegetales de la dieta (principalmente los aceites) pueden proveer en forma satisfactoria ácidos grasos poliinsaturados. Sin embargo el EPA y el DHA no están presentes como tales en el reino de los vegetales superiores, por lo cual el consumo de estos vegetales no provee de EPA y DHA a los mamíferos, aunque en algunos casos el ácido alfa-linolénico puede ser un precursor de estos ácidos grasos al ser elongado y desaturado en nuestro organismo. Los ácidos n-3 presentes en los organismos marinos son formados en los cloroplastos de los vegetales que integran el fitoplankton y por las bacterias autótrofas marinas y protozoos componentes del zooplankton (8). Los peces, al ser intermediarios en la cadena alimentaria, incorporan como parte de su dieta ácidos grasos n-3 que posteriormente son elongados hasta formar moléculas de 20 a 26 átomos de carbono, y desaturados hasta incorporar 4, 5 ó 6 dobles enlaces gracias a la acción de desaturasas específicas. De esta manera, los peces pueden concentrar EPA y DHA, en la forma de triacilglicéridos y fosfolípidos en el tejido adiposo y en la grasa de los músculos y órganos viscerales (9). Es así que mientras más alto sea el contenido de grasa de un pez, más alto será su contenido de ácidos grasos n-3. Algunos mamíferos, como las focas, las ballenas, los lobos marinos y los osos polares, cuya alimentación está compuesta predominantemente por peces, pueden acumular cantidades relativamente altas de ácidos grasos n-3 en su tejido adiposo (10). La Figura 1 muestra la cadena alimentaria de los ácidos grasos n-3.

FIGURA 1

#### Situaciones nutricionales y/o fisiopatológicas donde es recomendable la suplementación con ácidos grasos n-3

- Enfermedades cardio-vasculares (riesgo de trombosis)
- Nutrición del recién nacido (Tej. nervioso y ocular)
- Enfermedades inflamatorias y autoinmunes (artritis)
- Ciertos tipos de arritmias cardíacas
- Disminución de progresión de restenosis
- Psoriasis y otras afecciones dermatológicas
- Diabetes y ciertos tipos de tumores

Las especies bacterianas aisladas del contenido intestinal de algunos peces, presentan cantidades significativamente altas de EPA y DHA, producto de su propia biosíntesis (11). Por esta razón, en diferentes países se han realizado importan-

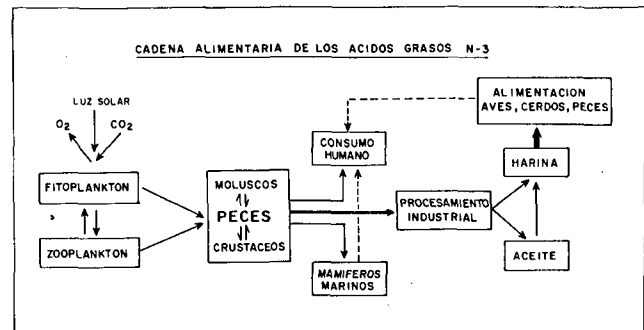
tes esfuerzos para proliferar estos microorganismos en agua de mar natural o artificial con el propósito de obtener EPA y/o DHA para uso nutricional y/o farmacológico. La producción experimental de algunas cepas bacterianas productoras de EPA y DHA ha sido exitosa a escala de laboratorio. Sin embargo, la producción comercial masiva de estos bacterios es de alto costo por lo cual, al menos por el momento, la obtención de concentrados de ácidos grasos n-3 mediante estos procedimientos no es rentable. En la misma dirección, algunos grupos de investigación han observado que los hongos del género *Mortierella* pueden producir grandes cantidades de EPA en su micelio, cuando son cultivados a baja temperatura (12). La utilización de estos hongos, u otros de diferente género, como fuente de ácidos grasos n-3 parece promisoría, siempre y cuando los procedimientos de cultivo de los hongos y de extracción de los ácidos grasos sean comercialmente factibles.

Actualmente, el procesamiento de peces pelágicos (aquellos que viven y se alimentan en la superficie del mar) es la principal fuente industrial para la obtención de ácidos grasos n-3. Estos ácidos grasos están presentes en concentraciones relativamente altas (14% a 30% EPA+DHA) en el aceite de pescado, segundo producto obtenido en la fabricación de harina de pescado. En forma secundaria, es posible obtener aceite de pescado a partir del procesamiento de vísceras de peces grasos (aceite de bacalao, por ejemplo), sin embargo la obtención de aceite a partir de la fabricación de harina de pescado es cuantitativamente la más importante. Países como Perú, Chile, Noruega, Japón y Estados Unidos encabezan la producción mundial de aceite de pescado con cifras de producción individual superiores a las 180.000 TM/año.

El procedimiento industrial para obtener aceite de pescado es relativamente simple, aunque requiere de grandes y costosas instalaciones. El producto de la pesca pelágica es vaciado en cocedores de gran volumen en los cuales, mediante la inyección de vapor o por calor directo, se produce la cocción (denaturación proteica) del pescado, facilitando así su molienda y posterior prensado. El líquido de prensa que se recupera, constituido por una mezcla de aceite, agua, proteínas solubles y otros componentes menores, es centrifugado con el propósito de separar el aceite crudo. La fracción acuosa es habitualmente deshidratada y los sólidos se incorporan al «queque» de prensa (residuo sólido obtenido después del prensado), el que por desecación posterior constituirá la harina de pescado. El aceite crudo es generalmente sometido a un proceso de refinación en las mismas plantas productoras. Este procedimiento involucra una clasificación y blanqueo (mediante tierras activadas), un desgomado (que elimina fosfátidos y mucilagos) y una neutralización con soda que elimina los ácidos grasos libres formados durante el proceso de extracción y refinación (13). El aceite que se obtiene puede ser de gran transparencia, pero se caracteriza por poseer una característica «olor a pescado» y por la presencia de numerosos contaminantes tales como impurezas insolubles, humedad, ácidos grasos libres, trazas de

metales, productos de oxidación, halógenos, derivados nitrados, sulfuros, etc (14). Este aceite, como tal, tiene muchos usos industriales, por ejemplo en la fabricación de pinturas, resinas alquídicas, barnices, pegamentos, productos fotográficos, industria del cuero, cosmética, etc., pero no es adecuado para el consumo humano, salvo que sea sometido a procedimientos de desodorización e hidrogenación. La desodorización del aceite se realiza mediante arrastre por vapor a alta temperatura (200°C - 280 °C), por lo cual se produce un importante deterioro en su contenido de ácidos grasos n-3 (15). Finalmente la hidrogenación catalítica reduce considerablemente su poliinsaturación (prácticamente desaparece su contenido de EPA y DHA) y lo convierte en un sólido a temperatura ambiente que sirve de base para la fabricación de margarinas y mantecas industriales (shortenings). Este último procedimiento produce un alto porcentaje de isómeros trans en los ácidos grasos que componen los triglicéridos del aceite. Se sabe muy poco sobre los efectos biológicos derivados del consumo de ácidos grasos trans (en forma natural estos tienen isomería cis) y algunos autores han cuestionado la inocuidad de las margarinas y mantecas industriales (16). La Figura 2 muestra las etapas más importantes de la producción y refinación del aceite de pescado.

FIGURA 2



Debido a que los procedimientos de desodorización industrial del aceite de pescado alteran significativamente su contenido de EPA y DHA y dan origen a la formación de polímeros y productos de oxidación tales como peróxidos, epóxidos, hidroperóxidos, etc. (17), se han desarrollado otros procedimientos de desodorización que emplean temperaturas menores y baja presión (alto vacío). Nuestro grupo desarrolló un procedimiento, a escala de laboratorio, que permite obtener un aceite totalmente desodorizado, libre de colesterol (el aceite de pescado tiene altos contenidos de colesterol 300-500 mg %) y con un contenido muy bajo de peróxidos, conservando a su vez el contenido de EPA y DHA del aceite original (18). El aceite que se obtiene en estas condiciones y que proviene principalmente de sardina española y anchoveta (y recientemente de krill antártico), es utilizado en Chile y en otros países en numerosos protocolos de investigación que estudian los efectos farmacológicos, bioquímicos y nutricionales de los aceites marinos ricos en ácidos grasos n-3.

### Contenido de ácidos grasos N-3 en los peces, variabilidad y fuentes de variabilidad

Es importante que aquellos que investigan las potencialidades farmacológicas y nutricionales de los aceites marinos, así como también aquellos que deseen desarrollar productos con alto contenido de EPA y DHA, consideren que la composición del aceite extraído de un mismo pez está sujeta a una gran variabilidad. En efecto, esta variabilidad depende no sólo de la estación en que se realiza la captura y de los hábitos de alimentación de los peces, sino también de las diferencias regionales y del tipo y calidad del alimento disponible. La captura realizada en aguas frías provee de aceites más ricos en ácidos grasos poliinsaturados y la proporción de grasa del pez será mayor (19). En relación a esto, los peces se pueden dividir en aquellos considerados como magros (con bajo contenido de grasa, <2%) tales como la merluza, el bacalao, los mariscos en general, etc., de mediano contenido de grasa (2-8%) como es el caso del salmón, la trucha, el lenguado, etc., y grasos (sobre 8%) como el menhaden, la anchoveta, la caballa y la sardina española (20). La Tabla 1 muestra la composición de ácidos grasos n-3 de diferentes aceites. El aceite de menhaden y de sardina española presenta un contenido de EPA superior al de DHA, el aceite de anchoveta presenta un contenido similar de ambos ácidos grasos y el aceite de krill tiene un contenido sustancialmente mayor de DHA.

TABLA 1  
PRINCIPALES ACIDOS GRASOS DE LOS ACEITES  
DE PESCADO COMERCIALES (g/100g ACEITE)

Procedencia	14:0	16:0	16:11 n-7	8:1 n-9	20:1 n-9	22:1 n-9	20:5 n-3	22:6 n-3
Menhaden	4	18	11	10	1	T	15	14
Sardina	6	17	9	12	5	3	17	9
Arenque	7	16	6	13	13	20	5	6
Anchoveta	9	19	9	13	5	2	17	9
Hígado Bacalao	3	13	10	23	T	5	11	12
Caballa	6	15	5	19	11	8	11	11
Bagre	6	17	6	19	9	9	11	11
Jurel	2	21	3	15	2	1	10	12
Hígado Salmón	3	14	3	10	5	4	15	18
Trucha	2	12	4	9	2	1	16	20
(Krill)	2	12	6	7	3	4	17	19

T= Trazas

El lugar y la estación de captura puede producir cambios muy grandes en el contenido de ácidos grasos n-3 para un mismo pescado. En la medida que la temperatura del agua disminuye, como ocurre en las regiones polares, el pez aumenta el grado de poliinsaturación de los ácidos grasos que forman parte de los triglicéridos de su tejido adiposo, con el propósito de compensar la disminución de fluidez de sus membranas como consecuencia de la baja temperatura. Por el contrario,

cuando la captura que se produce en regiones templadas donde la temperatura del agua es superior a los 12°C, el aceite que se obtiene al procesar el pescado mostrará una disminución significativa en su contenido de ácidos grasos n-3 (21). Otro aspecto importante que influye en el contenido final de ácidos grasos n-3 de un aceite, es la condición de preservación del pescado y el tiempo que media desde su captura hasta el procesamiento. Por ejemplo, es importante que la captura se mantenga a baja temperatura en la bodega del barco pesquero (mediante adición de hielo o agua fría) durante su transporte a la planta procesadora. Debido a que el producto de la pesca está mayoritariamente destinado a la fabricación de harina de pescado mediante un proceso que implica el uso de altas temperaturas, no se toman precauciones especiales para impedir el deterioro del aceite, que en buenas cuentas es un subproducto de la fabricación de la harina (22). En este sentido, se ha planteado que la obtención de aceites de buena calidad y con un adecuado estado de conservación para su posterior utilización nutricional o farmacológica, requerirá del desarrollo de procedimientos de captura, conservación, transporte y procesamiento diferentes a los actualmente aplicados en la fabricación de harina de pescado.

### Tecnología para la preservación de los ácidos grasos N-3 de los aceites marinos

Con el propósito de mantener la estructura original de los ácidos poliinsaturados de los aceites marinos es necesario tomar diferentes precauciones para el manejo y el almacenaje del aceite. Los ácidos grasos poliinsaturados, especialmente aquellos cuyas insaturaciones son interrumpidas por sistemas diénicos, son altamente susceptibles al desarrollo de un proceso conocido en forma genérica como rancidez oxidativa (23). Este es un proceso de oxidación no controlado y autocatalítico que incorpora oxígeno atmosférico a los dobles enlaces de la estructura hidrocarbonada, degradando el ácido graso y formando productos de oxidación que afectan las características organolépticas (olor a rancio) y químicas del aceite (24). Los aceites con alto grado de rancidez oxidativa son potencialmente tóxicos al hombre.

La preservación de los aceites contra el desarrollo de rancidez oxidativa ha constituido desde siempre un desafío para la industria de las grasas y aceites. Los aceites marinos, debido a su alto grado de poliinsaturados, desarrollan con mucha facilidad y en forma muy rápida procesos de oxidación. Estos destruyen la estructura de los ácidos grasos que componen el aceite, debido al ataque de formas activas del oxígeno molecular, y que transforman los triglicéridos en aldehídos, cetonas, alcoholes y otros productos volátiles que son de toxicidad potencial para los humanos y otros animales (25). Las formas activas del oxígeno que producen la rancidez oxidativa, se conocen con el nombre de «radicales libres». Estas estructuras químicas no son extrañas al organismo ya que el metabolismo oxidativo celular produce en forma nor-



accites vegetales comestibles. La forma más popular de ingestión de aceite de pescado es a través de cápsulas que se expenden bajo diferentes nombres (marcas registradas) y que contienen ácidos grasos n-3 en diferentes concentraciones y suplementados con distintos antioxidantes. Es así como varios productos de bajo costo ofrecen concentraciones de EPA+DHA desde 25% a 55%. Una cápsula de 500 mg de cualquiera de estos productos puede proveer una cantidad de ácidos grasos n-3 del orden de 125 mg a 225 mg, aunque los requerimientos diarios de ácidos grasos n-3 en humanos no han sido aún bien definidos, y probablemente deben ser muy variables dependiendo principalmente de la edad y estado nutricional de los individuos, se ha propuesto que la ingestión de una o dos cápsulas diarias (de 500 mg) provee una cantidad suficiente de EPA y DHA para obtener beneficios nutricionales y eventualmente farmacológicos (34). Sin embargo, la ingestión de aceite de pescado como suplemento nutricional en cualquiera de sus formas puede acompañarse de efectos adversos tales como gastritis, flatulencia esofágica o simplemente «olor a pescado». Más aun, el aceite de pescado contiene algunos ácidos grasos que son considerados potencialmente riesgosos para la salud humana, como es el caso del ácido cetoleico (C22:1) (35). Por consiguiente, debido a estas consideraciones, en la actualidad se piensa que una manera más eficaz y sana de proveer EPA y/o DHA sería en forma pura o como aceites de alta refinación que contienen concentrados de estos ácidos grasos.

Existen en la actualidad procedimientos tecnológicos que permiten proveer a los consumidores de productos con altas concentraciones de EPA y DHA. Estos procesos, sin embargo, requieren de la utilización de grandes cantidades de solventes por lo cual sus costos de operación son muy altos y los rendimientos distan mucho de ser rentables. El principal escollo en la obtención de concentrados de ácidos grasos n-3, es la compleja composición de triglicéridos de los aceites marinos. De hecho, la producción comercial de concentrados de aceites marinos enriquecidos en EPA y DHA, constituye un desafío para los químicos orgánicos y para los tecnólogos de alimentos interesados en obtener este tipo de concentrados. La obtención de productos con alto porcentaje de ácidos grasos n-3 es ahora altamente deseable en diferentes terapias clínicas en las cuales la ingesta de aceite de pescado como tal no es bien tolerada.

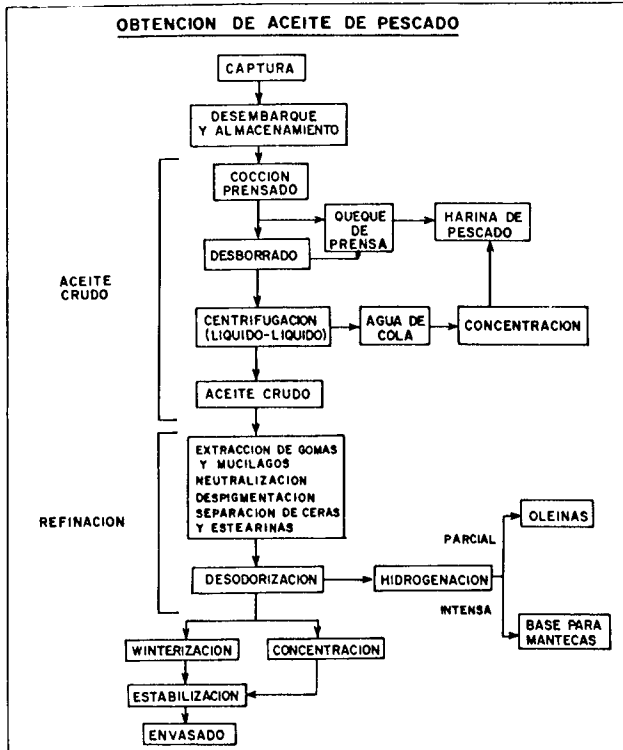
Las técnicas de fraccionamiento simple de aceites (por ejemplo, por winterización a baja temperatura), no son adecuadas para obtener el enriquecimiento del aceite en EPA y DHA. Existen en la actualidad diferentes procedimientos (la mayoría protegidos por patentes), para la obtención de fracciones con alta concentración de ácidos grasos n-3, sin embargo, debido a su alto costo, éstos sólo son adecuados para ser aplicados a escala de laboratorio y distan mucho de tener valor industrial. Estas técnicas incluyen winterizaciones selectivas seguidas de precipitación con urea (36) y el fraccionamiento de triglicéridos mediante cromatografía en resinas impregna-

das en sales de plata (37). La winterización controlada de metil o etil ésteres de triglicéridos es una técnica de bajo costo pero que provee de bajas concentraciones de EPA y DHA. La formación de complejos con urea es un procedimiento que ha sido muy aplicado para la eliminación (por precipitación) de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, por lo cual es una técnica atractiva en su proyección industrial. Los procedimientos de concentración en condiciones supercríticas (extracción con anhídrido de carbono) son de alta eficiencia aplicados a escala de laboratorio e incluso a escala piloto, aunque aun es necesario desarrollar una tecnología más accesible para una producción masiva, ya que los equipos que se deben utilizar son de alto costo por su sofisticación (38). Mediante la combinación de los procedimientos mencionados, que implican la conversión de los triglicéridos del aceite, previamente winterizado, a sus alquilderivados, la precipitación selectiva a éstos mediante la adición de urea y finalmente el fraccionamiento mediante anhídrido carbónico en condición supercrítica, es posible actualmente obtener concentrados de EPA y DHA del 96% para cada ácido graso. Sin embargo, estos productos tienen aun precios de comercialización muy altos (superiores a US\$ 1.500/kg) para permitir su utilización en el amplio espectro de aplicaciones que se ha propuesto para ellos.

Otra aproximación experimental para la obtención de fracciones enriquecidas en EPA y DHA a partir de aceites marinos, es el uso de lipasas estereoespecíficas en combinación con la precipitación con urea. Existen lipasas comerciales de origen bacteriano (*Mucor miehei*) que hidrolizan en forma muy específica los ácidos grasos que esterifican las posiciones 1' y 3' en los triglicéridos (39). La factibilidad de esta metodología se basa en el hecho que los ácidos grasos de mayor poliinsaturación en los aceites marinos se encuentran sustituyendo la posición 2' de los triglicéridos, por lo tanto la acción de la lipasa estereoespecífica permite obtener fracciones enriquecidas en monoglicéridos sustituidos principalmente por EPA y DHA (40). Estos monoglicéridos 2' sustituidos pueden ser fácilmente separados del resto de los monoésteres, productos de la hidrólisis, mediante cromatografía en resinas impregnadas en ion plata. Mediante un procedimiento paralelo, es posible obtener los etil o etil derivados de los ácidos grasos del aceite mediante tratamiento con metóxido o etóxido de sodio y de ellos es posible separar en forma selectiva los EPA y DHA metil o etil derivados mediante precipitación con urea. Ahora bien, si estos productos se hacen reaccionar con los correspondientes EPA o DHA monoglicéridos (obtenidos mediante el procedimiento enzimático) con la misma lipasa pero en condición anhidra (en ausencia de agua), la enzima se comportará como una transesterasa, incorporando los metil o etil derivados al monoglicérido. Bajo estas condiciones, es posible obtener triglicéridos que contienen solo EPA o DHA como componentes estructurales (41). Este procedimiento ha sido aplicado en forma exitosa en nuestro laboratorio y podrá ser transferido a la escala industrial después de algunas modificaciones (42). La formación de triglicéridos de compo-

ción conocida mediante procedimientos de transesterificación como el descrito, obedece al concepto de «estructuración de lípidos» que en la actualidad constituye el método más moderno para aportar lípidos en la dieta de un individuo según sus requerimientos nutricionales o fisiológicos y que constituye toda una revolución en la nutrición clínica de los lactantes y de los adultos (43). La Figura 4 muestra los principales procedimientos para obtener concentrados de ácidos grasos n-3.

FIGURA 4



**Como modificar la ingesta de ácidos grasos N-3 para optimizar sus beneficios nutricionales**

La alimentación de un grupo humano está determinada principalmente por aspectos culturales y psicosociales y es afectada de una manera importante por factores económicos y de mercado. De esta manera, en forma teórica, es posible cambiar los hábitos nutricionales de una población mediante diferentes mecanismos que puedan constituir un «anzuelo» para el consumidor, tales como el aportar un beneficio para la salud, constituir un alimento «sano» o implicar una relación costo/beneficio favorable para el consumidor. Por ejemplo, se ha observado que en Estados Unidos y en algunos países europeos como Dinamarca y Noruega, se ha producido un aumento sustancial del consumo de pescado por parte de la población, lo cual está íntimamente relacionado a la percepción que los alimentos de origen marino están ligados a la salud humana. Para que esto se haya producido, fue necesario que las autoridades de gobierno del área de la salud, la comunidad científica y la industria privada realizaran una

acción educativa y orientadora concentrada. Sin embargo, es poco probable que en el futuro pueda lograrse un mayor aumento en el consumo de productos marinos como tales, ya que el consumidor está recibiendo constantemente información, principalmente a través de la publicidad, sobre un sinnúmero de alimentos de diversas procedencias que ofrecen beneficios concretos, o sugeridos, para la salud humana.

Desde el punto de vista de quien fabrica o formula alimentos, la modificación de la composición de éstos representa una ventaja importante respecto a el cambiar los hábitos alimentarios de una población. Es así como el desafío actual de la industria de alimentos se enfoca primordialmente a la modificación de la composición de éstos sin afectar su sabor y otras características sensoriales, además de mantener sus condiciones sanitarias y su precio. En el caso de los ácidos grasos n-3, existe un gran interés por buscar metodologías y/o productos que permitan su incorporación a los alimentos.

En general las carnes de animales terrestres no constituyen una buena fuente de ácidos grasos n-3, ya que estos animales tienden primordialmente a enfatizar la síntesis y elongación de ácidos grasos n-6. Aunque los productos de origen marino constituyen la fuente más importante de ácidos grasos n-3 en la dieta occidental, se ha propuesto, recientemente, que esta ingesta puede ser suplementada por la contribución de una de las carnes terrestres de mejor aceptación, la del pollo. Se ha demostrado que el pollo tiene una predisposición natural para acumular en sus tejidos EPA y DHA formados a partir de precursores de menor tamaño, como el ácido linoléico (44). Incluso, es posible aumentar el contenido de ácidos grasos n-3 en la carne de estas aves mediante la utilización de harina de pescado, mezclada con aceite de pescado, en la alimentación industrial de los pollos en proporciones que no afectan su sabor y estabilidad. La alimentación de pollos con proporciones importantes de harina de pescado es posible en la actualidad debido a la producción de harinas de alta pureza y calidad nutricional (denominadas «Prime»). Además, la harina de pescado constituye una fuente importante de proteínas que asegura el rápido crecimiento de las aves. Ya que la aceptabilidad de la carne de pollo es mejor que la de la carne de pescado en la mayoría de los países occidentales, el propiciar un aumento en el consumo de carne de pollos puede ser una buena oportunidad para proveer de una suplementación de la dieta con EPA y DHA a un costo muy razonable. Estudios recientes han demostrado, también, que es posible enriquecer significativamente en DHA los fosfolípidos de los huevos si las aves son alimentadas con semillas ricas en ácidos grasos n-3 en vez de granos ricos en ácidos grasos n-6 (45), por lo cual el huevo, proveniente de gallinas adecuadamente alimentadas, puede constituir otra importante fuente de ácidos grasos n-3 en nuestra dieta.

Además de las fuentes naturales de EPA y DHA proveídas por el consumo de carne de pescado, de pollo y eventualmente de huevos, la aplicación de los concentrados de EPA y DHA, obtenidos a partir del procesamiento de aceites marinos o de

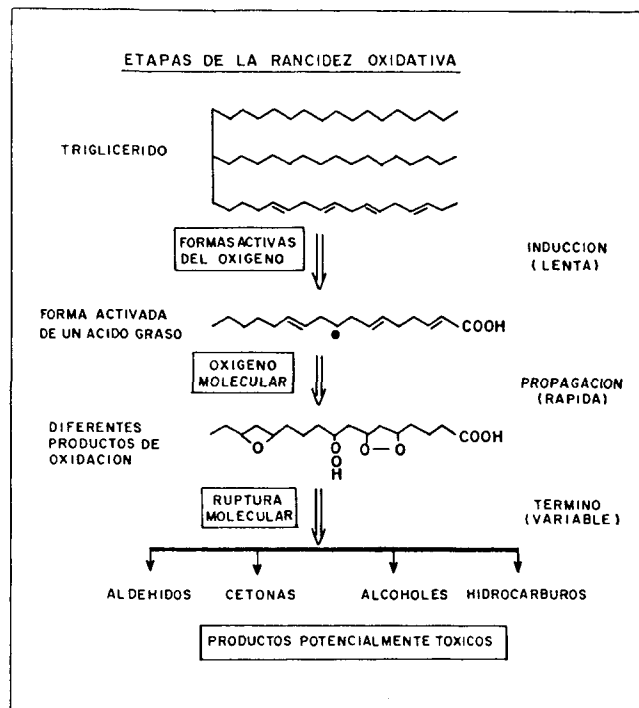
hongos y bacterias, en la manufactura de productos alimenticios, constituye otra alternativa que debe ser considerada seriamente. Los concentrados de EPA y/o DHA pueden ser mezclados con la leche, o productos derivados de la leche y con aceites vegetales, pueden ser utilizados en la preparación de mayonesas, margarinas, mantecas de uso industrial, cremas pasteleras, bases para masas, etc. Sin embargo, el futuro de estas aplicaciones, y otras que los tecnólogos de alimentos puedan imaginar, será posible sólo si se obtienen productos concentrados a un costo razonable, estables al desarrollo de rancidez oxidativa y fáciles de incorporar en la manufactura industrial de los productos mencionados. La respuesta a estas y otras limitaciones constituye un gran desafío para los científicos y tecnólogos en la actualidad.

Una aproximación tecnológica alternativa para incorporar concentrados de aceite de pescado en forma pura a los productos alimenticios ordinarios o a productos de nuevo desarrollo, es a través de la microencapsulación. Esta técnica tiene aplicaciones potenciales importantes en la alimentación animal y humana ya que facilita considerablemente la incorporación de los ácidos n-3 en la dieta. La microencapsulación de aceites marinos facilita la estabilidad del producto, puede mejorar u obviar los problemas de aceptabilidad del aceite en relación a su gusto, olor o la posible irritación gástrica derivada de la ingesta directa de aceites marinos (14). Sin embargo, es necesario tener ciertas precauciones antes de promover la aplicación de aceites marinos o de concentrados microencapsulados. Se requiere realizar estudios relacionados con la estabilidad, aceptabilidad y asimilación de las cápsulas. La composición del material de cobertura es otro aspecto importante de considerar ya que éste debe ser totalmente atóxico y no debe reaccionar con los otros componentes del material con que será mezclado o no debe producir la degradación y/o alteración de éste.

Quizás la principal aplicación actual de las cápsulas (o de la microencapsulación) se encuentre en el campo de la clínica terapéutica, aunque la suplementación dietaria no se puede descartar como alternativa ya que los productos están libremente disponibles para su consumo. La evidencia experimental actual sugiere que para la obtención de beneficios profilácticos y potencialmente terapéuticos en adultos, es necesario ingerir 1 a 2 g de EPA/día (2). Esta cantidad es aportada por 14-18 ml de aceite de pescado por lo cual, debido a que pocas personas estarían dispuestas a consumir esta cantidad de aceite al día, es fácil prever que los concentrados de EPA o de EPA+DHA, en la forma de cápsulas o incorporados en la forma de microcápsulas a un vehículo (líquido o sólido) constituirán en el futuro la alternativa más viable para aprovechar los beneficios para la salud humana que nos aportan estos productos naturales. El desarrollo de productos que provean a la dieta de ácidos grasos n-3, en forma segura, económica y organolépticamente adecuada, es a nuestro juicio un desafío para la presente década. La Figura 5 muestra las

principales aplicaciones nutricionales y farmacológicas de los aceites marinos o de sus concentrados.

FIGURA 5



#### AGRADECIMIENTO

El trabajo de los autores ha sido financiado por el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONDECYT), Proyectos 1940422 (SN) y 1930808 (AV), por el Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y por el Fondo de Desarrollo Productivo de CORFO (Corporación de Fomento).

#### REFERENCIAS

1. Bang H.O. & J. Dyerberg. Lipid metabolism and ischemic heart disease in Greenlands eskimos. *Adv. Nutr. Res.* 3, 1-21. 1986.
2. Simopoulos A.P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr.* 54, 438-463. 1991.
3. Kinsella J.E., B. Lokesh & R.A. Stone. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 52, 1-28, 1990.
4. Leaf A. & P.C. Weber. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N. Engl. J. Med.* 318, 549-557. 1988.
5. Uauy R. & A. Valenzuela. Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: how to optimize the health benefits. *Prog. Food Nutr. Scien.* 16, 199-243. 1992.
6. Hoffman D.R. / R. Uauy. Essentiality of dietary omega-3 fatty acids for preterm infants: plasma and red blood cell fatty acid composition. *Lipids* 17, 886-895. 1992.

7. Birch e. E., D.G. Birch D.R. Hoffman & R. Uauy. Dietary essential fatty acids supply and visual acuity development. *Invest. Ophthalmol. Vis. Scien.* 32, 3342-3253. 1992.
8. Iwamoto H. & G. Sato. Production of EPA by freshwater unicellular algae. *J Am Oil Chem. Soc.* 63, 434-438. 1986.
9. Brockenhorff H., R. Ackman & R.J. Hoyle. Specific distribution of fatty acids in marine lipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 100, 93-100. 1963.
10. Ackman R. Structural homogeneity in unsaturated fatty acids of marine lipids. A review. *J. Fish Res. Board Canada* 21, 247-254. 1964.
11. Akimoto M., T. Ishii, K. Yamagaki, K. Ohtaguchi, K. Koide & K. Yasawa. Production of eicosapentaenoic acid by a bacterium isolated from mackerel intestines. *J. Am Oil Chem Soc.* 67, 911-915. 1990.
12. Shimizu S., Y. Shinmen, H. Kawashima, K. Akimoto & H. Yamada. Fungal mycelia as a novel source of eicosapentaenoic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 335-341. 1988.
13. Bimbo A. P. The emerging marine oil industry. *J. Am Oil Chem. Soc.* 64, 706-715. 1987.
14. Bimbo A.P. Use of fish oil: task for new technology. *N-3 News I*, 1-4. 1986.
15. Chang S.S. Challenges of deodorization of fish oil. *N-3 News III*, 1-6. 1988.
16. Lambertsen G. Trans fatty acids topic for Lipidforum. *Inform* 3, 196-197. 1992.
17. Frankel E. N. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *J. Am Oil Chem. Soc.* 61, 1908-1917. 1984.
18. Dinamarca E., F. Garrido & A. Valenzuela. Simple High Vacuum distillation equipment for deodorizing fish oil for human consumption. *Lipids* 25, 170-172. 1990.
19. Farkas T., I. Csengeri F. Majoros & J. Olha. Metabolism of fatty acids in fish III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp. *Aquaculture* 20, 29-40. 1980.
20. Ackman R. Variability of fatty acids in lipids in seafoods. *Omega-3 news V*, 1-4. 1990.
21. Olsen Y. & H. Skjervold. Impact of latitude on n-3 fatty acids in wild atlantic salmon. *Omega-e news VI*, 1-4. 1991.
22. Young F.V. The production and uses of fish oils. En: *Nutritional evaluation of long chain fatty acids.* Barlow S. M. and Stansby M.E. Eds. Academic Press, London pp 1-23. 1990.
23. Labuza T.P. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit. Rev. Food Technol.* 355-405. 1971.
24. Valenzuela A. Minireviwe. The biological significance of malondialdehyde determination: Its assessment in the evaluation of oxidative stress. *Life Scien* 48, 301-309. 1991.
25. Khayat A. & D. Schall. Lipid oxidation in sea foods. *Food Technol.* 37, 139-140. 1993.
26. Aiken J. & T. Dix. Perohydroxyl radical (HOO) initiated lipid peroxidation. *J. Biol Chem.* 266, 15091-15098. 1991.
27. Nawar W. W. & H.O. Hultin. Stability of fish oils. *Omega-3 news III*, 1-4. 1988.
28. Branen A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hydrox toluene and butylated hydroxy anisole. *J. Am. Oil Chem Soc.* 52, 59-63. 1975.
29. Logani M.K. & R.E. Davies. Lipid oxidation: biological effects and antioxidants, a review. *Lipids* 15, 485-495. 1980.
30. Nieto S., A. Garrido, J. Sanhueza, L. Loyola, G. Morales, F. Leighton & A. Valenzuela. Flavonoids as stabilizers of fish oil: an alternative to the use of synthetic antioxidants. *J Am Oil Chem Soc.* 70, 773-778. 1993.
31. Valenzuela A., S. Nieto, B. Cassels & H. Speisky. Inhibitory effect of boldine on fish oil oxidation. *J. Am Oil Chem. Soc.* 68, 935-937. 1991.
32. Garrido A., F. Garrido, R. Guerra & A. Valenzuela. Ingestion of high doses of fish oil increases the susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress. *Lipids* 24, 833-835. 1989.
33. Garrido A., M. Garate, R. Campos, A. Villa, S. Nieto & A. Valenzuela. Increased susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress is observed after ingestion of high doses of fish oil: effect of aging and protective action fo dl- $\alpha$  tocopherol. *Nutr. Biochem.* 4, 118-122. 1993.
34. Bjerve K.S. N-3 fatty acids deficiency in man: pathogenic mechanism and dietary requeriments. *N-3 News IV*, 1-4. 1989.
35. Clandinin M.T., J.E. Chappel & J.E. Van Aerde. Requeriments of new born infants for long chain polyunsaturated fatty acids. *Acta. Ped. Scan.* 70, suppl 351, 63-71. 1989.
36. Gunstone F., J. Mc Laughlan C. Scrimgeour & A. Watson. Improved procedures for isolation of pure oleic acid, linoleic acid and linolenic acid or their methyl esters from natural sources. *J. Sci. Fd. Agric.* 27, 675-680. 1976.
37. Adlof R. O. & E.A. Emkem. The isolation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and methyl esters of fish oils by silver resin chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62, 1592-1595. 1985.
38. Nelson R.W. Liquid CO<sub>2</sub> extraction and fisheries research. *Mar. Fish Rev.* 46, 28-33. 1982.
39. Sonnet P.E. & J.A. Gazzillo. Evaluation of lipase selectivity for hydrolysis. *J. Am. Oil Chem Soc.* 68, 11-15. 1991.
40. Brockenhorff H. A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.* 6, 10-15. 1965.
41. Valenzuela A., S. Nieto & J. Sanhueza. Structuration of triglycerides by lipase-catalized transesterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1993. (en evaluación).
42. Valenzuela A., Nieto S., and Uauy R. Technological challenges to assess n-3 polyunsaturated fatty acids from marine oils for nutritional and pharmacological use. *Grasas y Aceites* 44, 39-46. 1993.
43. Megremis C.J. Medium-chain triglycerides: A non conventional fat. *Food Technol.* 45, 108-110. 1991.
44. Ackman R., M.F. Lamothe, H. W. Hulan & F. Proudfoot. The broiler chicken. Its current potential role as a source of long chain n-3 fatty acids in our diets. *N-3 News III*, 1-4, 1988.
45. Simopoulos A.P. & N. Salem. Egg yolk as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant feeding. *Am J. Clin Nutr.* 55, 411-414. 1992.

Recibido : 18-01-1994

Aceptado : 30-05-1994