



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL
NOROESTE, S. C.

Programa de Estudios de Posgrado

**UTILIZACIÓN DEL ACEITE DE HÍGADO DE TIBURÓN
OBTENIDO EN CUBA EN EL DESARROLLO DE
PRODUCTOS NUTRICIONALMENTE MEJORADOS**

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales

(Orientación: Acuicultura)

p r e s e n t a

Elisa García Rodríguez

La Paz, B. C. S., (septiembre, 2005)

CONFORMACIÓN DE COMITÉS

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Héctor Nolasco Soria	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dra. Sarah Gutiérrez Rodríguez	Instituto de Investigaciones Industria Alimenticia
Dr. Sergio Hernández Vázquez	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Roberto Civera Cerecedo	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Felipe Ascencio Valle	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Héctor Nolasco Soria	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dra. Sarah Gutiérrez Rodríguez	Instituto de Investigaciones Industria Alimenticia
Dr. Sergio Hernández Vázquez	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Roberto Civera Cerecedo	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Felipe Ascencio Valle	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Héctor Nolasco Soria	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dra. Sarah Gutiérrez Rodríguez	Instituto de Investigaciones Industria Alimenticia
Dr. Sergio Hernández Vázquez	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Roberto Civera Cerecedo	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Felipe Ascencio Valle	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Dr. Dariel Tovar Ramírez (Suplente)	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

DEDICATORIA

A MAMI

Porque siempre estarás conmigo

A RAFAEL

Mi esposo, compañero y amigo

A MIS HERMANAS *por todo el amor y sostén que me han brindado*

A YANET y MARIA CARLA *por todo su cariño*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado a través del programa de becas (182855) y financiamiento otorgado para la realización de este trabajo.

Al Dr. Sergio Hernández y la Dra. Adela Prieto por su empeño para lograr la inserción de nuestro grupo en el programa de doctorados y la obtención de las becas.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. y a todo el personal del Programa de Postgrado por darme la oportunidad de sentirme parte de esta prestigiosa institución y por el apoyo otorgado a lo largo de este estudio.

Al Dr. Héctor Nolasco Soria por su profesionalidad en la dirección de esta investigación y apoyo otorgado para la realización de la misma.

A la Dra. Sarah Gutiérrez por su excelente asesoría y ayuda incondicional para la ejecución de este trabajo.

Agradezco a los Doctores Roberto Civera, Felipe Ascencio y Sergio Hernández por ser miembros del comité tutorial y por sus valiosas sugerencias durante la revisión de esta tesis.

Agradezco al Ministerio de la Industria Pesquera de Cuba por darme la oportunidad de participar en este programa de formación científica, a Gerardo director de EPICAI por responder siempre a mis solicitudes de materia prima y a Leonel por su valiosa información sobre tiburones.

Quiero agradecer a Loli, Marisela y Raquel por estar siempre en el instante justo para darme su ayuda. A Raico, Mercedes, Aida, Mayito, Carmen, Paulina, Juanita, Flores, Lourdes, Zoila, Yolanda, Guille y Angelito, por su ayuda en la parte experimental de este trabajo, y sobre todo por su apoyo espiritual en los momentos en que me sentí cansada.

A Laura Carreón y Olivia Arjona por su apreciable ayuda en la realización de las determinaciones por cromatografía y su permanente sonrisa ante mis infinitas preguntas.

Quiero agradecer desde lo más profundo de mi corazón a María de Jesús Romero, Armando Vega y Liliana Bolaños por su amistad, cariño y por dejarme ser parte de sus familias.

A Rafael, mi esposo por sus desvelos, comprensión y ayuda infinita, mil gracias.

Finalmente este agradecimiento va dirigido con todo cariño y respeto a mis compañeros de trabajo por su apoyo directo o indirecto en este empeño.

ÍNDICE GENERAL

Índice General	
Lista de Tablas	viii
Lista de Figuras	xi
Lista de Anexos	xiii
Resumen	xiv
Abstract	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES GENERALES.	4
2.1. Pesquerías de tiburones en Cuba	4
2.2. Características generales de los lípidos del pescado	8
2.2.1. Importancia nutricional de los lípidos del pescado	12
2.3. Alimentos funcionales	15
2.4. Emulsiones	17
2.4.1. Aspectos Generales	17
2.4.2. Propiedades físicas de las emulsiones	18
2.5. Microencapsulación	19
2.5.1. Secado por aspersion	20
2.5.2. Agentes encapsulantes	21
3. JUSTIFICACIÓN	24
4. HIPOTESIS	
25	
5. OBJETIVO PRINCIPAL	25

5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
6. MATERIALES Y MÉTODOS	27
6.1. Obtención del aceite de hígado de tiburón	27
6.1.1. Recolección de los hígados	27
6.1.2. Condiciones de extracción del aceite a escala experimental	27
6.2. Desarrollo de una emulsión saborizada de aceite de hígado de tiburón	29
6.2.1. Materias primas	29
6.2.2. Procedimiento de preparación de la emulsión	29
6.3. Obtención de aceite de hígado de tiburón microencapsulado	33
6.4. Desarrollo de bebidas lácteas enriquecidas con aceite de hígado de tiburón microencapsulado	36
6.5. Métodos aplicados para las determinaciones físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas del aceite, emulsión y microencapsulado	37
6.5.1. Determinación del índice acidez	37
6.5.2. Determinación del Índice de peróxido	37
6.5.3. Determinación de la rancidez oxidativa por el método del 2-tióbarbitúrico	38
6.5.4. Determinación de índice de Yodo	38
6.5.5. Determinación de la gravedad específica aparente (densidad). Método del picnómetro.	39
6.5.6. Determinación del contenido de humedad	39
6.5.7. Determinación de la estabilidad de la emulsión	40

6.5.8. Determinación de la viscosidad	40
6.5.9. Tamaño del glóbulo de la emulsión por microscopía	40
6.5.10. Determinación del tamaño de partícula en el microencapsulado	41
6.5.11. Actividad de agua	41
6.5.12. Análisis microbiológico	41
6.5.12.1. Conteo total de microorganismos mesófilos aerobios	41
6.5.12.2. Recuento de hongos y levaduras	41
6.5.13. Evaluación sensorial	42
6.5.14. Peso específico aparente del aceite microencapsulado	42
6.5.15. Análisis de lípidos neutros, polares y ácidos grasos	43
6.5.16. Contenido de aceite encapsulado	44
6.6. Determinación del tiempo de vida de anaquel del aceite crudo, la emulsión y el aceite microencapsulado.	44
6.7. Ensayo clínico utilizando la emulsión como fuente de ácidos grasos	45
6.7.1. Hipertensión arterial	45
6.7.2. Hipertrigliceridemia	45
6.7.3. Fenilcetonuria	46
6.8. Diseño de experimento y tratamiento estadístico de las tecnologías utilizadas	46
6.9. Evaluación de la factibilidad económica para la producción de la emulsión saborizada y el aceite microencapsulado.	48
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
7.1. Parámetros tecnológicos para la extracción del aceite	51

7.2. Indicadores de calidad del aceite de hígado de tiburón obtenido	53
7.3. Emulsión de aceite de hígado de tiburón saborizada	54
7.4. Aceite de hígado de tiburón microencapsulado	60
7.5. Clases de lípidos y composición de ácidos grasos en el aceite, emulsión y microencapsulado.	64
7.6. Vida de anaquel de los productos aceite, emulsión y microencapsulado	70
7.7. Bebidas lácteas nutricionalmente mejoradas	75
7.8. Incidencia de los ácidos grasos de la emulsión en hipertensión, hipertrigliceridemia y fenilcetonuria	78
7.9. Costos de operación y rentabilidad de las producciones de aceite, la emulsión y el microencapsulado	81
8. CONCLUSIONES	87
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
10. ANEXOS	105

LISTA DE TABLAS	Pág.
Tabla I Especies de tiburones en aguas cubanas	7
Tabla II. Composición de ácidos grasos en diferentes especies de peces y mamíferos	10
Tabla III Restricciones para confeccionar el diseño de mezcla.	30
Tabla IV. Matriz de la emulsión de tiburón.	31
Tabla V Restricciones de los soportes para la elaboración del AHTM	33
Tabla VI Composición de la matriz con las restricciones para la goma Arábica y la gelatina.	33
Tabla VI. Restricciones de aceite y agua para la elaboración del microencapsulado	34
Tabla VIII Composición de la matriz con restricciones de aceite y agua	34
Tabla IX Indicadores de calidad del aceite de hígado de tiburón	53
Tabla X Resultados del comportamiento de la separación del aceite de hígado de tiburón y de la viscosidad en la emulsión en las diferentes combinaciones estudiadas	55
Tabla XI Coeficientes del polinomio y su significación en las variaciones de la estabilidad.	56
Tabla XII Coeficientes del polinomio y su significación en las variaciones de viscosidad.	57
Tabla XIII. Variante escogida en la intersección de la superficie de respuesta	59

Tabla XIV Indicadores de calidad de la emulsión saborizada.	59
Tabla XV Resultados de la prueba de aceptación de las emulsiones saborizadas	60
Tabla XVI Porcentaje de aceite microencapsulado en las variantes con restricciones de goma arábica y gelatina base.	61
Tabla XVII Contenido de aceite microencapsulado en las variantes ensayadas con restricciones de agua y aceite	62
Tabla XVIII Caracterización del aceite microencapsulado	63
Tabla XIX. Clases de lípidos en el aceite de hígado de tiburón	65
Tabla XX Ácidos grasos en las fracciones neutra y polar del aceite	68
Tabla XXI Composición de ácidos grasos en el aceite, emulsión y microencapsulado	69
Tabla XXII Valores de peróxido durante el almacenamiento del aceite, emulsión y polvo	72
Tabla XXIII Valores de TBARS durante el almacenamiento del aceite, emulsión y polvo	74
Tabla XXIV Aporte de EPA y DHA de los productos desarrollados	77
Tabla XXV Lípidos plasmáticos antes y después de la suplementación con la emulsión	81
Tabla XXVI Costos de operación para la producción de 1 t y 60 t de aceite de hígado de tiburón	82
Tabla XXVII Costos de operación para la producción de 1 t y 200 t de emulsión	83

Tabla XXVIII. Costos de operación para la producción de 1 t y 81.6 t de aceite microencapsulado	84
Tabla XXIX Indicadores económicos de la producción de 1 t y 60 t de aceite	85
Tabla XXX Indicadores económicos de la producción de 1 t y 200 t de emulsión	85
Tabla XXXI. Indicadores económicos de la producción de 1 t y 81.6 t de aceite microencapsulado.	86

LISTA DE FIGURAS

Pág

Figura 1. Capturas de tiburones en el periodo 1964-2003	6
Figura 2. Flujo tecnológico para la extracción del aceite de hígado de tiburón.	28
Figura 3. Flujo tecnológico para la elaboración de una emulsión saborizada.	32
Figura 4. Procedimiento para la microencapsulación de aceite	35
Figura 5. Equipo Niro Atomizer modelo MINOR con capacidad de secado de 5 kg/h.	36
Figura 6. Grado de oxidación (Sustancias Reactivas con el Ácido Tiobarbitúrico, TBARS) en dependencia de la temperatura y el tiempo de cocción	52
Figura 7. Porcentaje de rendimientos en dependencia de temperatura y tiempo.	52
Figura 8. Representación gráfica del análisis superficie de respuesta	58
Figura 9. Perfil de distribución de partículas en el aceite	64
Figura 10 Comportamiento del índice de peróxido durante el almacenamiento del aceite, emulsión y microencapsulado	71
Figura 11. Comportamiento de las Sustancias Reactivas con el Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) en aceite, emulsión y microencapsulado.	73
Figura 12. Resultados de la prueba de ordenamiento del yogurt	76

mejorado nutricionalmente con aceite de hígado de
tiburón microencapsulado.

- Figura 13. Resultados prueba de ordenamiento de la bebida láctea
instantánea . 77
- Figura 14. Comportamiento de la presión arterial en pacientes
que consumieron la emulsión saborizada 79

LISTA DE ANEXOS

García, E., Gutiérrez, S., Nolasco, H., Carreón, L., Arjona, O. (2004). Lipid composition of shark liver oil. Effects of emulsifying and microencapsulation processes.

Aceptado en: **European Food Research and Technology**.

García, E., Gutiérrez, S., Nolasco, H. (2005). Caracterización de lípidos en aceite de hígados de tiburones costeros de Cuba.

Publicado en: **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, vol VI, No 8.**

www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html

García, E., Gutiérrez, S., Nolasco, H. (2003). Development of Enriched Milky Drinks with Fatty Acids.

Sometido en: **Journal of Aquatic Food Product Technology**.

RESUMEN

Durante los últimos años, ha existido gran interés en el estudio de los lípidos de organismos marinos, debido a su composición, y especialmente por su contenido de ácidos grasos polinsaturados del grupo omega-3, ya que forman la parte de las estructuras celulares básicas e intervienen en procesos metabólicos en mamíferos. Teniendo en cuenta dichas propiedades se dirigió esta investigación a la obtención de aceite a partir de una mezcla de hígados de tiburones (*Ginglymostoma cirratum*, *Carcharhinus longimanus*, y *C. falciformis*) capturados en las costas de Cuba, al cual se le determinó la composición de los lípidos y el perfil de ácidos grasos en las fracciones neutra y polar, utilizando las técnicas de TLC-Iatroscan, y Cromatografía Gaseosa. Se aplicaron los procesos de emulsificación y microencapsulación para incrementar la estabilidad del aceite. A la emulsión y al aceite microencapsulado obtenidos se les determinó la composición de ácidos grasos para conocer si los procesos aplicados incidían en la misma. Los triglicéridos constituyeron el 97,2 % del total de los lípidos en el aceite y los fosfolípidos el 0,3 %. Se identificaron 20 ácidos grasos en la fracción neutra, y 17 en la fracción polar. Los polinsaturados representaron 26,5 % del total de ácidos grasos identificados en el aceite. Los procesos de emulsificación y microencapsulación no incidieron significativamente en el perfil de ácidos grasos del aceite de hígado de tiburón, redujeron la oxidación, y aumentaron su estabilidad, prolongando su tiempo de vida útil hasta 150 días. Se desarrollaron dos bebidas lácteas (yogurt y leche instantánea) enriquecidas con el aceite de hígado de tiburón microencapsulado, las mismas fueron evaluadas de buena por un grupo de 80 consumidores y cubren entre 4-12% del requerimiento diario del ácido eicosapentaenoico (EPA) y 15-

51% del requerimiento del ácido docosahexaenoico (DHA). Se evaluó el efecto de los ácidos grasos polinsaturados en pacientes hipertensos, hipertriglicéridémicos y fenilcetonúricos al suplementar su dieta diaria con 15 mL de emulsión, lográndose una reducción de la presión arterial sin el consumo de medicamentos hipotensores en los pacientes hipertensos y la estabilización en los niveles de colesterol y lipoproteínas (HDL y LDL) en los pacientes fenilcetonúricos. La evaluación económica de los procesos de obtención de aceite, emulsiones y aceite microencapsulado demostró la factibilidad de sus producciones a escala industrial.

Palabras clave: Aceite hígado tiburón, clases lípidos, ácidos grasos polinsaturados, emulsión, microencapsulación.

ABSTRACT

During the last few years, there has been great interest in the study of marine lipids because of their composition, and especially because of their omega-3 polyunsaturated fatty acids as they form part of the basic cellular structures and intervene in metabolic processes in mammals. The lipid composition and fatty acid profile in neutral and polar fraction was determined by TLC-Iatroscan, and Gas Chromatography, in shark oil obtained from a pool of livers from the following species: *Ginglymostoma cirratum*, *Carcharhinus longimanus*, and *C. falciformis* captured in Cuban waters. Two processes, emulsification, and microencapsulation were applied to increase oil stability. The fatty acid profile was obtained for emulsion and microencapsulated oil and the effect of applied treatments was evaluated. Shark oil composition was mainly Triglycerides (97.2 %) and a small concentration of phospholipids (0.3 %). Twenty one fatty acids were identified in neutral fraction, and 18 in polar fraction, polyunsaturated ones represented 26.5 % of total lipids in the liver oil. Emulsification and microencapsulation processes do not significantly affect fatty acid shark oil composition; in contrast they reduce oxidation, and increase oil stability to 150 days. Two milky drinks were enriched with the microencapsulate shark liver oil. They were evaluated with good acceptance by a group of consumers and they cover 4-12% of the daily requirement of EPA and 15-51% of the requirement of DHA. The fatty acid incidence on patient with high blood pressure, high triglyceride and fenilcetonuric was evaluated by the supplementation with emulsion in its daily diet. The economic evaluation of the processes showed the feasibility of their productions at industrial scale.

Key words: shark liver oil, lipid characterization, polyunsaturated fatty acids, emulsification, microencapsulation

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se atribuyó gran importancia en la nutrición humana a los ácidos grasos polisaturados de cadena larga y particularmente, a los omega-3 (Nettleton, 1995; Stone, 1996; De Caterina y col., 2003; Calder, 2003) ya que forman parte de las estructuras celulares básicas e intervienen en los procesos metabólicos en mamíferos (Pawlosky y col., 2003). Numerosos estudios han demostrado que el consumo permanente de ácidos grasos omega-3 en cantidades adecuadas disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Bigger y col., 2001), produce un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de ciertos cánceres, estimula las funciones inmunológicas (Side y col., 1998) y son requeridos para el desarrollo del cerebro (Haag, 2003) y la visión del feto (Connor, 1990). Varios efectos de estos ácidos grasos se derivan de su acción sobre la fluidez de las membranas, mientras que otros se producen a través de modificar el patrón de lipoproteínas del plasma o las propiedades funcionales del endotelio vascular, de ahí sus potenciales aplicaciones en diversas patologías como la hipertensión (presión arterial 140/80 mmHg o más), la hipertrigliceridemia (triglicéridos sanguíneos >2,3 mmol/L), la aterosclerosis (acumulación de depósitos adiposos en el interior de las paredes de las arterias) afectaciones de la piel y enfermedades inflamatorias crónicas (Penny y col., 2002).

No obstante, las fuentes de estos ácidos grasos no siempre forman parte de los alimentos de consumo cotidiano. Los ácidos grasos del grupo omega-3 están presentes principalmente en los productos de origen marino, siendo los peces y sus derivados industriales, como las harinas y los aceites las fuentes mas importantes (Oomen, 2000; Hu, 2002).

La producción mundial de aceites de pescado ha sido como promedio de los últimos años de 1.2 millones de toneladas (FAOSTAT, 2005) de la cual el 79% es destinada a la acuicultura, el 5% a producciones industriales, 14% al consumo humano y el 2% al desarrollo de productos farmacéuticos (IFFO, 2002). Los bajos niveles de utilización de los aceite de pescado en la alimentación humana están dados fundamentalmente por su olor y sabor característicos, así como el alto grado de insaturación de sus ácidos grasos que los hacen susceptibles a la oxidación. Esto ha exigido la aplicación de procesos tecnológicos que mejoren sus propiedades organolépticas y garanticen una mayor estabilidad.

Estas dificultades unidas a la necesidad de suplementar la nutrición humana con ácidos grasos omega-3 han motivado a la industria alimenticia a aplicar procedimientos que permitan aumentar la ingesta nutrimental de estos ácidos grasos a través del desarrollo de alimentos funcionales.

Aunque la grasa de depósito en la mayoría de los peces se localiza principalmente debajo de la piel, usualmente a lo largo de la línea lateral y alrededor del abdomen, algunas especies como el tiburón y el bacalao acumulan una cantidad considerable de aceite en el hígado (Kinsella, 1986; Jayasinghe y col., 2003). Sobre la plataforma cubana, los tiburones se encuentran entre los recursos pesqueros comerciales importantes; sin embargo, a pesar de que su hígado es una fuente de aceite, constituye en gran medida un desecho de las pesquerías. El objetivo del presente estudio es establecer los parámetros tecnológicos para el aprovechamiento de este subproducto en la obtención de aceite y su aplicación en el desarrollo de productos nutricionalmente mejorados.

La microencapsulación, mediante el secado por atomización, hace el aceite más digestible y apropiado para añadir a algunos alimentos con el fin de aumentar su valor

nutritivo (Grave, 1972; Wallace, 2000) y la emulsificación, donde las moléculas de aceite son cubiertas por un soporte que garantiza una mayor estabilidad oxidativa (Osborn y col., 2004), enmascara sus características organolépticas y facilita su consumo directo. Estas dos presentaciones del aceite de hígado de tiburón podrían constituir formas de alta efectividad para aumentar su ingesta mediante el enriquecimiento de alimentos de consumo habitual, por lo que es necesario investigar la aplicación de estas tecnologías para el desarrollo de una emulsión saborizada y la microencapsulación del aceite de hígado de tiburón sin que se afecten sus propiedades nutricionales.

2. ANTECEDENTES

2.1 Pesquerías de tiburones en Cuba.

En los últimos años, el interés sobre tiburones y peces cartilagosos en general, ha resurgido a nivel internacional, no solo por el valor de su carne y aletas, sino además, por la importancia que para la salud presenta el aceite obtenido de sus hígados (Kjerstad y Fossen, 2003). Kreuzer y Ahmed (1999) y Vannuceini (1999) reportaron que la talla y peso del hígado en los tiburones varía en dependencia de la especie y época del año y que en algunos tiburones el hígado puede llegar a ser hasta el 20 % del peso total del animal.

En la plataforma cubana los tiburones constituyen un recurso comercial importante desde hace muchos años. El estudio de sus poblaciones ha incluido su caracterización taxonómica, la determinación de las especies más representativas por zonas de pesca, sus aspectos biológicos y pesqueros, artes y esfuerzo de pesca, la abundancia de las especies, su estado de explotación, los principales factores del ordenamiento de la actividad extractiva para su mejor administración pesquera y su protección (Espinosa, 1983, 1987, 1994, 1997), así como la experimentación de procesos tecnológicos para la obtención de aceite del hígado con calidad para consumo humano (Navarro, 1998).

Guitart (1975) presentó las claves de identificación, así como las características generales de 37 especies de tiburones en aguas cubanas y en 1983, ofreció aspectos generales de la biología, ecología y aprovechamiento de los tiburones de Cuba. Espinosa (1997), siguiendo la clasificación establecida por Compagno (1984) reporta la existencia de 5 órdenes de tiburones para Cuba, 12 familias, 29 géneros y 46 especies (Tabla I), aunque la captura de 16 de éstas, ocurre ocasionalmente.

Desde el punto de vista comercial son 23 especies de tiburones las que han soportado las capturas históricas en la plataforma cubana, 8 especies son de hábitos costeros, 8 son pelágicas, 3 especies efectúan migraciones hacia adentro y fuera de las aguas de la plataforma insular, las cuales pueden capturarse tanto en aguas costeras como oceánicas, en dependencia del arte de pesca que se emplee y 4 son de aguas profundas (Espinosa, 1997).

La talla común de los tiburones costeros desembarcados a lo largo de Cuba, oscila entre 60 y 255 cm, la de los tiburones pelágicos entre 149 y 348 cm y los de profundidad, entre 83 y 408 cm. (Espinosa, 1997). En la plataforma cubana, no se puede hablar de una pesquería dirigida de tiburón en su concepción tradicional, ya que las embarcaciones que desarrollan la pesca de tiburones y otros peces cartilaginosos durante parte de sus campañas de pesca, tienen como objetivo principal la captura de peces óseos, por lo que pudiera catalogarse esta actividad como una pesca incidental y alternativa. Se realiza además, una pesca estacional por parte de algunos barcos, los cuales aprovechan las concentraciones de algunas especies, como la del tiburón gata durante los meses de abril-mayo. Existen también barcos que realizan pesquerías oportunistas de tiburones, la cuál consiste en pescarlos mientras tienen calados otros artes, ó simplemente cuando los meses de mejores rendimientos de peces han pasado (marzo-septiembre). Los artes de pesca más utilizados son las redes ó trasmallos y los palangres de placer (Espinosa, 1994).

Las capturas de tiburones en aguas cubanas desde 1962 al 2003, se presentan en la Figura 1, en la que se observa que a partir de 1968, el nivel de capturas se encontró por primera vez, sobre las 2000 t, manteniéndose como promedio a ese nivel hasta 1988, Posteriormente hubo una disminución sostenida hasta 1993, cuando solamente se

alcanzaron 929 t, debido fundamentalmente a una disminución del esfuerzo pesquero. A partir de esa fecha y debido a la recuperación del esfuerzo de pesca, se incrementó la captura a 1382 t en 1994, 1409 t en 1995 y 1436 t en 1996. Entre 1997-1999 el orden de capturas se encontró entre 1500-1700 t anuales, disminuyendo a 1020 t en el año 2000 y en el 2003 los niveles de captura estuvieron en el orden de las 1132 t (Espinosa, 2003, comunicación personal).

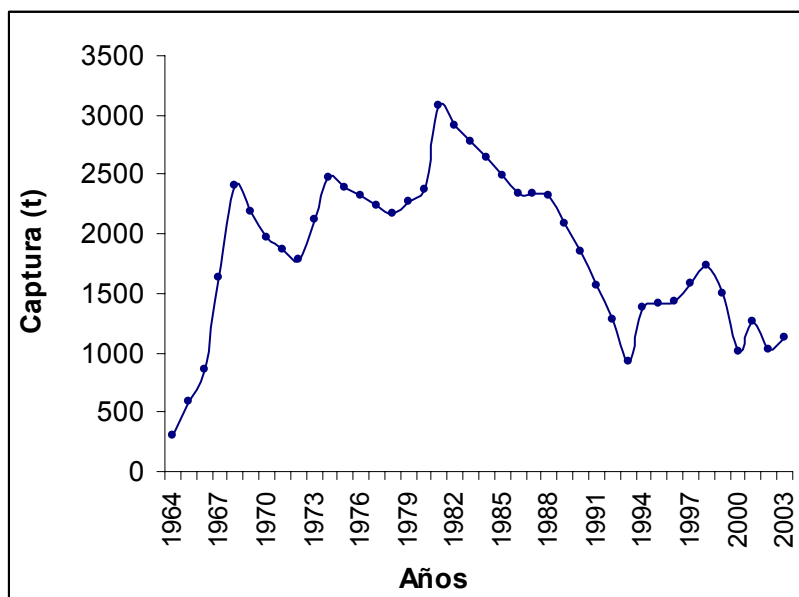


Figura 1. Capturas de tiburones en el periodo 1964-2003 (Espinosa 2003)

Tabla I. Especies de tiburones en aguas cubanas.

Ordenes	FAMILIAS	Géneros	ESPECIES	Nombres comunes	
Squaliformes	Squalidae	Squalus	<i>S.cubensis</i>	Galludo cubano	
			<i>S.asper</i> *	Galludo espinoso	
	Dalatidae	Etmopterus	<i>E. hillianus</i>	Tib. enano	
			Centrophorus	<i>C. granulatus</i>	Tib. Del alto
			Centroscyrnus	<i>C. coelolepis</i> *	Tib. portugués
			Dalatias	<i>D. licha</i> *	Tib. Foca
			Somniosus	<i>S. microcephalus</i> *	Tib. Polar
				<i>S. rostratus</i> *	Tib. Durmiente
				<i>S. pacificus</i> *	Tib. Del Pacífico
Hexanchiformes	Hexanchidae	Hexanchus	<i>H.griseus</i>	Marrajo	
				<i>H.vitulus</i>	Cazón de fondo
			Heptranchias	<i>H. perlo</i> *	Tib de 7 branquias
Orectolobiformes	Rhiniodontidae	Rhiniodon	<i>R. typus</i> *	Tib. dama	
	Ginglimostomatidae	Ginglimostoma	<i>G. cirratum</i>	Tib. gata	
Lamniformes	Alopiidae	Alopias	<i>A. superciliosus</i>	Tib. Zorro	
	Odontaspidae	Eugomphodus	<i>E. taurus</i> *	Tigre de arena	
			<i>O. ferox</i> *	de arena japonés	
	Lamnidae	Isurus	<i>I. oxyrinchus</i>	Dientuso azul	
				<i>I. paucus</i>	Dientuso prieto
			Carcharodon	<i>C. carcharias</i> *	Jaq.de ley ó blanco
	Scyliorhinidae	Scyliorhinus	<i>S. boa</i> *	Gatica del alto	
			Apristurus	<i>A.rivieri</i>	Gatica afilada
			Galeus	<i>G. arae</i>	Gatica manchada
			Mustelus	<i>M. canis</i>	Boca dulce
			Triakis	<i>T. barbouri</i> *	Turquino
			Allomycter	<i>A.dissutus</i> *	Narigón
			Pseudotriakidae	Pseudotriakis	<i>P.microdon</i> *
	Sphyrnidae	Sphyrna	<i>S. mokarran</i>	Cornuda de ley	
			<i>S. lewini</i>	Cornuda oceánica	
			<i>S. zygaena</i>	Cabeza de martillo	
			<i>S.tiburo</i>	Cornuda de corona	
Carcharhiniiformes	Carcharhinidae	Galeocerdo	<i>G.cuvieri</i>	Tigre	
		Rhizoprionodon	<i>R. porosus</i>	Cazón de playa	
		Prionace	<i>P. glauca</i>	Tib. Azul	
		Negaprion	<i>N.brevirostris</i>	Galano de ley	
		Hypoprion	<i>H.signatus</i>	Tib. de noche	
		Carcharhinus	<i>C. longimanus</i>	Galano	
			<i>C. plumbeus</i>	Arenero	
			<i>C. altimus</i>	Baboso	
			<i>C. falciformis</i>	Jaquetón	
			<i>C. obscurus</i>	Tib. Amarillo	
			<i>C. perezii</i>	Cabeza dura	
			<i>C. leucas</i>	Cabeza de batea	
			<i>C. acronotus</i>	Tib. Limón	
			<i>C. limbatus</i>	Aletinegro, balicero	
		<i>C. brevipinna</i>	Tib. De arrecife		

* Ocurren ocasionalmente.

2.2. Características generales de los lípidos del pescado.

Los lípidos, son un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos diversos, solubles en solventes orgánicos (cloroformo, metanol o benceno), y casi insolubles en agua. Sus funciones también son diversas, en muchos organismos los triacilglicéridos son la forma principal de almacenamiento energético (Hølmer, 1989) mientras que los fosfolípidos y los esteroides forman parte de la estructura de las membranas celulares (Vaskovsky, 1989). Otros tipos de lípidos aun estando en pequeñas cantidades realizan funciones importantes como cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, agentes emulsionantes, hormonas y mensajeros intracelulares (Chapman, 1990).

Los lípidos presentes en los peces pueden ser divididos en dos grandes grupos: los fosfolípidos y los triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de la unidad de membranas en la célula, por lo tanto, a menudo se le denomina lípidos estructurales (Hiratsuka, 2004). Los triglicéridos son lípidos empleados para el almacenamiento de energía en depósitos de grasas, generalmente dentro de células especiales rodeadas por una membrana fosfolipídica y una red de colágeno relativamente débil, Los triglicéridos son a menudo denominados depósitos de grasa (Navarro, 2000). Algunos peces contienen ceras esterificadas como parte de sus depósitos de grasa (Ackman, 1980).

El músculo blanco de un pez magro típico como el bacalao, contiene menos del 1 % de lípidos, de este porcentaje, los fosfolípidos constituyen el 90 % (Ackman, 1980). La fracción fosfolipídica en el pescado magro consiste en un 69 % de fosfatidil-colina, 19 % de fosfatil-etanolamina y 5 % de fosfatidil-serina. Adicionalmente, existen otros fosfolípidos pero en cantidades inferiores (Brockerhoff y col. 1963). Todos los fosfolípidos se encuentran almacenados en las estructuras de la membrana, incluyendo la membrana

celular, el retículo endoplasmático y otros sistemas tubulares intracelulares, como también en membranas de los organelos como las mitocondrias. Además de fosfolípidos, las membranas también contienen colesterol, que contribuye a la rigidez de la misma (Stansby, 1990). En el tejido muscular de pescados magros se puede encontrar colesterol hasta en un 6 % del total de los lípidos (Stansby, 1990).

Las células grasas, que constituyen los depósitos de lípidos en las especies grasas, están localizadas generalmente en el tejido subcutáneo, en los músculos del vientre y en los músculos que mueven las aletas y la cola. En algunas especies que almacenan cantidades extraordinariamente elevadas de lípidos, la grasa puede ser depositada en la cavidad ventral o encontrarse esparcida por toda la estructura muscular (Love, 1970). La concentración de células grasas parece ser más elevada cerca de las miocomatas y en las regiones entre el músculo blanco y el oscuro (Kießling y col., 1991). El músculo oscuro contiene algunos triglicéridos dentro de las células musculares, incluso en peces magros, dado que este músculo es capaz de metabolizar directamente lípidos para la obtención de energía. Las células del músculo claro dependen del glucógeno como fuente de energía para el metabolismo anaeróbico (Ando, 1982).

El tiburón, en contraste con otros peces, no tiene vejiga natatoria, en ellos el hígado actúa como órgano hidrostático; una cantidad significativa de los lípidos es almacenada en el hígado y puede estar constituida por éteres alquílicos de los alcilglicéridos o por el hidrocarburo escualeno (Buranudeen y Rajadurai, 1986).

Además de estos componentes, la grasa depositada contiene sustancias liposolubles no hidrolizables tales como las vitaminas A, D y E, materias colorantes o pigmentos (Ackman, 1990). El total de sustancias no hidrolizables de la grasa de los tejidos conectivos

y muscular del pescado es baja (Ackman, 1980). La grasa del músculo del pescado fresco siempre contiene muy pocos ácidos grasos libres y debido a la presencia de fosfolípidos esta grasa usualmente contiene nitrógeno en cantidades desde 0,01% y fósforo en cantidades desde 0,014% hasta 0,20%. También han sido encontrados en la grasa del pescado pequeñas cantidades de iodo, bromo, cloro, arsénico y azufre (Stansby y col., 1967).

Los lípidos de los peces difieren de los lípidos de los mamíferos pues están compuestos por ácidos grasos de cadena larga (14-22 átomos de carbono) con un alto grado de insaturación (Stansby y col., 1967; Wetzel, 2004). Debido al gran número y diversidad de sus ácidos grasos, la grasa del pescado tiene una estructura mucho más compleja que la de otros animales terrestres de sangre caliente, habiéndose demostrado en general que es muy rica en ácidos grasos altamente insaturados (Tabla II) particularmente con 4 ó 6 dobles enlaces (Stone, 1996).

Tabla II. Composición de ácidos grasos en diferentes especies de peces y mamíferos

Ácidos grasos	Vacuno	Cerdo	Cordero	Ternera	Atún	Salmón
Saturados (%)	38.2	35.3	35.7	27.9	28.5	16.2
Monoinsaturados (%)	42.0	44.7	43.8	35.7	19.4	27.1
Polinsaturados (%)	3.4	7.52	6.51	8.9	41.1	39.2

Tomado de USDA Composition of Foods - Raw, Processed, Prepared. USDA Human Nutrition Information Service. Agriculture Handbook 8 Series

Los aceites de pescado pueden ser obtenidos como subproducto en la producción de harinas de pescado o elaborados a partir de residuos después del proceso de fileteado. Para

la extracción del aceite, el pescado es sometido a un proceso de cocción. La temperatura a aplicar en esa operación ha sido evaluada por diferentes investigadores debido a su incidencia en el grado de oxidación del aceite a obtener. Okkerman y col. (2000) utilizan una temperatura de cocción de residuos de pescado alrededor de los 100 °C para lograr la desnaturalización de las proteínas y la liberación del aceite. Otros autores (Pacheco y Barrera, 1994) aplicaron una temperatura de 75 °C durante 15 minutos para la extracción de aceite a partir de hígados de tiburón azul (*Prionace glauca*). Los indicadores de procesos oxidativos fueron superiores en el primer caso lo que muestra las afectaciones de la temperatura.

La oxidación de los lípidos, conocida también como rancidez oxidativa, es una de las reacciones que deteriora y afecta en forma más importante la calidad de un aceite. La rancidez oxidativa es iniciada por radicales libres del oxígeno o por el ataque del oxígeno molecular a radicales libres pre-formados en los ácidos grasos polinsaturados que conforman las grasas y aceites, desencadenando así los fenómenos de oxidación (Shahidi, 1994). Los primeros productos de la oxidación de lípidos son los peróxidos, los que a su vez pueden seguir diversas rutas químicas. Por ejemplo: doble oxidación, polimerización, ruptura, deshidratación y reacción con otros componentes (proteínas), generando productos secundarios de oxidación como aldehídos de cadena corta y cetonas entre otros (Gray, 1978; Vercellotti, 1992). Todos estos mecanismos forman compuestos que son responsables de los olores y sabores típicos de las grasas oxidadas.

Entre los métodos químicos usados para medir la oxidación de los lípidos se encuentran el valor de peróxidos, donde el peróxido resultante de la oxidación reacciona con yoduro en medio ácido, liberando yodo el cual es valorado con tiosulfato de sodio

(Shahidi, 1994). Este método nos permite medir la oxidación lipídica inicial, ya que su valor después de cierto tiempo decrece debido a que los peróxidos se utilizan para formar los compuestos secundarios, es por ello que para continuar el curso de la oxidación es necesario medir los productos de fragmentación, como lo son los compuestos carbonilos formados, principalmente el malonaldehído (Raharjo, 1993). La determinación calorimétrica del malonaldehído usando ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) es el método más usado en alimentos y sistemas biológicos (Decker, 1998).

Es interesante señalar que de todos los componentes del pescado, los lípidos son los que más ampliamente varían de una a otra especie, haciéndolo siempre en forma inversamente proporcional a los cambios que presenta el contenido de agua en las mismas. La composición de las sustancias grasas en la carne y otras partes y órganos del pescado así como el contenido y proporción relativa de los diferentes ácidos grasos, el contenido de fosfolípidos y otras sustancias no hidrolizadas varían ampliamente de acuerdo con las especies, sexo, edad, alimentación, hábitat y condiciones fisiológicas del animal (Varljen, 2003).

2.2.1. Importancia nutricional de los lípidos del pescado.

Estudios epidemiológicos y de intervención nutricional indican que el consumo de ácidos grasos polinsaturados n-3 de cadena larga produce cambios en variables homeostáticas asociadas a efectos benéficos para la salud. Existen dos familias de ácidos grasos polinsaturados n-6 y n-3. Los n-6 derivan del ácido linoleico, con dos enlaces, y se caracteriza por tener su primer doble enlace en el carbono número 6 de la cadena contando desde el metilo del extremo de la misma. La familia de la n-3 deriva del ácido α -linolénico,

con tres dobles enlaces, cuyos ácidos grasos tienen su primer doble enlace en el carbono número 3 de la cadena (Carrero, 2005). Los ácidos linoleico y α -linolénico son ácidos grasos esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y por tanto, deben ser aportados por la dieta (Stone 1996; Sanders, 2000). Los diferentes números y posiciones de los dobles enlaces de la cadena confieren a los ácidos grasos diferentes propiedades fisiológicas derivadas de su metabolismo, lo que hace que la relación entre los ácidos grasos n-3 y n-6 de la dieta sea muy importante (Haag, 2003).

El ácido linoleico se metaboliza a ácido araquidónico y el α -linolénico da lugar al ácido eicosapentaenoico (EPA) y al ácido docosahexaenoico (DHA). Todos ellos emplean las mismas rutas metabólicas y compiten por las mismas enzimas elongasas y desaturasas. Además de ser una fuente de energías, las familias n-3 y n-6 se incorporan a las células, donde son precursores de los eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos) (Crawford y col.; 1989; Carlson y col., 1994), que intervienen en numerosos procesos fisiológicos tales como la coagulación de la sangre o las respuestas inflamatorias e inmunológicas. El consumo de ácidos grasos n-6 y n-3 determina los tipos y cantidades de eicosanoides en el organismo, lo cual influye potencialmente en todos los procesos en los que intervienen.

Los efectos nutricionales y fisiológicos atribuidos a los ácidos grasos omega-3 de cadena muy larga, están sólidamente documentados, estudios epidemiológicos y de intervención indican que el consumo de ácidos grasos n-3 puede afectar favorablemente a la salud cardiovascular (Kris-Etherton, 2003, Carrero y col., 2005). El EPA produce efectos hipotriglicéidémicos, hipocolesterolémicos y antiinflamatorios (Willians y col., 1992; Harris, 1997, Penny y col., 1999 y Valenzuela, 1999). Datos publicados apoyan sobre los

efectos de los PUFA marinos n-3 en la prevención y tratamiento de aterosclerosis (Harris, 2003), trombosis (Nestel y col., 2002), enfermedades de autoinmunización (Sidex y col., 1998) entre otras.

Los ácidos grasos n-3 pueden estimular la producción endotelial de óxido nítrico que provoca la relajación de las células del músculo liso permitiendo la dilatación de los vasos sanguíneos que reduce a su vez la presión sanguínea (Appel y col., 1993, Mori, 1999). Los efectos de los ácidos grasos n-3 en pacientes hipertensos han sido estudiados en varios ensayos clínicos en los que se han observado reducciones de la presión arterial, tanto la sistólica, como la diastólica y la presión arterial media. (Toft, 1995; Holm, 2001)

Durante la etapa fetal e infantil los ácidos grasos n-3 tienen un papel fundamental en el desarrollo del cerebro, el sistema nervioso central, la retina y el crecimiento (Crawford, 1989, Birch, 1992; Carlson, 1994; Uauy, 2001; Lauritzen y col., 2001; Valenzuela, 2001), por lo cual el consumo de pescado, especialmente de aquellos con mayor composición grasa es la recomendación nutricional más adecuada.

La Fenilcetonuria es un trastorno del metabolismo de los aminoácidos, en especial de la fenilalanina, susceptible de tratamiento dietético (Jiménez, 1993; Porrata, 1997; Nelson, 1997). Los enfermos comienzan a sufrir afecciones derivadas del desequilibrio metabólico, desde el momento que inician la ingestión de proteínas en la dieta. Cuando el hígado del nuevo ser comienza a ejercer sus funciones después del nacimiento, es que ocurre el fallo metabólico, en el paso de fenilalanina a tirosina, por deficiencia de la enzima hepática fenilalanina hidroxilasa o de su cofactor pteridina. Este fallo provoca aumento en sangre de las concentraciones de fenilalanina que dañan el metabolismo de las células nerviosas. Posteriormente, su expresión clínica fundamental es un retraso psicomotor con afectación del

desarrollo intelectual y retraso mental severo (Heredero, 1986; Barrios, 1989). Por todo lo anterior es imprescindible el más estricto control dietético de los pacientes en los primeros años de vida para evitar el daño en los momentos en que su sistema nervioso debe ir ganando en desarrollo; aún en épocas posteriores el buen control dietético es importante para que las funciones ya ganadas no se perturben.

A los pacientes con Fenilcetonuria les son totalmente prohibidos los alimentos naturales de origen animal por la importante fuente de aminoácidos y entre ellos de fenilalanina, que representan. Por tal situación, su alimentación está desprovista de ácidos grasos n-3, mayormente contenidos en las carnes de pescados y en algunos vegetales, constituyendo los aceites de pescado una fuente alternativa de ácidos grasos para estos enfermos. El pescado se encuentra entre las mejores fuentes PUFA w-3, pero como en general presentan bajo contenido en lípidos, sería necesario consumir mucho pescado para garantizar determinada cantidad de éstos ácidos, por lo que actualmente se está utilizando la suplementación con aceite de pescado o por cápsulas de ácidos grasos polinsaturados concentrados. La principal fuente industrial marina de PUFA n-3 es el aceite de pescado de especies pelágicas (sardinas, anchoas, arenque), de hígados de bacalao y tiburón, los cuales tienen una alta concentración (14 -30%) de ambos ácidos (EPA y DHA) en el total de sus ácidos grasos (Aidos, 2002).

2.3 Alimentos funcionales.

La primordial función de la dieta es aportar los nutrientes y la energía necesarios para satisfacer las necesidades nutricionales de las personas. Existen cada vez más pruebas científicas que apoyan la hipótesis de que ciertos alimentos, así como algunos de sus

componentes tienen efectos físicos y psicológicos benéficos, gracias al aporte de los nutrientes básicos (Roberfroid, 2000; Valenzuela, 2000). Hoy en día, las investigaciones han pasado a centrarse más en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos, que ofrezcan la posibilidad de mejorar las condiciones físicas y mentales, así como de reducir el riesgo a contraer enfermedades. Se ha descubierto que muchos productos alimenticios tradicionales, contienen componentes que pueden resultar provechosos para la salud. Además de éstos, se están desarrollando nuevos alimentos que añaden o amplían estos componentes benéficos, por las ventajas que suponen para la salud y sus convenientes efectos psicológicos.

Diversos estudios señalan los efectos benéficos en la nutrición y en la salud humana de los omega-3 (Simopoulos, 1991), sin embargo las fuentes de estos ácidos no siempre forman parte de las dietas. Esto supone la necesidad de promover la adopción de nuevos hábitos alimentarios, y al mismo tiempo buscar vías alternativas, por ejemplo a través de enriquecimiento de alimentos que sí son de consumo cotidiano tales como pan, margarinas, grasas untables, huevos, pastas salsas, bebidas, carnes y productos lácteos entre otros (Alvídrez- Morales, 2002).

Recientemente un grupo de investigadores de la Universidad de Granada, estudiaron los efectos de los ácidos grasos omega-3, (en concreto el EPA y el DHA) en factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, mediante el consumo de leche enriquecida con aceite de pescado (Carrero y col., 2004). Tras 8 semanas de haber consumido leche enriquecida con omega-3, los niveles iniciales en plasma de EPA y DHA se incrementaron en un 33% y 30%, respectivamente. Una vez transcurridas las 8 semanas de consumo de leche enriquecida con omega-3 se observó una reducción del 6% del colesterol total y del

16% del colesterol LDL, factores de riesgo que como es bien conocido afectan negativamente la salud cardiovascular.

Según mostró el estudio, la leche es uno de los vehículos idóneos para la ingesta de nutrientes que contribuyen a reducir los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, ya que la absorción de EPA y DHA por el organismo a partir del aceite de pescado mejora cuando se asocia a otras grasas. El hecho de que la grasa de la leche esté muy dispersa, aumentando la superficie de absorción de las grasas y compuestos liposolubles, puede explicar los aumentos significativos de los niveles detectados en plasma de DHA y EPA, cuando sólo se suplementaron pequeñas cantidades en la dieta mediante la leche enriquecida.

Un aspecto importante a tener en cuenta cuando se adicionan estos ácidos grasos a los alimentos es que son muy susceptibles a la oxidación y reaccionan rápidamente cuando se exponen a condiciones o agentes oxidantes como el oxígeno del aire. La producción de alimentos enriquecidos con ácidos grasos n-3 a partir de aceites de pescado es técnicamente difícil y requiere de procesos tecnológicos que garanticen su estabilidad y mejoren sus propiedades organolépticas. Diferentes autores (Matzioris, 2000; Kolanowski y col., 1999; Kolanowski y col., 2001) han aplicado procesos de emulsión y microencapsulación, donde las moléculas de aceite son cubiertas por un soporte que constituye una barrera contra agentes externos y permite enmascarar sus características organolépticas facilitando su consumo.

2.4 Emulsiones

2.4.1 Aspectos Generales.

La teoría de la emulsión es en parte, una consecuencia de la química coloidal clásica y en parte, un desarrollo de las artes antiguas. Una emulsión es un sistema que contiene dos fases líquidas, una de las cuales se dispersa en forma de finas gotas en la otra. Tal sistema posee una estabilidad mínima que puede ser acentuada por aditivos tales como productos sólidos finamente divididos (Becker, 1972). Existen dos tipos distintos de emulsión, la distinción consiste en notar qué componente es el continuo y cuál la fase dispersa. La fase que está presente en forma de gotas finamente divididas se llama fase dispersa o interna, la que forma la matriz en que se suspenden estas gotas se denomina fase continua o externa (Robins, 2000). Así tomando el caso clásico de una emulsión de aceite y agua, puede existir una emulsión aceite en agua (aceite la fase dispersa) o una emulsión agua en aceite (agua en la fase dispersa). Los compuestos que se añaden a una emulsión para aumentar su estabilidad son conocidos como agentes emulsionantes, son compuestos orgánicos de cadena larga con cadenas sobresalientes solubles en aceite (lipofílicos) y además, laterales o grupos solubles en agua (hidrofílicos). Por lo tanto una porción de la molécula se disolverá en la fase oleosa y la cadena principal formará una especie de puente para mantener ambas fases en posición y así emulsificarse (Riscardo, 2003). Un buen agente emulsionante tiene dos propósitos, reducir la tensión interfacial entre los líquidos a emulsionar, ya que cuanto mayor sea ésta más difícil es de formar una emulsión y más inestable tiende a ser. El agente emulsionante debe tratar de que las gotas formadas no puedan aproximarse lo suficiente como para sumergirse, por consiguiente se debe crear una esfera alrededor de las partículas emulsionadas para evitar la coalescencia (Robins, 2000).

2.4.2 Propiedades físicas de las emulsiones

Las propiedades físicas de una emulsión dependen en gran parte de su composición y de su modo de preparación, siendo estas las que verdaderamente rigen el sistema (Sánchez y col., 2000, Osborn, 2004). Las propiedades generales de una emulsión se determinan por la fase externa, así, una emulsión del tipo aceite en agua funcionará como un sistema acuoso; esto quiere decir que podrá diluirse en agua pero no en aceite, disolverá sales solubles en agua, se coloreará con colorantes hidrosolubles y, además, podrá espesarse con gomas hidrosolubles o hidrocoloides (Preston, 1978).

La resistencia a la fluidez de las emulsiones es probablemente una de las más importantes propiedades, tanto desde el punto de vista práctico como teórico. Desde el punto de vista teórico la medición de viscosidad es capaz de dar suficiente información acerca de la estructura de las emulsiones. Es con frecuencia una guía para su estabilidad (Sánchez, 2000). Aunque en la literatura consultada no se reportan límites, se recomiendan utilizar soportes que proporcionen baja viscosidad. Las emulsiones de alta viscosidad crean dificultades durante el proceso de secado, fundamentalmente en la etapa de bombeo.

La estabilidad de una emulsión puede promoverse por la adición de materiales que incrementan la viscosidad (agente espesantes), por esto, el movimiento de las gotas líquidas se ve limitado y se evita el hundimiento. Esta propiedad también puede aumentarse con la adición de materiales niveladores de la gravedad específica tales como los aceites brominados (Robín, 2000). Cuando menor sea la diferencia en la gravedad específica entre las gotas líquidas y la fase continua, menor será la tendencia de estas gotas a subir o descender. El término estabilidad de una emulsión es bastante inexacto y puede ser dependiente de la temperatura, cambio de las propiedades físicas de la fase aceite con el tiempo, naturaleza y concentración del aceite emulsionante y la adición de agentes

químicos a la fase acuosa o aceite (Sánchez, 2000).

Las emulsiones son extremadamente importantes en la Industria de los Alimentos, muchos de los alimentos comunes son emulsiones del tipo aceite en agua y su estabilidad y calidad son determinantes para la aceptación por el consumidor (Gibbs, 1999). Los aceites marinos han sido muy utilizados desde hace varios años, fundamentalmente el aceite de hígado de bacalao en la preparación de emulsiones.

2.5 Microencapsulación

La microencapsulación puede ser considerada como una forma especial de empaquetar, en la que un material en particular es cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente o de influencias externas. Es un medio de envasar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas. Dentro del término microencapsulación, se incluyen las microcápsulas, las micropartículas, nanocápsulas y sustancias activas atrapadas o embebidas, aunque existe una terminología específica dependiendo de la industria de aplicación (Redziniak y Perrier, 1996).

La microencapsulación en la actualidad es aplicada en la preservación y protección de numerosos ingredientes comerciales (Brazel, 1999). El material que es cubierto se refiere como fase interna y el material que recubre es llamado pared y generalmente no reacciona con el material a encapsular (Balassa y Brody, 1968). Existen numerosas técnicas para la preparación de microcápsulas entre las que se encuentran el secado por aspersión (Brazel, y col., 1999). La selección del método a aplicar estará en dependencia de las propiedades del material a encapsular, el tamaño deseado de partículas y la aplicación de los mecanismos de liberación (Popplewell, 2001).

2.5.1 Secado por aspersión.

El secado por aspersión es el método más usado para encapsular ingredientes alimenticios, es por definición la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado caliente. El tamaño de las partículas obtenidas por este método es generalmente menor a 100 μm . El proceso consiste en la preparación de una emulsión o suspensión del material a encapsular en una solución encapsulante, la atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas (Re, 1998). La adecuada selección del atomizador y del agente encapsulante son factores importantes que se deben tener en cuenta. Una de las grandes ventajas de este método es que es muy apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto, entre 5 y 30 segundos (Deasy, 1983).

2.5.2 Agentes encapsulantes:

Los encapsulantes o materiales formadores de pared más utilizados en el secado por aspersión han sido: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados); gomas (arábica, mezquite, alginato de sodio); lípidos y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos). El tipo de material encapsulante tendrá influencia en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades del flujo en las mecánicas y en la vida útil del material deshidratado (Pedroza-Islas y col., 1999). Entre los agentes encapsulantes, las proteínas contribuyen con sus propiedades funcionales a la estabilización y formación del sistema alimenticio, es decir, poseen propiedades de hidratación, retención de agua, pueden gelificar, presentan fuerzas

de cohesión y adhesión, propiedades emulsificantes, espumantes y de retención de grasas y aromas. Por ejemplo, las proteínas aisladas del suero de la leche, se han venido usando para formar las paredes de las microcápsulas cuando se encapsula por secado por aspersión. Son adecuadas para este proceso donde una de las restricciones es usar solo materiales que aún en altas concentraciones sean de baja viscosidad (Young y col., 1993), poseen alta capacidad emulsificante y generan microcápsulas de alrededor de 2 μm . (Espinosa - Herrera, 2002).

Las gomas son polisacáridos hidrofílicos fundamentalmente o sus derivados y se caracterizan por su dispersabilidad en agua fría o caliente que conduce a la producción de soluciones o dispersiones viscosas, y en ciertos casos a la formación de geles, lo que las hacen componentes texturales importantes en la mayoría de los alimentos (Reineccius, 1991; Lumdubwong, 2001).

Cuando se utilizan polisacáridos como agentes encapsulantes, en el secado por aspersión, deben revisarse sus propiedades funcionales. Por ejemplo, las maltodextrinas se usan en combinación con goma arábiga para mejorar la eficiencia de la encapsulación, sin embargo el grado de hidrólisis de las maltodextrinas es un factor a considerar ya que muy bajos equivalentes de dextrosa no tiene el efecto positivo mencionado (Lumdubwong, 2001).

Se ha demostrado que por la interacción existente entre la goma arábiga y los lípidos se previene su oxidación, esto está relacionado con las propiedades de la goma arábiga de absorberse en la interfase agua/aceite formando una película viscoelástica donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotas de aceite en los anclajes de las cadenas de la goma

arábiga (Matsumara y col., 2000; Kim y col., 2000; Keogh y col., 2001; Minemoto y col., 2002). Una propiedad importante a considerar en un polímero es su temperatura de transición vítrea (T_g) ya que determinará la cohesividad que puede lograrse al formar la película. Calentando por encima de la T_g las capas de la película se vuelven más cohesiva debido a una mayor movilidad molecular por efecto de la temperatura, lo cual ayuda a la adhesión de la película en el material a cubrir (Deasy, 1983).

En la actualidad un gran número de investigadores (Hogan, 2003; Kolanowski, 2004) trabajan en el desarrollo de aceites de pescados microencapsulados, para adicionarlos a diferentes productos alimenticios, como fuente de ácidos grasos, por las ventajas que ofrece esta tecnología, ya que se logra un producto en polvo, con una mayor estabilidad y se enmascaran el olor y sabor característicos de estos aceites. Estudios recientes han demostrado que el consumo de productos enriquecidos con aceites de pescado microencapsulado ha sido tan eficiente como la ingesta diaria de cápsulas blandas de aceite de pescado (Higgins y col., 1999, Wallace y col., 2000), lo que indica que la biodisponibilidad de los n-3 añadidos a los alimentos se mantiene con la microencapsualción.

Por otro lado se ha encontrado que la vida útil de los ácidos grasos puede ser incrementada hasta 2 años al ser microencapsulados (Andersen, 1995). Aceite de pescado microencapsulado fue usado en la elaboración de una leche en polvo instantánea saborizada con cocoa con un 18% de adición de aceite (Kolanowski, 1999), la cual mantuvo su propiedades organolépticas durante 6 meses de almacenamiento.

3. JUSTIFICACIÓN:

Los ácidos grasos de cadena larga especialmente el ácido eicosapentanoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA) han adquirido gran importancia por sus efectos en la salud y en la nutrición humana. Los mismos están presentes fundamentalmente en los animales de origen marino, siendo los peces y los productos industriales que se obtienen de estos las fuentes más importantes. La necesidad de suplementar la alimentación con EPA y DHA, debido al déficit que se observa en su consumo, ha motivado a la industria de la alimentación a buscar procedimientos que permitan aumentar la ingesta de EPA y DHA a través del desarrollo de alimentos funcionales. Cuba no está ajena a esta situación; sin embargo, a pesar de existir un nivel de captura de tiburones que oscila alrededor de las 1500 t. anuales, el aprovechamiento de sus hígados en la producción de aceites no es una actividad industrial, ni existen hábitos de consumo en la población, debido a su fuerte olor y sabor a pescado, por lo que se requiere establecer las condiciones de extracción del aceite a partir de esta materia prima, que garanticen la mayor estabilidad de sus compuestos nutricionales, así como desarrollar productos de consumo habitual enriquecidos con aceite de hígado de tiburón con olor y sabor mejorados que aporten un nivel de ácidos grasos polinsaturados. Esta tecnología, puede replicarse en otros países como México donde se captura tiburón.

4. HIPÓTESIS

El aceite obtenido a partir de hígados de tiburón constituye una fuente de ácidos grasos polinsaturados, que al ser sometido a los procesos tecnológicos de emulsionado y microencapsulación aumenta su estabilidad, sin afectación de la proporción y concentración de sus ácidos grasos, por lo que puede ser utilizado en la elaboración de productos nutricionalmente mejorados.

5. OBJETIVO PRINCIPAL

Definir tecnologías para la producción de alimentos nutricionalmente mejorados utilizando el aceite de hígado de tiburón obtenido en Cuba como fuente de ácidos grasos polinsaturados

5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.1.1. Establecer las condiciones de extracción del aceite de hígado de tiburón.

5.1.2. Establecer los parámetros tecnológicos para la obtención de una emulsión de aceite de hígado de tiburón saborizada.

5.1.3. Establecer los parámetros tecnológicos para la obtención de aceite de hígado de tiburón microencapsulado.

5.1.4 Evaluar las características físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas del aceite, la emulsión y el microencapsulado.

5.1.5. Determinar el tiempo de vida de anaquel del aceite, la emulsión y del aceite microencapsulado.

5.1.6. Desarrollar dos bebidas lácteas enriquecidas con el aceite de hígado de tiburón microencapsulado.

5.1.7. Evaluar la efectividad de la emulsión como suplemento nutricional.

5.1.8. Evaluar la factibilidad económica de las producciones de aceite, emulsiones y aceite microencapsulado.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Obtención del aceite de hígado de tiburón

6.1.1 Recolección de lo hígados

Se utilizaron hígados de tiburones de las especies gata (*Ginglymostoma cirratum*), galano (*Carcharhinus longimanus*) y jaquetón (*C. falciformis*) capturados en las aguas de la zona Nororiental de Cuba. Los animales fueron eviscerados y se prepararon lotes que contenían una mezcla de 30 Kg. de hígados de gata, 30 Kg. de galano y 100kg de jaquetón, se colocaron en bolsas de polietileno identificadas con la fecha de captura y procedencia e inmediatamente fueron nevados con hielo y mantenidos a temperatura entre 1-5 °C durante 48 horas, mientras duró la pesquería, posteriormente se congelaron a -18 °C, conservándose a esta temperatura hasta el momento de su utilización.

6.1.2 Condiciones de extracción del aceite a escala experimental.

Para establecer las condiciones de extracción del aceite se evaluó la incidencia de la temperatura (60, 70, 80 y 100 °C) y el tiempo de cocción (10 y 30 min.), en el rendimiento y el grado de oxidación del aceite resultante determinando el número de TBAR (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico). Una vez establecidas las condiciones de extracción del aceite, se procesaron tres lotes de 50 kg de hígado cada uno en la Planta Experimental del Centro de Investigaciones Pesqueras, en La Habana, Cuba. Los hígados se sometieron a un proceso de cocción en tacho con camiseta de vapor y centrifugación para la extracción de aceite (Fig. 2). Como antioxidante se aplicó BHT (butilato de hidroxitolueno, BHT, England) al 0.02%.

El flujo tecnológico seguido para la extracción del aceite de hígado de tiburón se muestra en la Fig.2.

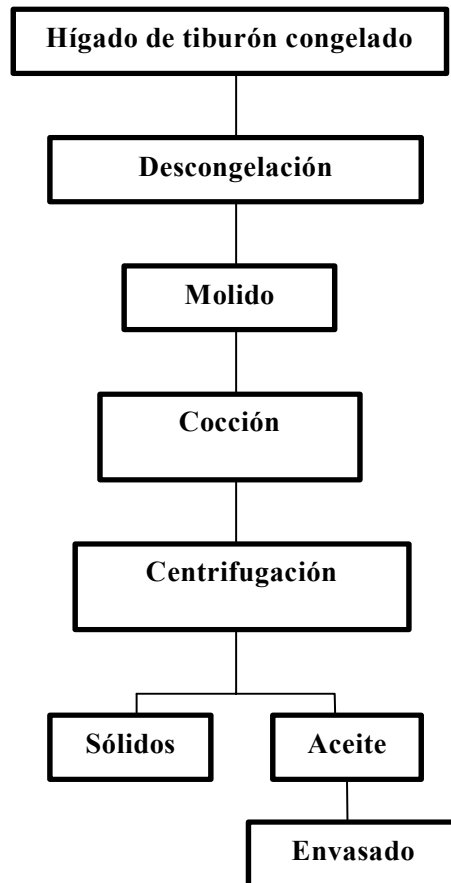


Figura 2. Procedimiento para la extracción del aceite de hígado de tiburón.

6.2 Desarrollo de una emulsión saborizada de aceite de hígado de tiburón

6.2.1 Materias primas

Las materias primas utilizadas fueron goma arábica (TIC Gums, Belcamp, Md., USA), maltodextrina (DE<20, Archer Daniels Mioland Company, USA), sacarosa y aceite de hígado de tiburón, como saborizantes aceite esencial de naranja exprimido en frío, sabor piña (CP-21) y frambuesa (FF-14R), los colorantes usados fueron amarillo (Subset, E11C), amarillo tartracina (E102) y rojo (Punceau 4R, E124).

La maltodextrina y la goma arábica fueron escogidas debido a su capacidad de encapsular grandes concentraciones de aceites (Lumdubwong, 2001), el azúcar se utilizó para impartir cierto dulzor a la emulsión ya que la misma se debe ingerir directamente así como para disminuir la actividad de agua, los saborizantes utilizados se tomaron teniendo en cuenta la fortaleza de los mismos para enmascarar el sabor del aceite de hígado de tiburón, como preservante se utilizó el benzoato de sodio (BDH, England), y el aceite de hígado de tiburón como fuente de ácidos grasos polinsaturados.

6.2.2 Procedimiento de preparación de la emulsión.

Las restricciones impuestas para la elaboración de la emulsión se muestran seguidamente (Tabla III). Los niveles de la goma arábica y maltodextrina se escogieron teniendo en cuenta los resultados alcanzados por Gutiérrez (2001) en la producción de emulsiones saborizadas, el agua se utilizó para mantener el balance de las materias primas anteriormente mencionadas.

Tabla III. Restricciones para confeccionar el diseño de mezcla.

Materias primas	Mínimo (%)	Máximo (%)
Goma arábica	3.0	6.0
Aceite de hígado de tiburón	25.0	30.00
Maltodextrina	14.0	20.0
Agua tratada	38.0	50.0

Para evaluar el efecto de los materiales encapsulantes (goma arábica, maltodextrina), el aceite de hígado de tiburón y el agua, sobre la variable respuesta estabilidad de la emulsión (mL de aceite separado/100mL de emulsión) (Arbuckle, 1986), se desarrolló un diseño factorial 4^2 empleando un modelo cuadrático de superficie de respuesta. El objetivo final fue maximizar la variable estabilidad de la emulsión con valores de viscosidad entre 2000-3000 cps y un máximo de aceite separado de la emulsión de 0.2 mL/100mL. El procedimiento empleado (Fig.3) consistió en el mezclado con agitación de las materias primas (agua según variante, color 0.6 % y preservante 0.03%) en un mezclador de paletas con 25 kg. de capacidad (modelo Lleal) hasta su disolución. Posteriormente dicha mezcla se calentó entre 50° C - 60° C durante 10 minutos y se adicionaron paulatinamente el azúcar (8%) y los soportes (según variante) seguidamente se dejó enfriar hasta 40 °C, momento en el que se adicionó el aceite y el saborizante. La agitación se mantuvo durante 15 minutos sometiendo posteriormente la mezcla a un proceso de homogenización durante 30 minutos en un homogenizador Ultra Turrax Tipo TP a 4 463 g. En la Tabla IV se muestra la matriz de los experimentos planteados, donde el número de variantes ensayadas fue de 24 con un peso de 5 kg de muestra cada una.

Tabla IV. Matriz de la emulsión de tiburón

Corridas	Agua tratada (%)	Malto dextrina (%)	Goma Arábica (%)	Aceite (%)
1	38.00	20.00	6.00	27.30
2	46.30	14.00	6.00	25.0
3	40.30	20.00	6.00	25.0
4	43.97	16.00	3.00	28.33
5	40.63	20.00	4.00	26.67
6	38.00	17.30	6.00	30.0
7	46.30	16.00	6.00	25.0
8	44.30	14.00	3.00	30.0
9	43.30	18.00	5.00	25.0
10	42.63	16.00	6.00	26.67
11	42.63	16.00	6.00	26.67
12	38.00	20.00	3.30	30.0
13	46.30	14.00	6.00	25.0
14	41.97	18.00	3.00	28.33
15	41.30	14.00	6.00	30.0
16	46.30	17.00	3.00	25.0
17	49.30	14.00	3.00	25.0
18	39.98	17.06	4.26	30.0
19	43.30	20.00	3.00	25.0
20	49.30	14.00	3.00	25.0
21	43.97	14.00	5.00	28.33
22	39.98	17.06	4.26	30.0
23	46.63	14.00	4.00	26.67
24	38.00	20.00	3.00	30.0

Una vez seleccionada la variante óptima se elaboraron emulsiones saborizadas con piña, naranja y frambuesa siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (Fig. 3), las cuales fueron evaluadas sensorialmente.

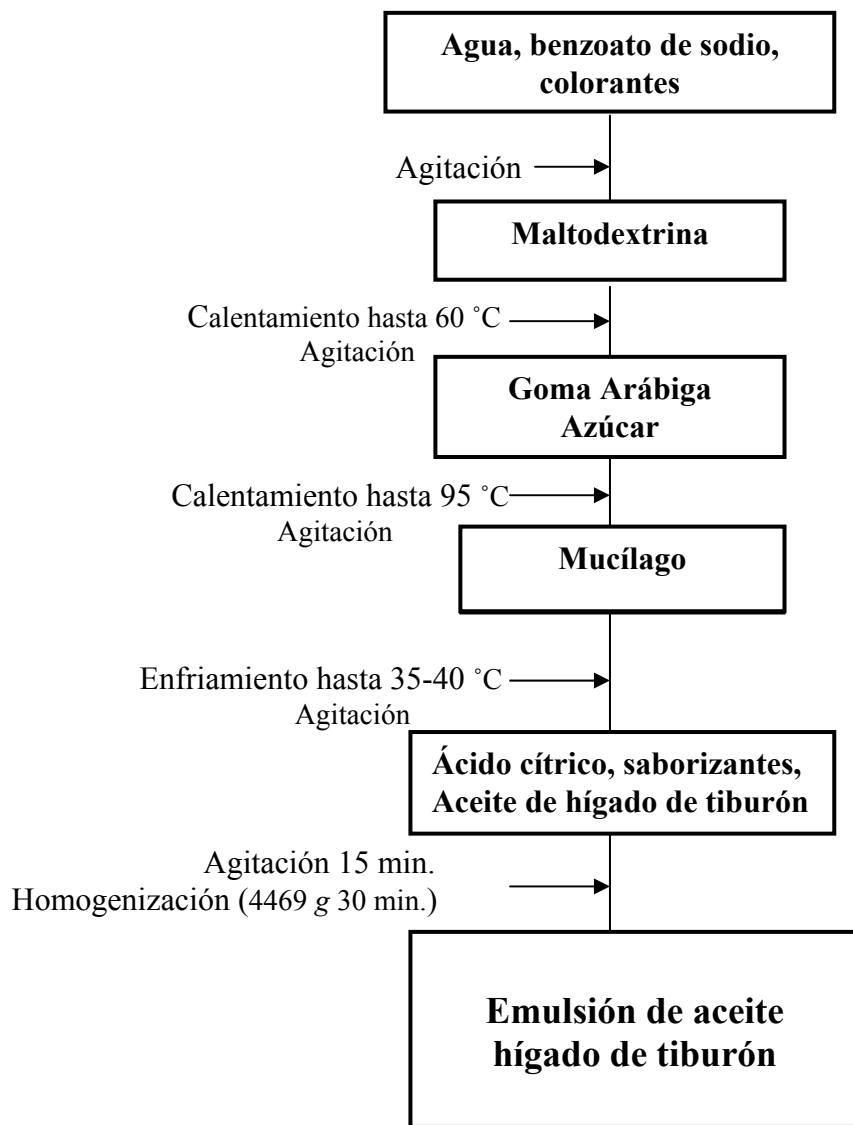


Figura 3. Flujo tecnológico para la elaboración de una emulsión saborizada

6.3 Obtención de Aceite de Hígado de Tiburón Microencapsulado (AHTM).

Las materias primas empleadas fueron maltodextrina (DE<20, Archer Daniels Mioland Company, USA), goma arábica (TIC Gums, Belcamp, Md., USA), gelatina base (Grenetina Regia, México), agua tratada y aceite de hígado de tiburón. Para el desarrollo del AHTM se estudió el efecto de los soportes (maltodextrina, goma arábica y gelatina base), aceite de hígado de tiburón y agua sobre la variable respuesta cantidad de aceite microencapsulado. En la Tabla V se indican las restricciones consideradas para los soportes.

Tabla V. Restricciones de los soportes para la elaboración del AHTM.

Materiales	Mínimo (%)	Máximo (%)
Goma Arábica	8.0	10.0
Gelatina base	0,0	2,0

La composición de la matriz, con dichas restricciones se muestra en la Tabla VI.

Tabla VI. Composición de la matriz con las restricciones para la goma arábica y la gelatina

Variante	Maltodextrina	Composición (%)			
		Goma Arábica	Gelatina Base	Aceite	Agua
1	30	9.0	1.0	10	50
2	30	10.0	0.0	10	50
3	30	10.0	0.0	10	50
4	30	8.0	2.0	10	50
5	30	8.0	2.0	10	50
6	30	9.5	0.5	10	50
7	30	10.0	0.0	10	50
8	30	8.6	1.3	10	50
9	30	9.3	0.6	10	50
10	30	8.5	1.5	10	50

Las Tablas VII y VIII, muestran las restricciones de aceite y agua y la composición de la matriz, respectivamente.

Las restricciones de la goma arábica y la gelatina se plantearon tomando como base los resultados alcanzados por Sánchez (1999) en producciones a escala piloto de aceites microencapsulado. Se incluyó la gelatina base variando los niveles según el rango recomendado por Chih-Chen y col. (1995), para microencapsular materiales sensibles al calor.

Tabla VII. Restricciones de aceite y agua para la elaboración del microencapsulado

Materias primas	Mínimo (%)	Máximo (%)
Aceite de hígado de tiburón	10.0	25.00
Agua tratada	35.0	50.0

Tabla VIII. Composición de la matriz con restricciones de aceite y agua.

Variante	Maltodextrina	Composición (%)			Aceite	Agua
		Goma Arábica	Gelatina Base			
1	30	8	2	17.5	42.5	
2	30	8	2	25.0	35.0	
3	30	8	2	21.2	38.7	
4	30	8	2	10.0	50.0	
5	30	8	2	13.7	46.2	
6	30	8	2	10.0	50.0	
7	30	8	2	25.0	35.0	
8	30	8	2	25.0	35.0	
9	30	8	2	17.5	42.5	

En todos los experimentos se mantuvo la relación aceite-soporte de 1/4, según recomienda Reineccius y col. (1994) para una mejor microencapsulación. La variable respuesta fue el porcentaje de aceite microencapsulado. El procedimiento consistió en disolver la mezcla de soportes en agua en un mezclador de paletas con 25 kg. de capacidad

(modelo Lleal) agitando vigorosamente, se dejó reposar en refrigeración (5 °C) durante 24 h antes del secado para hidratar bien los soportes (Fig 4).

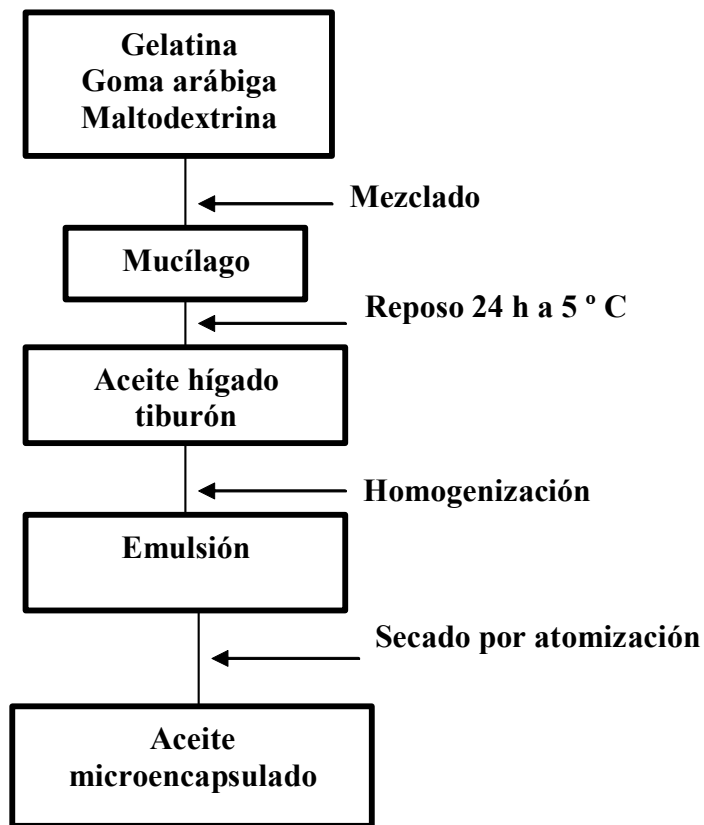


Figura 4. Procedimiento para la microencapsulación del aceite

Pasado este tiempo el aceite se añadió a la mezcla, la emulsión formada se homogeneizó en un equipo Ultra Turrax TP a 4 463 g por 30 minutos, justamente antes de proceder al secado por atomización. La mezcla ya homogénea, se secó en un equipo Niro Atomizer Modelo Minor (Figura 5). Las temperaturas de secado fueron: 170 °C -180 °C en la entrada y de 65 °C -75 °C en la salida del aire según se recomienda para microencapsular mediante secado por atomización de materiales sensibles al calor (Reineccius, 1994; Chih-Cheng y col., 1995).



Figura 5. Equipo Niro Atomizer modelo MINOR con capacidad de secado de 5 kg/h

La variante que mayor porcentaje de aceite microencapsuló, y factible de ser bombeada en el equipo secador, se utilizó para ensayar mayores concentraciones de aceite. Se mantuvieron las condiciones de secado descritas anteriormente, el peso de muestra para cada variante fue de 5 kg.

6.4 Desarrollo de bebidas lácteas enriquecidas con aceite de hígado de tiburón microencapsulado.

Se evaluó la aplicabilidad del AHTM en una bebida láctea y en yogurt, empleando la variante de 25% de aceite (p/p), 2% gelatina (p/p), 8% goma arábica (p/p), 30% maltodextrina (p/p) y 35% agua (p/p). Las dosis aplicadas para el yogurt fueron 6, 7, 8 y 9% (p/p) de AHTM. El proceso utilizado fue el mezclado físico de los componentes yogurt natural, sacarosa, aroma de piña y AHTM. La bebida láctea se elaboró utilizando leche entera deshidratada (39 - 41% p/p), sacarosa (27% p/p), AHTM (25, 27 y 29% p/p), aroma de café con leche deshidratado (5- 7% p/p). El método de preparación empleado fue el mezclado físico de los componentes en un mezclador de polvos (Nauta, Nutamix BV, Haarlem- Holand).

6.5 Métodos aplicados para las determinaciones físicas, químicas y sensoriales realizadas al aceite, emulsión y microencapsulado.

6.5.1. Determinación del índice acidez (AOAC 497.05, 1990)

El método se basa en la reacción de neutralización de los ácidos orgánicos presentes en la muestra. La muestra de grasa se mezcló con 50 mL de etanol (95 ° G L, Merck) neutralizado con NaOH 0.1 N (Merck) y se calentó a ebullición moderada, se agregó solución indicadora de fenolftaleína y se valoró con solución de hidróxido de sodio (0.1N) hasta identificar una coloración rosada. El índice de acidez se expresa como porcentaje de ácido oleico en el aceite.

6.5.2. Determinación del índice de peróxido (AOAC 952.13, 1990).

El peróxido resultante de la oxidación de los aceites reacciona con el yoduro en medio ácido, liberando yodo, el cual se valora con tiosulfato de sodio, utilizando como indicador solución de almidón. Se pesaron 2 g de muestra y se colocaron en un dedal de vidrio que a su vez se introdujo en un matríz Erlenmeyer seco. Se añadieron 30 mL de solvente (ácido acético:cloroformo, 3:2 v/v, Merck). Se adicionó 1 mL de solución saturada de yoduro de potasio (Merck), se tapó y agitó, colocándose en la oscuridad durante 2 minutos. Pasado este tiempo se añadieron 50 mL de agua y unas gotas de solución indicadora de almidón. Se valoró con solución de tiosulfato de sodio (0.1 N), añadiéndola gradualmente hasta que desapareció el color azul.

6.5.3. Determinación de la rancidez oxidativa por el método del ácido 2- tiobarbitúrico (Tarlagdis, 1962).

Se basa en la medición fotocolorimétrica de la absorción de la luz, a una longitud de onda de 531 nm, del pigmento rosado resultante de la reacción del ácido 2- tiobarbitúrico con compuestos carboxílicos que contienen grupos aldehídos y cetónicos producidos por la descomposición de los peróxidos que se forman debido a la autoxidación de las grasas, expresándose los resultados en función del malonaldehído. Se pesaron 10 ± 0.1 g de muestra, se adicionaron 50 mL de agua destilada y se homogenizó durante 2 min, la muestra se transfirió a un matríz balón de destilación con lavados sucesivos de 47.5 mL de agua destilada, se adicionaron 2.5 mL de HCl (4 N), se destiló con arrastre por vapor hasta recoger 50 mL de destilado. Una alícuota de 5 mL del destilado se pasó a un tubo de ensayo, se adicionaron 5 mL de reactivo de TBA, se colocó en baño de agua hirviendo durante 35 min, se dejó enfriar, posteriormente se leyó la densidad óptica del complejo

coloreado (rosado) en un espectrofotómetro (Unicam SP 500) a 531 nm. Los resultados se expresan como mg malonaldehído/100g

6.5.4. Determinación del índice de yodo (AOAC 993.20, 1990).

Este método se basa en la determinación del grado de insaturación de los ácidos grasos que forman los glicéridos de los aceites y grasas. Se pesaron 0.4 g de muestra en un dedal el cual se introdujo en un frasco yodométrico, adicionándole 20 mL de tetracloruro de carbono (Merck) y 25 mL de la solución Wijs. Seguidamente se humedeció el tapón de vidrio con una solución de yoduro de potasio al 10 % para retener los halógenos que se volatilicen dentro del frasco, se tapó este último y se agitó, dejándolo en reposo durante 30 minutos en un lugar oscuro. Se agregaron 100 mL de agua destilada y 25 mL de yoduro de potasio y se valoró el exceso de yodo con una solución de tiosulfato de sodio (0.1 N) utilizando como indicador unas gotas de la solución de almidón.

6.5.5. Determinación de la gravedad específica aparente (densidad). Método del picnómetro (AOAC 925. 22, 1990).

El método se basa en la determinación de la masa por unidad de volumen de un líquido utilizando un picnómetro. Se llenó un picnómetro de 50 mL con agua destilada y se colocó en un baño de agua a temperatura constante de 25 °C. Después de 30 minutos se ajustó el nivel de agua hasta el mismo borde del picnómetro y se tapó. Se retiró del baño de agua y se pesó. Se vació el picnómetro, se enjuagó varias veces con éter etílico, luego se secó en una estufa y se pesó. Se calculó el peso del agua contenida en el picnómetro a 25 °C restando el peso del picnómetro vacío de su peso lleno con agua destilada. Se llena el picnómetro seco con el aceite y se coloca en un baño de agua a 25 °C, pasados 30 min. se

ajusta el nivel de aceite hasta el mismo borde del picnómetro y se tapa. Se retira del baño de agua y se pesa. Se resta al peso del picnómetro con el aceite el peso del picnómetro vacío y se divide por el peso del agua a 25 °C.

6.5.6. Determinación del contenido de humedad (AOAC 1990).

Se pesaron 10 g de muestra ± 0.01 g y se llevan al equipo (Dean and Stark), adicionando 80 mL de tolueno (Merck) y unas perlas de vidrio. Se conectó a un colector y al condensador. Posteriormente se calentó en plancha eléctrica regulando la temperatura (80 °C), de forma que el flujo al colector fuera de 2 a 4 gotas/minutos. Se dio por terminada la destilación cuando el agua con el solvente cesó de gotear al colector. Se midió en el equipo (Dean and Stark) el volumen de agua, considerando que 1 mL igual a 1 g. Para calcular el % de humedad se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{\text{Vol agua destilada (mL)} \times 100}{\text{Peso muestra (g)}}$$

6.5.7. Determinación de la estabilidad de la emulsión (Arbuckle, 1986).

Se toma como indicador de estabilidad el volumen de aceite separado al centrifugar 100 mL de muestra a 2500 rpm durante 10 minutos.

6.5.8. Determinación de la viscosidad (Brookfield, ASTM, 2005)

Se mide la viscosidad de la emulsión utilizando un viscosímetro de Brookfield (Model DV-II Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, Mass., USA) antes y

después de someter la muestra a un proceso de congelación y descongelación durante 24 horas.

6.5.9. Tamaño del glóbulo de la emulsión por microscopía.

En un microscopio (Olympus BX-40) con cámara digital acoplada, se observó la estructura y se midió el tamaño de los glóbulos, determinándose por campos el porcentaje de partículas que corresponden a un tamaño determinado, expresando como resultado las que resulten mayoritarias.

6.5.10. Determinación del tamaño de partícula en el aceite microencapsulado.

Se determinó el tamaño de las partículas a través de un espectrómetro de difracción, láser (Malvern mastersize. Malvern Instruments Ltd, UK). Se tomó 1 g de la muestra y fue diluido en 1000 mL de agua destilada, en las celdas del equipo, la distribución de las partículas se expresó como el porcentaje en volumen contra el diámetro de las partículas.

6.5.11. Actividad de agua (Kiru y Favetti, 1986).

La determinación se realizó en un higrómetro electrónico marca NOVASINA a 30 °C, con electrodos de cloruro de litio, se basa en la velocidad de absorción al colocar muestras previamente pesadas del producto en varios recipientes, en cada uno de los cuales se realiza la lectura.

6.5.12. Análisis microbiológico (APHA, 2001)

6.5.12.1. Conteo total de microorganismos mesófilos aerobios.

Se aplicó el método convencional de recuento en placa, 27 g de muestra, se diluyeron y se sembraron en el seno de un medio de agar nutritivo (OXOID). Se incubaron a temperatura entre 35-37 °C durante 48 horas. Transcurrido ese tiempo, se contaron las colonias visibles y se calculó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra.

6.5.12.2. Recuento de hongos y levaduras.

Para el recuento de hongos y levaduras se empleó la técnica del recuento en placa a partir de una serie de diluciones (10) decimales del producto. Se preparó medio de agar papa dextrosa (OXOID), para inhibir el crecimiento bacteriano se agregó antibiótico (clortetraciclina, 40 ppm). Se depositó 0.1 mL de las diluciones en placas y se incubaron a temperatura entre 22-25 °C durante 5 días. Se contaron las placas que tenían entre 10-150 UFC y se identificaron por morfología microscópica.

6.5.13 Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial de las bebidas lácteas se utilizó una prueba de ordenamiento por preferencia con un panel de 9 jueces entrenados en estos tipos de productos (ISO 8587, 1988). A la variante de mayor preferencia se le aplicó una prueba afectiva mediante una escala hedónica de 9 puntos que abarca desde la categoría “me gusta extremadamente” hasta “me disgusta extremadamente”, con la participación de 80 consumidores (ISO 4121, 2003).

Las muestras de aceite, emulsión y aceite microencapsulado durante su

almacenamiento fueron evaluadas por 9 panelistas entrenados en olores y sabores característicos de pescado y productos pesqueros. Se presentaron a los panelistas 20 mL de aceite, 20 mL de emulsión y 10 g de aceite microencapsulado, las muestras fueron servidas a temperatura ambiente aplicándose para su evaluación una escala de intensidad de 9 puntos que describe desde débiles olores y sabores a pescado hasta intensos olores y sabores no característicos (Let, 2003).

6.5.14 Peso específico aparente (golpeado 50 veces) del aceite microencapsulado.

Se colocan en una probeta graduada de 50 mL, 10 g del polvo y se golpea suavemente sobre una mesa 50 veces para que se aprisione el polvo, se mide entonces el volumen en la probeta que presenta el polvo y se realiza el cálculo.

6.5.15 Análisis de lípidos

Para el análisis de los lípidos se tomó una muestra de 1.0 g de aceite la que se colocó en 6 mL de solución Folch (1975) (cloroformo-metanol, 2:1 v/v), 10 μ L de butilato de hidroxitolueno (BTH, 0.5 mg/mL) y 10 μ L del ácido graso 23:0 (2mg/mL) como estándar interno, posteriormente se almacenó a -20 °C durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo la muestra fue sonicada y evaporada hasta aproximadamente 0.5 mL, seguidamente se realizó la separación de los lípidos neutros y polares utilizando microcolumnas preparadas con micropipetas Pasteur rellenas con fibra de vidrio y sílice hidratado al 6 % (Merck) y haciendo pasar 10 mL de cloroformo: metanol (grado HPLC, J. T. Barrer) (98:2 v/v) para arrastrar los lípidos neutros y 15 mL de metanol para los polares.

Los ácidos grasos de las fracciones neutra y polar fueron derivatizados con 5 % de

HCl en metanol a 85 °C durante 2.5 h. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron analizados en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard G 1800B equipado con una columna capilar polar DBWAX (25 m x 0.32 mm, 0.2 µm de espesor de película), detector MS, helio como gas acarreador y un gradiente de temperatura de 150 – 250 °C a 3 °C min⁻¹. La identificación de los ácidos grasos fue por comparación de los tiempos de retención con estándares (Supelco, Bellefonte, USA).

El análisis de los lípidos totales se realizó con un Iatroscan TLC/ FID MK-5, utilizando chromarods S-III, los cuales fueron previamente llevados a humedad constante (Ackman y Heras, 1997). Un microlitro de muestra fue colocado en un chromarod utilizando una fase móvil de hexano-acetato de etilo-dietil éter-ácido fórmico en la siguiente proporción: 91:6:3:1 (v/v/v/v). Se realizó la separación en un tiempo de 35 minutos (Ackman y Heras, 1997; Palacios y col., 2004). Los lípidos fueron identificados por comparación de los tiempos de retención con estándares (Sigma, St. Louis, USA) y la concentración fue calculada a partir de las áreas de los picos de cada estándar.

6.5.16 Contenido de aceite encapsulado.

La cantidad de aceite encapsulado se calculó según el método reportado por Sankarikutty y col., (1988). A 2 g del polvo se le adicionaron 2 mL de éter de petróleo (60-80 °C), la mezcla fue agitada suavemente durante 10 minutos, sin destruir las cápsulas, el solvente fue decantado, dejándose evaporar, posteriormente se procedió a pesar la grasa extraída de la superficie.

6.6 Determinación del tiempo de vida útil del aceite crudo, la emulsión y el aceite microencapsulado.

El aceite obtenido fue almacenado a 27 °C en envases de cristal oscuro. Se realizaron muestreos mensuales para conocer el grado de oxidación a través del índice de peróxido y las TBARS.

Se evaluó el tiempo de vida de anaquel de la emulsión de aceite de hígado de tiburón, en envases vidrio de 200 mL almacenados a 27 °C efectuándose muestreos mensuales y como variable respuesta del estudio se tomaron el conteo total de microorganismos mesófilos aerobios, recuento de hongos y levaduras, índice de peróxido y evaluación sensorial.

Para conocer la durabilidad del aceite de hígado de tiburón microencapsulado se prepararon muestras envasadas en bolsas de folio de aluminio de 100 g y se almacenaron a 27 °C. Se realizaron muestreos mensuales y como variable respuesta del estudio se tomaron el índice de peróxidos, actividad de agua y evaluación sensorial.

6.7 Ensayo clínico utilizando la emulsión de aceite de hígado de tiburón como suplemento nutricional.

Se evaluaron los efectos derivados del consumo de la emulsión de aceite de hígado de tiburón en tres grupos de individuos afectados con hipertensión arterial, hipertrigliceridemia y fenilcetonuria.

6.7.1. Hipertensión arterial

El estudio se realizó en el hospital Clínico Quirúrgico Joaquín Albarrán de Ciudad Habana con 26 pacientes con edades entre 40-75 años, 18 hombres y 8 mujeres con presión sistólica entre 130 -140 mm Hg y diastólica entre 85-90 mmHg, los cuales llevaban tratamiento hipotensor de forma regular. Los pacientes fueron divididos en dos grupos, a uno de los cuales se les suministró la emulsión de aceite de hígado de tiburón y al segundo grupo se les proporcionó una emulsión elaborada con aceite de girasol, ambos grupos recibieron la indicación de tomar una cucharada (15 mL) de la emulsión diaria. Pasadas 2 semanas de haber comenzado a consumir la emulsión se les fue ajustando los niveles del medicamento hipotensor. A los pacientes se les realizaron mediciones de la presión sistólica y diastólica durante 12 semanas, las cuales fueron realizadas utilizando un estetoscopio y esfigmomanómetro de mercurio (Toft y col., 1995). Los valores de las mediciones fueron usadas para la evaluación de los resultados.

6.7.2. Hipertrigliceridemia.

Doce pacientes, 8 mujeres 4 hombres con edades entre 40- 60 y con niveles de triglicéridos entre 1.9- 4.3 mmol/L fueron captados para la realización de este trabajo, a los mismos se les suministro una cucharada de la emulsión de aceite de hígado de tiburón saborizada durante 12 semanas para un consumo total diario de 4.42 g de aceite. Se realizaron controles del nivel de triglicéridos en sangre por determinación enzimática, utilizando un Kit de la Boehringer Manhein (Buccolo, 1973) al principio y al final del estudio.

6.7.3. Fenilcetonuria

Sé realizó la evaluación por un equipo multidisciplinario formado por personal del Instituto Nacional de Higiene y Epidemiología en coordinación con el equipo de trabajo de la Clínica del Adolescente del efecto que tiene la suplementación dietética con emulsión de aceite de hígado de tiburón sobre los lípidos plasmáticos de pacientes fenilcetonuricos. Al comenzar el estudio se tomaron muestras de sangre y se realizaron controles de colesterol por determinación enzimática (Allain, 1974) en un autoanalizador Technicon MT-II, HDL-colesterol, por determinación enzimática de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad, después de su precipitación selectiva con dextran sulfato/Mg⁺⁺ y LDL se determinó por el método de polivinil sulfato (Assmann, 1983). Se suministró a 35 niños con edades entre 5 y 14 años, una cucharada de 15 mL de emulsión durante 180 días, pasado ese período se repitieron los controles realizados al inicio de la investigación. El grupo control lo constituyó el resto de los fenilcetonúricos.

6.8 Diseño de experimento y tratamiento estadístico aplicado en las diferentes tecnologías y determinaciones realizadas.

Para determinar las condiciones de extracción del aceite se aplicó un diseño bifactorial, completamente aleatorizado, con réplicas para evaluar la incidencia del tiempo y temperatura de cocción sobre el rendimiento y el grado de oxidación. Se utilizó la prueba de Tukey para comparar las medias.

El diseño utilizado para estudiar las diferentes combinaciones de los factores en la estabilidad de la emulsión fue el de superficie de respuesta. Se imponen restricciones en donde se acotan los valores mínimos y máximos que pueden tomar los factores que se van a

estudiar en esa matriz, para posteriormente mediante el proceso de optimización, establecer la mejor variante de acuerdo con los resultados obtenidos en las variables respuestas evaluadas.

Se efectuó un análisis de regresión bajo el criterio de los mínimos cuadrados, utilizando la F de Fisher para establecer diferencias significativas del ANOVA de la regresión, y se evaluó la significación de los coeficientes del modelo mediante el estadígrafo t de Student.

Todas las determinaciones químicas y microbiológicas de caracterización de los productos desarrollados se realizaron por triplicado, calculándose la media y la desviación estándar.

A los datos obtenidos en las determinaciones de peróxido y TBARS durante el estudio de vida de anaquel, se le aplicó una transformación logarítmica y posteriormente fueron evaluados aplicando un análisis de varianza bifactorial para evaluar el efecto del tiempo y el tipo de producto sobre la oxidación primaria de los lípidos y se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de las medias.

Se aplicó la prueba de Chi cuadrado para conocer si había diferencias entre los perfiles de ácidos grasos del aceite, emulsión y microencapsulado.

A los indicadores resultantes del ensayo clínico (presión arterial, triglicéridos, colesterol y lipoproteínas) se les aplicó una transformación logarítmica y fueron evaluados mediante la prueba t de Student para conocer si existían diferencias entre los valores antes y después de la suplementación con emulsión. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software StatSoft (2001).

6.9 Evaluación de la factibilidad económica de producción de emulsión de aceite de tiburón y aceite de hígado de tiburón microencapsulado.

Para la producción de aceite, emulsión y aceite microencapsulado se propone utilizar dos instalaciones existentes en la Provincia de Villa Clara diseñadas para la elaboración de aromas en polvo cuya capacidad instalada no esta siendo explotada. La evaluación de la factibilidad económica de los procesos de obtención del aceite, emulsión y microencapsulado, se realizó en base a los ingresos por ventas, costos de producción y las utilidades (Zugarramurdi, 1998; Martínez, 2000). Los costos de materias primas y materiales se calcularon tomando los precios del aceite, la emulsión y el microencapsulado (polvo) del listado de precios del Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria de Cuba para productos similares, el precio del hígado de tiburón se estableció por el listado oficial de precios del Ministerio de la Industria Pesquera. En la evaluación económica de la producción anual se tomaron las siguientes consideraciones:

Aceite	
Captura tiburón (t)	1200
Rendimiento promedio tiburón: hígado (%)	10
Cantidad de Hígado (t)	120
Rendimiento hígado: aceite (%)	42
Producción de aceite (t)	50.4

Emulsión	
Cantidad de aceite (t)	50.4
aceite en la emulsión (%)	30
Producción de emulsión (t)	168.0

Aceite Microencapsulado	
Cantidad de aceite (t)	50.4
Aceite en la emulsión %	25
Producción de emulsión (t)	202
Rendimiento emulsión: polvo (%)	34
Producción de polvo (t)	68.7

Salarios y estimulación: la fuerza de trabajo necesaria se determinó a partir de los flujos de cada proceso, tomando en consideración las categorías, salarios y estimulación establecida por la Organización de Trabajo y Salarios del Ministerio de la Industria Pesquera y el Ministerio de la Industria Alimenticia de Cuba.

Mantenimiento: se estableció el costo de mantenimiento como el 4% del costo del equipamiento (Zugarramurdi, 1998).

Servicios Públicos: el costo del vapor se calculó tomando en consideración el valor de depreciación de la caldera de vapor, el salario anual del operador de la caldera y el costo anual por concepto de consumo de combustible.

El costo de electricidad se determinó por el consumo de los equipos y las luminarias

con el tiempo de trabajo y la tarifa establecida en el país mediante la expresión $C = Pc * Vkw-h * T$ (Zugarramurdi, 1998)

Para el consumo total de agua se tomó el gasto en el proceso, la norma de limpieza de 10 litros/m² del área de la plantas, así como la norma de consumo por obrero de 150 litros/día a un precio de 1USD/ m³.

Suministros de operación: incluye los suministros de aceites, lubricantes, reactivos químicos, etc. Su costo se considera como el 15% del costo por mantenimiento (Zugarramurdi, 1998).

Depreciación: se aplica el Método de Línea Recta (Zugarramurdi, 1998).

Gastos de administración: se considera como el 3,2% del Costo Total Directo (Zugarramurdi, 1998).

Costos de venta y distribución: se asume como el 0,6% del Costo Total Directo (Zugarramurdi, 1998).

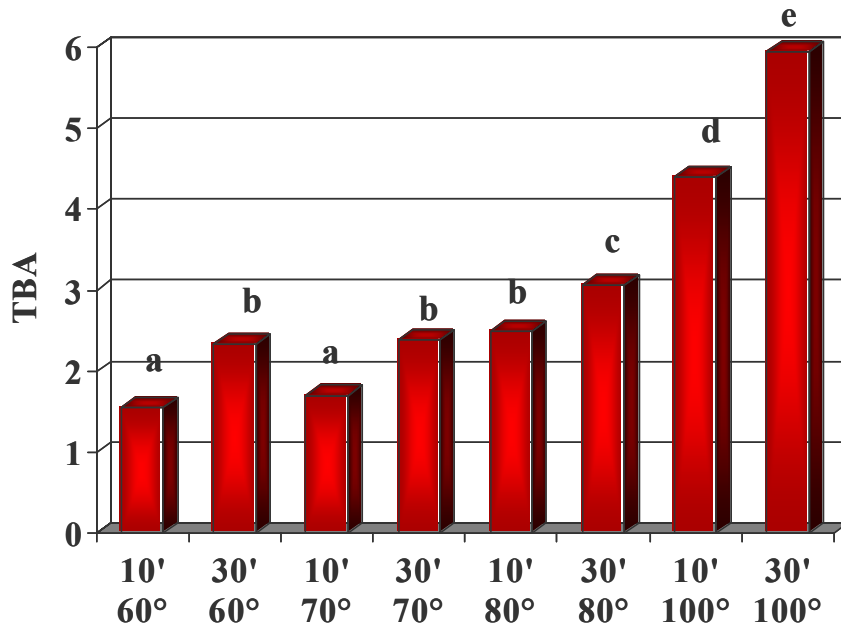
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Parámetros tecnológicos para la extracción del aceite

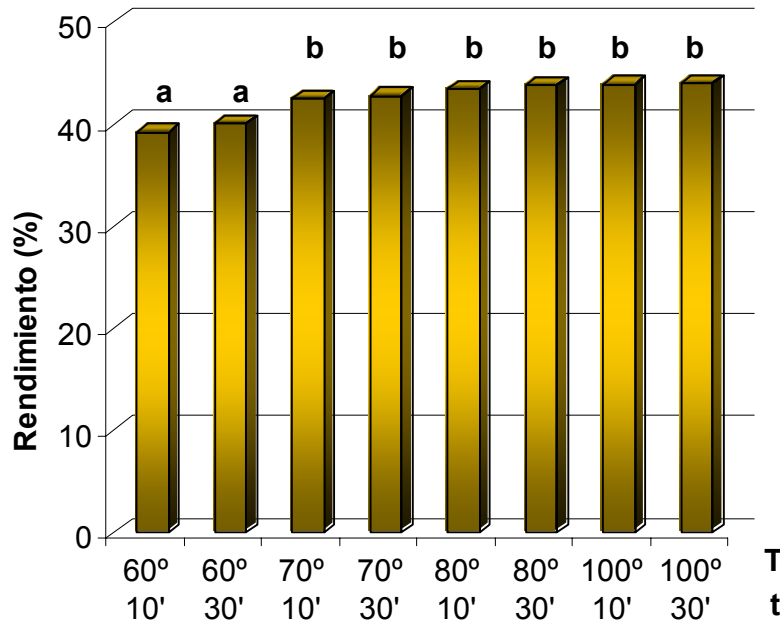
Existen diferentes métodos de obtención de aceites de pescado de los cuales la extracción por calor es la más utilizada (Aidos, 2001), favoreciendo este agente físico la liberación del aceite de las células hepáticas, al mismo tiempo que inactiva las enzimas lipolíticas que causan la hidrólisis de los lípidos (reacción que favorece la oxidación de los ácidos grasos) (Banks, 1967; Guillén, 2004). Durante el proceso de calentamiento se pueden producir también, procesos oxidativos de los lípidos; la naturaleza de estas alteraciones depende de factores tales como la temperatura, el tiempo de calentamiento, el grado de insaturación del aceite entre otros (Muika, 2005).

El análisis estadístico del efecto de la temperatura y el tiempo de cocción sobre la cantidad de aceite recuperado mostró interacción significativa entre ambos factores sobre las TBARS ($F = 13.6$, $p < 0.01$), por lo que se compararon las 8 medias resultantes de todas las combinaciones. Las TBARS usadas como indicador de la formación de aldehídos en los procesos de oxidación, presentaron los valores más bajos para las combinaciones de 60°C de temperatura y 10 minutos de cocción y la temperatura de 70°C y 10 minutos (Fig.6).

En el caso del rendimiento, el análisis también demostró la existencia de interacción entre la temperatura y el tiempo ($F = 52$, $p < 0.01$). Al no encontrarse diferencias significativas para las combinaciones de 70° , 80° y 100°C , (Fig. 7), se tomó para el desarrollo de este trabajo la combinación de 70°C y 10 minutos de cocción ya que garantiza rendimientos aceptables y bajos niveles de oxidación.



Tiempo (min.) y Temperatura (° C) de cocción
 Fig. 6: Grado de oxidación (# de TBA) en dependencia de la temperatura y el tiempo de cocción. Letras diferentes indican diferencia significativa



Tiempo (min.) y Temperatura (° C) de cocción
 Fig. 7. Porcentaje de rendimientos en dependencia de la temperatura y el tiempo. Letras diferentes indican diferencia significativa.

7.2 Indicadores de calidad del aceite de hígado de tiburón obtenido.

En todo proceso tecnológico la calidad del producto terminado es establecida por comparación con valores estándares, prefijados para un conjunto de indicadores (Bimbo, 1998). En los aceites de pescado existen dos grupos de índices, uno relacionados con las afectaciones que el procesamiento puede causar sobre el aceite, entre los que se encuentran el índice de acidez y de peróxidos, en el segundo, están aquellos que se identifican, con las especies que dan origen al producto, como son la densidad y el índice de yodo. En la Tabla XIX se muestran los valores alcanzados por estos indicadores para el aceite de hígado de tiburón obtenido.

Tabla XIX. Indicadores de calidad del aceite de hígado de tiburón

Parámetros	Resultados
Acidez (%)	0.9
Índice de peróxido (meq O ₂ /kg)	0.48
Índice de yodo (gI/100g)	104.5
Densidad g/cm ³	0.9143
Humedad (%)	1.0
Olor y sabor	característico fresco
Color	amarillo transparente

Los valores de acidez, del producto indican que la hidrólisis enzimática pudo ser reducida debido a una adecuada conservación de la materia prima (Aidos y col., 2001). Estos valores de acidez e índice de yodo son similares a los obtenidos para aceites de diferentes especies de tiburón (*Centrocymsus coelolepsis* y *Centrophorus squamosus*) recomendados para consumo humano (www.phosphotech.com/contenu/plaquette.pdf.doc).

Los niveles de peróxidos y el porcentaje de humedad coinciden con los valores reportados por Aidos (2002) para aceites obtenidos a partir de subproductos de arenque

conservados durante 48 horas a una temperatura de 2° C. De acuerdo con lo reportado por Rossel (1989) las grasas cuyo valor de peróxido sean inferiores o iguales a 1 meqO₂/kg son consideradas de buena calidad y que han sido obtenidas a partir de una materia prima fresca. Si bien los ácidos grasos insaturados del aceite de hígado de tiburón, lo hacen atractivo desde el punto de vista nutricional, al mismo tiempo resultan más susceptibles de sufrir cambios oxidativos, que dan lugar a compuestos tóxicos (Valenzuela y col., 1999). La oxidación de los aceites de pescado es un proceso complejo, en el que las primeras etapas determinan la magnitud de los daños en el producto (Ackman y Ratnayake, 1992), de ahí la importancia de un control adecuado del nivel de peróxido.

El color, olor y sabor del aceite obtenido fueron característicos del pescado fresco, lo que corrobora que no existieron procesos oxidativos severos durante su extracción y la buena calidad de la materia prima usada.

7.3 Emulsión de aceite de hígado de tiburón saborizada.

Los análisis de estabilidad para cada una de las combinaciones ensayadas (Tabla.X) muestran que el menor porcentaje de aceite separado correspondió a la combinación de 4,0 % de goma arábica, 17 % de maltodextrina y 30 % de aceite hígado de tiburón, lo que nos indica que la proporción utilizada de estos soportes garantizan un encapsulamiento óptimo con alto porcentaje de aceite. Con relación a los resultados de la viscosidad se obtuvieron valores entre 768 y 5632 cps, esto nos muestra que a valores muy bajos de viscosidad la emulsión es muy líquida y por tanto poco estable y a valores más altos es demasiado viscosa y difícil de ingerir (Soottitantawat, 2003).

Tabla X. Resultados de la estabilidad y de la viscosidad en la emulsión en las diferentes variantes estudiadas.

Variantes	Agua (%)	Maltodextrina (%)	Goma (%)	Aceite (%)	Viscosidad (cps)	Aceite separado (mL/100 mL emulsión)
1	38.0	20.0	6.0	27.3	4224	0.36
2	46.3	14.0	6.0	25.0	2368	0.33
3	40.3	20.0	6.0	25.0	3008	0.60
4	43.9	16.0	3.0	28.3	768	0.47
5	40.6	20.0	4.0	26.6	1632	0.56
6	38.0	17.3	6.0	30.0	3424	0.36
7	46.3	16.0	6.0	25.0	2016	0.83
8	44.3	14.0	3.0	30.0	790	0.50
9	43.3	18.0	5.0	25.0	2144	0.59
10	42.6	16.0	6.0	26.6	3168	0.68
11	42.6	16.0	6.0	26.6	3168	0.68
12	38.0	20.0	3.3	30.0	1310	0.16
13	46.3	14.0	6.0	25.0	2368	0.33
14	41.9	18.0	3.0	28.3	1985	0.34
15	41.3	14.0	6.0	30.0	5632	0.99
16	46.3	17.0	3.0	25.0	1060	0.45
17	49.3	14.0	3.0	25.0	760	0.38
18	39.9	17.0	4.2	30.0	1320	0.11
19	43.3	20.0	3.0	25.0	1300	0.60
20	49.3	14.0	3.0	25.0	760	0.38
21	43.9	14.0	5.0	28.3	4200	0.47
22	39.9	17.0	4.2	30.0	1320	0.11
23	46.6	14.0	4.0	26.6	1216	0.44
24	38.0	20.0	3.0	30.0	1310	0.16

El análisis de varianza de los resultados experimentales de la variable de respuesta: estabilidad, con respecto a las variables independientes goma arábica, maltodextrina, aceite de hígado de tiburón y agua resultó significativo, se obtuvo que el modelo que presentó mejor ajuste fue el especial cúbico para una probabilidad de 0.0001 o sea F valor = 5.66, $Prob > F = < 0,0119$ y una R^2 igual a 0.86, lo que explica el 86 % de las variaciones observadas. El modelo decodificado se muestra a continuación:

$$E = -3.4X - 1.41X_1 - 22.99X_2 - 3.70X_3 + 0.48X X_2 + 0.12X X_3 + 0.79X_2 X_3 - 0.02X X_2X_3$$

Donde: X: Agua, X₁: Maltodextrina, X₂: Goma arábica, X₃: Aceite de hígado de tiburón.

Los valores de los coeficientes de determinación se muestran en la Tabla XI, en la misma se observa que las interacciones entre el agua y la goma, el agua y el aceite, y la goma y el aceite, así como la interacción agua, goma y aceite presentan un aporte significativo a las variaciones de la estabilidad de la emulsión, lo cual es lógico pues la goma es el agente emulsificante y la emulsión a obtener es del tipo aceite/agua y la influencia de los factores por separado no es significativa.

Tabla XI. Coeficientes del polinomio y su significación en las variaciones de la estabilidad (separación de aceite) de la emulsión.

Factor	Coficiente	Significación para p< 0.05
Agua	0.34	NS
Maltodextrina	1.34	NS
Goma arábica	-5.27	NS
Aceite de hígado de tiburón	-1.76	NS
Agua x Goma	7.47	*
Agua x Aceite	4.48	*
Goma A. x Aceite	15.79	*
Agua x Goma x Aceite	-22.34	*

El análisis de varianza de los resultados experimentales de la variable respuesta: viscosidad, con respecto a las variables independientes goma arábica, maltodextrina, aceite de hígado de tiburón y agua resultó significativo, se obtuvo que el modelo que presentó mejor ajuste fue el cúbico para una probabilidad de 0.0001 o sea F valor = 34.66 Prob > F = < 0.001 y una R² igual a 0.98, lo que explica el 98 % de las variaciones observadas. El modelo decodificado se muestra a continuación:

$$V = -5574.77 X - 27992.16X_1 - 48357.85X_2 - 17207.69X_3 + 456.35X X_3 + 1222.81X_1X_3 + 1501.78X_2 X_3 - 30.43X X_1 X_2 - 22.00 X X_1 X_3 - 72.59 X_1 X_2 X_3$$

Donde: X: Agua, X₁: Maltodextrina, X₂: Goma arábica, X₃: Aceite de hígado de tiburón.

La Tabla XII muestra los valores de los coeficientes de determinación para la viscosidad, en la misma se observa que las interacciones entre el agua y la goma arábica y el agua y el aceite brindan un aporte significativo a las variaciones de viscosidad, así como también las interacciones entre la goma arábica y el aceite, y el agua, la goma y el aceite, presentan un aporte significativo a las variaciones de la viscosidad de la emulsión, lo cual es lógico pues la goma es el agente emulsificante que más imparte viscosidad. La influencia de los factores por separado no es significativa.

Tabla XII. Coeficientes del polinomio y su significación en las variaciones de viscosidad de la emulsión.

Factor	Coficiente	Significación para p< 0.05
Agua	201.33	NS
Maltodextrina	1733.35	NS
Goma arábica	7526.47	NS
Aceite de hígado de tiburón	2820.63	NS
Agua x Aceite	4968.20	*
Maltodextrina x Aceite	7027.40	*
Goma. x Aceite	17435.37	*
Agua x Maltodextrina x Goma	16640.17	*
Agua x Maltodextrina x Aceite	9696.52	*
Maltodextrina x Goma x Aceite	2809.33	*

Resulta significativo para aumentar la estabilidad y viscosidad de la emulsión la interacción de los soportes con el aceite lo cual era de esperar, pues para que una emulsión sea estable y viscosa se requiere de una relación de compromiso entre el aceite y el soporte,

y como se observa estas interacciones son las de más altos coeficientes. La relación soporte/agua también es importante pues influye en la viscosidad de la emulsión y emulsiones con bajas viscosidades tienden a ser más inestables.

La restricción para la optimización mediante la intersección de la superficie de respuesta fue que la emulsión a obtener tuviera como máximo una separación de aceite de 0,2mL/100mL de emulsión y una viscosidad entre 2000 a 3000 cps, el contenido de goma arábica se mantuvo constante en 5 %. En la figura 8, la zona clara muestra el lugar donde cualquier punto que se escoja cumple con la restricción impuesta, se buscó un punto con estas condiciones el cual se muestra en la Tabla XIII.

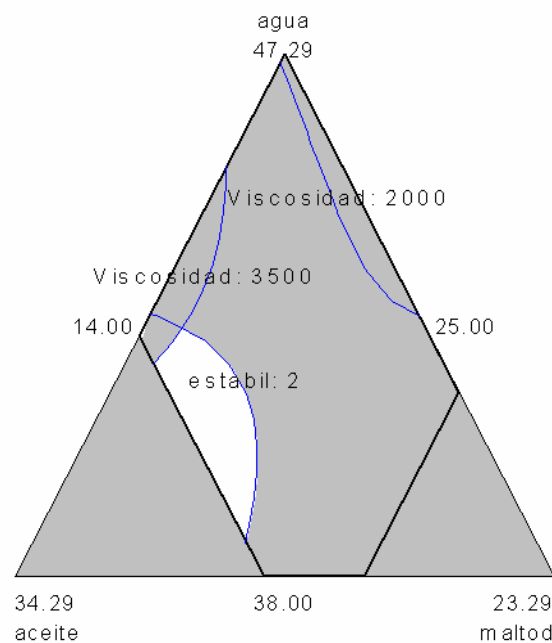


Figura 8. Representación grafica de análisis superficie de respuesta.

Tabla XIII. Variante escogida en la intersección de la superficie de respuesta

Materias primas (%)	Variante
Goma arábica	5.0
Agua	41.1
Aceite de hígado de tiburón	29.5
Maltodextrina	16.0

Los indicadores de calidad de la variante seleccionada se muestran en la Tabla XIV, donde se observa que el valor de la actividad de agua es adecuado sobre la base de la cantidad de azúcar adicionada (Medvedeff. 2000). El índice de peróxido indica que no se han iniciado procesos oxidativos y ratifica el efecto protector de los materiales encapsulantes utilizados (Jiménez, 2004).

Tabla XIV. Indicadores de calidad de la emulsión saborizada con saborizante de naranja

Índices	Emulsión
Aceite separado (mL/100 mL emulsión)	0.13 (± 0.1)
Viscosidad (cps)	2823 (± 2.0)
Actividad de agua	0.979 (± 0.002)
Tamaño de glóbulo (μm)	3.2 (± 0.2)
I. de peróxido (meq O ₂ /kg)	0.66 (± 0.2)
Conteo total (UFC/g)	5×10^3
Hongos y levaduras (UFC/g)	negativo
Aspecto	Homogéneo
Olor	Característico a naranja con ligeras notas a aceite de pescado
Sabor	Característico a naranja con ligero regusto a aceite de pescado

Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar (n=3)

EL conteo de microorganismos mesófilos aerobios (5×10^3 UFC/g) muestra que el producto tiene buena calidad sanitaria, encontrándose este parámetro dentro de los niveles

establecidos para productos alimenticios (Huss, 2000). No se detectó presencia de hongos, ni levaduras. El tamaño promedio del glóbulo obtenido para la emulsión, favorece su estabilidad interfacial, lo cual se logró por las combinaciones y concentraciones de los agentes microencapsulantes utilizados (Hogan, 2003; Kagami, 2003), conjuntamente con los parámetros de homogenización aplicados

Una vez definida la variante optima se elaboraron emulsiones con sabor, naranja, piña y frambuesa, las que fueron aceptadas por los catadores, ubicándolas en la categoría de buena (Tabla XV), lo que indica que con los sabores seleccionados se logra enmascarar el olor y sabor característico del aceite utilizado en su elaboración.

Tabla XV. Resultados de la prueba de aceptación de las emulsiones saborizadas con sabor naranja, piña y frambuesa.

Muestra	Puntuación	Categoría
Emulsión naranja	4.8 ± 0.1	Buena
Emulsión piña	5.3 ± 0.1	Buena
Emulsión frambuesa	5.1 ± 0.1	Buena

Las puntuación es la media de las evaluaciones ± la desviación estándar (n=9)

7.4 Aceite de hígado de tiburón microencapsulado (AHTM)

La habilidad de diferentes combinaciones de soportes para microencapsular aceite de hígado de tiburón se puede observar en la Tabla XVI. Se aprecia que la variante 4, tiene la mayor cantidad de aceite microencapsulado y el valor obtenido esta dentro del rango propuesto por Lietchti (1985), quien plantea que la retención de volátiles y de otros compuestos presentes en una emulsión secada por atomización es de 90 a 98 % como regla general y de acuerdo a la naturaleza de los componentes presentes, lo cual es corroborado por Reineccius (1994).

También se evidencia en los diferentes experimentos que la inclusión de la gelatina base fortalece la película que forma la microcápsula, lo que se refleja en el incremento apreciable de la cantidad de aceite encapsulado al aumentar la cantidad de gelatina. Estos resultados coinciden con los informados por Chih-Cheng y col. (1995), para aceite de pescado microencapsulado.

Tabla XVI. Porcentaje de aceite microencapsulado en las variantes con restricciones de goma arábica y gelatina base.

Variante	Maltodex- trina	Goma	Gelatina	Aceite en la emulsión	% Aceite encapsulado	% Aceite superficie
1	30	9.0	1.0	10	95.0	4.9
2	30	10.0	0.0	10	89.4	10.6
3	30	10.0	0.0	10	89.3	10.7
4	30	8.0	2.0	10	98.7	1.3
5	30	8.0	2.0	10	98.8	1.2
6	30	9.5	0.5	10	90.2	9.8
7	30	10.0	0.0	10	89.5	10.5
8	30	8.6	1.3	10	95.3	4.7
9	30	9.3	0.6	10	91.3	8.7
10	30	8.5	1.5	10	97.0	2.9

El análisis de varianza de los resultados experimentales de la variable respuesta porcentaje de aceite microencapsulado con respecto a las variables independientes goma arábica y gelatina, resultó significativo, el modelo que presentó mejor ajuste fue el lineal para una probabilidad de 0.0001 o sea F valor = 14.91, $\text{Prob} > F = < 0.0013$ y una R^2 igual a 0.97, lo que explica el 97 % de las variaciones observadas. El modelo decodificado se muestra a continuación:

$$A = 89.05X + 98.84 X_1$$

Donde: X: goma arábica X_1 : Gelatina

El mayor porcentaje de aceite microencapsulado se obtiene con la relación de 8 % de goma y 2 % de gelatina, siendo la combinación utilizada para maximizar la concentración de aceite a microencapsular. Los resultados de la matriz ensayada con valores de aceite entre 10 y 25 % (p/p) (Tabla XVII) muestran ligeras variaciones que no resultan significativas en el proceso de microencapsulación, donde el modelo que presentó mejor ajuste fue el cuadrático para una probabilidad de 0.01, F 101.78 y R² 0.97, lo que explica el 97 % de las variaciones observadas.

$$A = 99.68 X + 99.30 X_1 - 4.69 X X_1$$

donde X : agua X₁ : aceite X X₁ : agua-aceite

Tabla XVII. Contenido de aceite microencapsulado en las variantes ensayadas con restricciones de agua y aceite.

Variante	Aceite total (%)	Aceite Microencapsulado (%)	Aceite en la superficie (%)
1	17.5	99.2	0.7
2	25.0	99.2	0.7
3	21.2	99.2	0.7
4	10.0	99.4	0.6
5	13.7	99.2	0.8
6	10.0	99.3	0.7
7	25.0	99.2	0.7
8	25.0	99.3	0.7
9	17.5	99.2	0.8

Los factores independientes (agua y aceite) no influyen en el proceso de microencapsulación, pero si la combinación de ambos, ya que la presencia de agua en mayor o menor cuantía incide en la hidratación de los soportes y en la encapsulación del aceite.

Los porcentajes de microencapsulación nos permiten seleccionar la variante con

mayor concentración de aceite, respondiendo a los objetivos planteados de buscar un mayor aporte de este componente, por lo que se caracterizó la variante con un 25% de aceite, 2% gelatina, 8% goma arábica, 30% maltodextrina y 35% agua (tabla XVIII)

Tabla XVIII. Caracterización del microencapsulado con 25% de inclusión de aceite.

Parámetros	Resultados
Peso específico aparente (g/cm ³)	0.7927 (±0.05)
Actividad de agua	0.313 (± 0.01)
Humedad (%)	3.5
Peróxido (meqO ₂ /kg)	0.76 (± 0.11)
Tamaño partícula (µm)	0.1-25

Los resultados son las medias ± desviación estándar (n=3)

El producto desarrollado presenta un bajo porcentaje de humedad, lo cual demuestra que las condiciones definidas para el secado son adecuadas. Gascon (1999) ensayó la microencapsulación de aceites esenciales de plantas aromáticas empleando una temperatura de entrada del aire de 180-200 °C y 90-95 °C de salida, obteniendo un producto con 4.5 % de humedad; por otro lado Soottitantawat (2003) aplicando temperaturas de 200 °C de entrada y 110 °C de salida en la encapsulación de aceite esencial de naranja con soportes semejantes a los usados en este estudio, alcanzó un 2,5 % de humedad, lo que demuestra la incidencia de las condiciones de secado utilizadas en las propiedades del producto final. En cuanto a la actividad de agua, este indicador se mantuvo dentro del rango de 0.10-0.97 reportado por Beristain y col. (2003) para aceite esencial de naranja en polvo, lo que limita el crecimiento de microorganismos y garantiza una mayor estabilidad oxidativa, ya que el valor de peróxido obtenido no sugiere la existencia de procesos oxidativos.

El la Figura 9 se muestra el perfil de distribución de las partículas del polvo, las

cuales presentan una variedad de tamaño que oscila desde 0.1-25 μm , encontrándose el 70 % en el rango de 1-9 μm , hallándose dentro de la distribución del tamaño de partículas características del método utilizado (Pedroza-Islas, 2002)

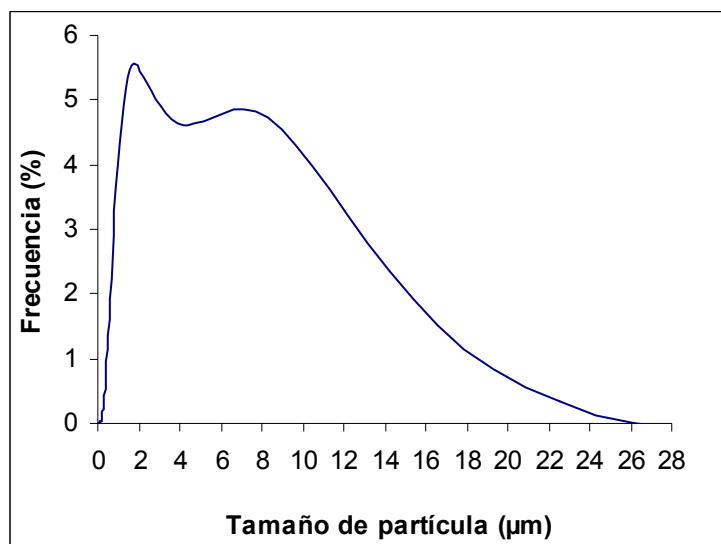


Figura 9. Perfil de distribución de partículas en el aceite microencapsulado

7.5 Clases de lípidos y composición de ácidos grasos en el aceite, emulsión y microencapsulado.

El contenido de lípidos en los hígados homogenizados fue de 42.0 ± 3.8 % (p/p). Por otro lado, Navarro y col. (1991) y Jayasinghe y col. (2003) obtuvieron valores entre 26.7-51.8% y 26.1-60.1%, respectivamente, para diferentes especies de tiburones capturados en aguas costeras de Cuba y en el Océano Indico; sin embargo, estos valores resultan bajos si se comparan con los reportados para especies de tiburones de aguas profundas que pueden llegar hasta un 75 % de lípidos en el hígado (Wetherbee, 2000). Esta diferencia se debe a que el índice hepatosomático de los tiburones de aguas costeras (5.0-10.0 %) es más bajo que el de tiburones de aguas profundas (15.0-25%) (Jayasinghe y col.,

2003).

En cuanto a la composición de los lípidos en el aceite, los triglicéridos fueron la clase predominante (Tabla XIX) representando el 97.2 % del contenido total de lípidos.

Tabla XIX. Clases de lípidos en aceite de hígado de tiburón.

Clases de lípidos	(%)
Triglicéridos	97.2 ± 0.07
Diglicéridos	1.6 ± 0.03
Monoglicéridos	0.7 ± 0.01
Fosfolípidos	0.3 ± 0.01

Se presentan las medias ± la desviación estándar (n=3)

Los triglicéridos son el mayor componente de los lípidos de depósito en las células de los animales. En el pescado, los triglicéridos son movilizados a partir de los lípidos de depósito hacia el hígado en dependencia de las necesidades de energías del organismo (Navarro y col., 2000). Similares niveles de triglicéridos han sido reportados por Nichols y col. (2001) en hígados de tiburones de aguas templadas y por Jayasinghe y col. (2003) en hígados de tiburones de aguas costeras.

El contenido de fosfolípidos en la fracción polar fue muy bajo (Tabla XIX), similares resultados reportaron Kang (1998) y Wetherbee (2000) para aceites de hígados de tiburón lo cual se explica ya que estos lípidos son componentes fundamentales de las membranas celulares, las cuales son separadas en el proceso de extracción del aceite.

Fueron identificados veintiún ácidos grasos en la fracción neutra del aceite de hígado de tiburón y dieciocho en la fracción polar (Tabla XX). Los resultados muestran que

el ácido palmítico (16:0) y el esteárico (18:0) son los ácidos grasos saturados predominantes en ambas fracciones. Semejante comportamiento fue observado por Saglik y col. (2001) para el bonito del Atlántico y la macarela del mediterráneo y por Saify y col. (2003) en aceites de hígados de *Eusphyra blochii* y *Carcharhinus bleekeri*.

Los ácidos grasos insaturados fueron los más abundantes en ambas fracciones, principalmente los monoenoos que representaron el 32.6 % del total analizados. Diferentes autores (Bakes y col., 1996 y Navarro y col. 2000) reportaron niveles de los ácidos grasos monoinsaturados (16:1, 18:1, 20:1, 22:1) entre 43-74.9% del total de los ácidos grasos para especies de tiburones tales como *Centroscymnus crepidater*, *Etmopterus granulosus* y *C. cuvier*, este último capturado en Cuba. Sin embargo, Navarro y col. (2000) encontraron que los ácidos grasos monoinsaturados en aceite de hígado de *C. falciformis* capturados en el Golfo de California representaban el 19.5 %.

Estas variaciones pueden estar relacionadas con las especies, zonas de captura, tipo de alimentación o época del año. Diferentes autores (Hazra y col., 1998; Montero y col., 2001), han estudiado el efecto de las estaciones del año, temperatura del agua y composición del alimento en el contenido de lípidos y en el perfil de ácidos grasos en especies marinas. Hardí y Mackie (1969) reportaron que el contenido de fosfolípidos en aceite de sardina era inversamente proporcional al contenido de triglicéridos y que se observaba una reducción en el grado de insaturación en épocas de invierno.

El ácido linoléico (18:2 n6) que es fundamental para el mantenimiento del metabolismo celular, las actividades físicas y el crecimiento (Uauy y col., 2002; Laidlaw, 2003) está representando el 4.3 % en la fracción neutral, cercanos a los niveles encontrados por Navarro (2004) en rayas.

Se han realizado diversos trabajos acerca de la composición y distribución posicional de los ácidos grasos en los fosfolípidos. Shuster (1965) y Hiratsuka (2004) analizaron por cromatografía de gases, los ácidos grasos presentes en la fosfatidil colina y fosfatidil etanolamina en músculos de atún aleta amarilla (*Thunnus albacores*), albacora (*T. alalunga*) y en gónadas de bonito (*Eutynnus pelamis*) encontrándose cantidades significativas de ácidos grasos insaturados 20:5 y 22:6. En este estudio los n-3 representan el 7 % del total de ácidos grasos y los ácidos eicosanpetaenoico (20:5 n3) y docosahexaenoico (22:6n3) fueron encontrados en ambas fracciones, lo que corrobora que los triglicéridos no constituyen la única fuente de estos ácidos grasos.

Saify y col. (2003) reportaron niveles de EPA y DHA para aceites de hígados de tiburones de las especies *C. bleeker* y *E. blochii* entre 0.16-0.85% y 0.06-2.39%, en el presente trabajo el contenido de EPA y DHA es superior a los niveles encontrados por estos autores lo que puede estar influenciado por factores fisiológicos y ambientales descritos anteriormente.

Tabla XX. Ácidos grasos (%) en las fracciones neutra y polar del aceite

FAME	Fracción Neutra (%)	Fracción Polar (%)
14:0	3.4 ± 0.06	4.0± 0.17
16:0	24.2 ±0.04	33.3± 0.01
16:1(n-9)	0.7 ± 0.01	0.8± 0.08
16:1(n-7)	8.0 ± 0.29	8.6± 0.09
18:0	6.1± 0.03	8.6± 0.03
18:1(n-9)	15.6± 0.26	20.6± 0.74
18:1(n-7)	5.0± 0.01	6.7± 0.05
18:2(n-6)	4.3± 0.01	-
18:3(n-6)	0.5± 0.08	-
18:3(n-3)	0.5± 0.21	-
18:4(n-3)	0.1± 0.37	0.3± 0.23
20:1(n-11)	0.7± 0.55	1.2± 0.40
20:1(n-9)	1.0± 0.08	1.9± 0.29
20:1(n-7)	0.2± 0.03	0.3± 1.21
20:2(n-6)	0.7± 0.12	0.7± 0.85
20:3(n-6)	0.3± 0.46	0.05± 0.06
20:4(n-6)	4.9± 0.02	5.0± 0.32
20:5(n-3)	1.7± 0.21	1.8± 0.12
22:1(n-9)	0.1± 0.07	0.1± 0.08
22:6(n-3)	5.3± 0.42	5.3± 0.29

Se presentan las medias ± la desviación estándar (n=3)

La composición de ácidos grasos en la emulsión y en el aceite microencapsulado se muestran en la Tabla XX. La prueba de Chi cuadrado mostró que no existe diferencia significativa en la composición de ácidos grasos de los productos con respecto al aceite usado como materia prima, lo que indica que los parámetros tecnológicos definidos y las combinaciones de los materiales encapsulantes utilizados para la emulsión, y del aceite microencapsulado resultan adecuados pues previenen la oxidación y mantienen la composición del aceite natural

Tabla XX. Composición de ácidos grasos en el aceite de hígado de tiburón, emulsión y microencapsulado.

	Aceite (%)	Emulsión (%)	Microencapsulado (%)
Σ Saturados	41.0 (\pm 1.4)	40.9 (\pm 0.2)	38.1 (\pm 0.9)
Σ MUFA	32.6 (\pm 0.3)	31.5 (\pm 0.2)	34.7 (\pm 0.2)
Σ PUFA	26.4 (\pm 1.9)	27.6 (\pm 0.8)	26.2 (\pm 0.7)
n-3/n-6	3.6	4.0	4.0
20:5/22:6	0.27	0.28	0.26

MUFA; ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos polinsaturados

La relación de los ácidos grasos polinsaturados con los saturados en el aceite de hígado de tiburón es de 1.4, valor que se encuentra dentro de los recomendados por algunos especialistas (Simopoulos, 2000) Los ácidos grasos de mayor insaturación, eicosapentanoico (20:5n3) y docosahexaenoico (22:6n3) se detectaron en los tres productos

evaluados en niveles comprendidos entre 1.7 - 2.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ y 6.4-8.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Existen evidencias que resaltan los beneficios de llevar una alimentación donde la relación de ácidos grasos n-6/ n-3 sea entre 5:1 a 10:1 (FAO, 1994; Nettleton, 1995; Contreras, 2002); sin embargo, los aceites vegetales que en la actualidad son los más usados constituyen fundamentalmente una fuente de ácidos grasos omega 6. El aceite obtenido presenta una relación n-3/n-6 de 3.6, esto corrobora lo planteado por diferentes autores que los aceites marinos son ricos en PUFA n-3 (Ollis, 1993).

7.6 Vida de anaquel de los productos, aceite, emulsión y polvo.

Los valores de peróxido del aceite de hígado de tiburón, la emulsión y el polvo no fueron significativamente diferentes entre sí ($p < 0.05$) al inicio del almacenamiento, moviéndose en el rango entre 0.48-0.75 meqO/kg. En la Figura 10 se observa como este indicador en los tres productos aumentó con el tiempo, principalmente el aceite que a los 40 días presentó valores de 3.90 meqO/kg; sin embargo, la emulsión a los 40 días y el polvo a los 60 días no mostraban diferencias significativas con el aceite a los 20 días (Tabla XXII).

Rossell, (1989) plantea que un valor de peróxido de hasta 10 meqO₂/Kg es aceptado en aceites y grasas destinadas al consumo humano, en este estudio el aceite de hígado de tiburón a los 120 días presentó valores promedios de 9.87 meqO₂/kg lo que indica un deterioro oxidativo que limita su consumo.

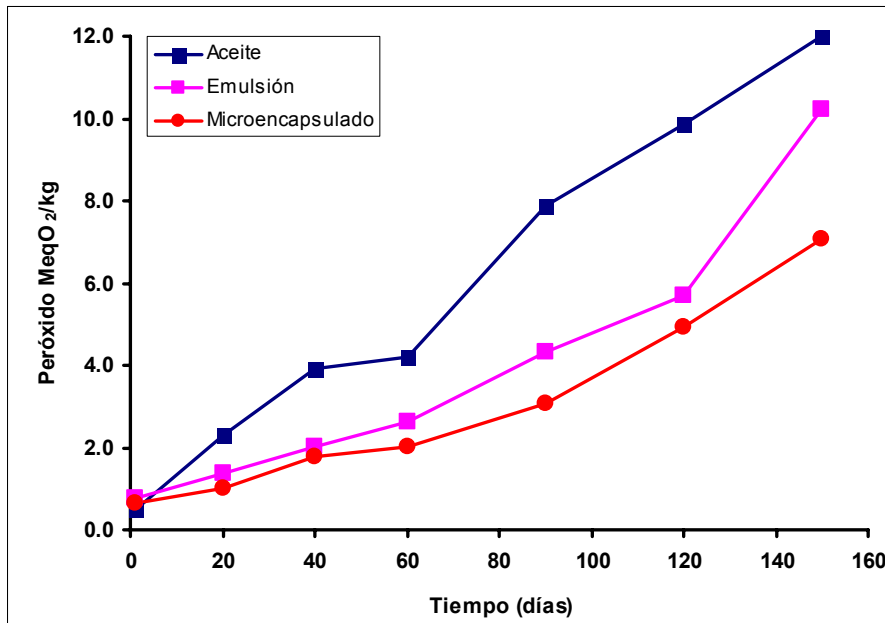


Figura 10. Comportamiento del índice de peróxido durante el almacenamiento del aceite, emulsión y microencapsulado.

Por otro lado, los valores de peróxido del aceite microencapsulado a los 150 días de almacenamiento no eran significativamente diferentes a los de la emulsión a los 120 días y los del aceite crudo a los 90 días (Tabla XXII), corroborando lo planteado por diferentes autores sobre el efecto de protección de los ácidos grasos contra la oxidación, utilizando diversos métodos de encapsulación (Heinzelmann, 2000; Minemoto y col., 2002).

Otros factores que inciden en la estabilidad oxidativa de los productos emulsionados y microencapsulados son el tamaño de partícula y el tipo de material encapsulante. Una combinación de maltodextrina DE<20 y goma arábica, contribuye en la continuidad estructural, durante la formación de la película encapsulante al combinar dos compuestos de muy diferente peso molecular, lo que favorece la eficiencia de encapsulación del aceite (Planas y col., 1990), además de que la maltodextrina usada con DE<20 incrementa la eficiencia de la microencapsulación (Hogan y col. 2001) y reduce la

oxidación durante el tiempo de almacenamiento (Hogan, 2003) lo cual se corresponde con los resultados de este estudio.

Tabla XXII. Valores del peróxido (meqO₂/kg) durante el almacenamiento para el aceite, emulsión y microencapsulado.

Tiempo (días)	Aceite	Emulsión	Microencapsulado
1	0.48 ± 0.20 a	0.75 ± 0.11 a	0.66 ± 0.10 a
20	2.30 ± 0.20 cd	1.38 ± 0.34 abc	1.02 ± 0.21 ab
40	3.90 ± 0.70 e	2.03 ± 0.06 cd	1.77 ± 0.59 bcd
60	4.20 ± 0.10 e	2.63 ± 0.32 d	2.03 ± 0.35 cd
90	7.87 ± 0.32 klm	4.33 ± 0.29 hij	3.07 ± 0.12 fgh
120	9.87 ± 0.06 lmn	5.71 ± 0.26 jk	4.92 ± 1.15 ij
150	12.00 ± 0.20 n	10.21 ± 1.03 mn	7.08 ± 0.72 kl

VP es la media ± la desviación estándar (n = 3). Valores con letras diferentes tienen diferencia significativa (p<0.05)

Existen diferentes opiniones sobre la incidencia del tamaño de partícula en la oxidación de los productos emulsionados y microencapsulados. Risch y Reineccius (1988) plantean que pequeños tamaños de partículas en la emulsión no favorecen el tiempo de vida útil de la misma; sin embargo, Frankel y col. (2002) no encontraron dependencia entre la oxidación y el tamaño de partícula. El tamaño de partícula alcanzado en este estudio para el aceite microencapsulado (0.1- 25 µm) se encuentra en el rango descrito por Schrooyen y col. (2001) de 1-1000 µm para aceites microencapsulados, con una vida útil de hasta un año.

Al evaluar la formación de sustancias aldehídicas (TBARS), productos secundarios

de la oxidación lipídica observamos (Figura 11) en el aceite un aumento en el desarrollo de las mismas con el tiempo hasta un valor máximo de 5.95mg/Kg a los 90 días de almacenamiento, con un decremento de este parámetro posteriormente, lo cual podría explicarse ya que el método de TBARS se basa fundamentalmente en la determinación del complejo TBA-MA; sin embargo, durante la oxidación se producen otros compuestos de alta reactividad, que pueden desdoblarse en otros que no reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (Gray, 1978; Nawar,1996).

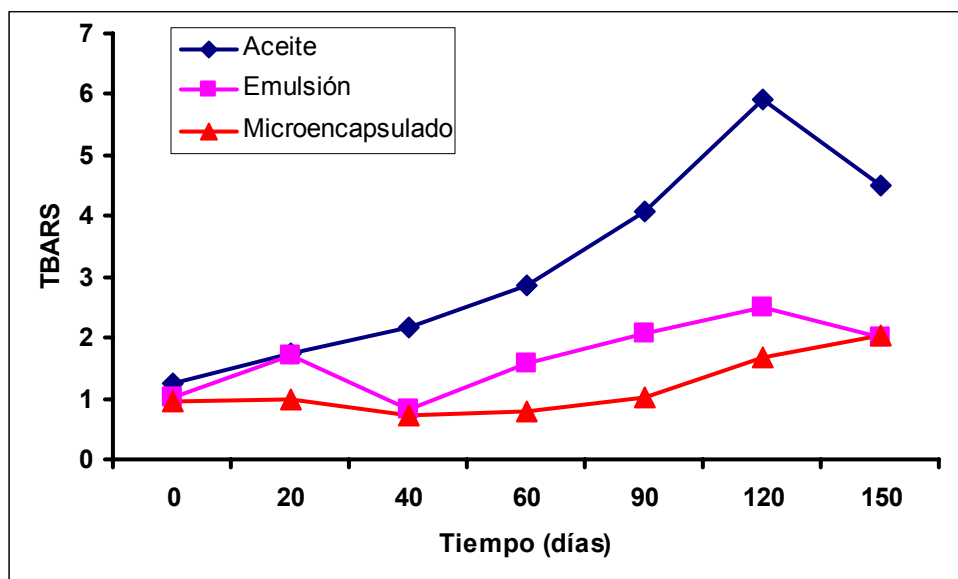


Figura 11. Comportamiento de las TBARS durante el almacenamiento del aceite, emulsión y microencapsulado.

Para la emulsión y el aceite microencapsulado el comportamiento de este parámetro presentó altas y bajas durante el estudio de durabilidad. Al comparar las medias en los tratamientos (Tabla XXIII) se observa que este índice, de manera general, en el aceite se diferenció significativamente de la emulsión y del polvo durante el estudio, aunque en el

polvo a los 120 días no difería significativamente del alcanzado por el aceite a los 20 días y la emulsión a los 90 días no era diferente significativamente al aceite a los 40 días.

En el caso del aceite, los catadores identificaron ligeros olores rancios a los 90 días de almacenamiento cuando las TBARS habían alcanzado el máximo valor; sin embargo, estos olores se hicieron más intensos a los 120 días, coincidiendo con el rechazo del producto. En la emulsión y en el aceite microencapsulado no se observaron olores y/o sabores rancios a los 150 días de almacenamiento.

Tabla XXIII. Valores de las TBARS durante el almacenamiento para el aceite, emulsión y microencapsulado.

Tiempo	Aceite	Emulsión	Microencapsulado
1	1.25 ±0.02 d	1.02 ±0.04 cd	0.94± 0.03 bc
20	1.73±0.02 efg	1.72 ± 0.04 ef	1.00 ±0.03 c
40	2.16±0.05 hi	0.84 ± 0.03 abc	0.72 ±0.4 a
60	2.86±0.0 4 j	1.58 ±0.08 e	0.78± 0.01 ab
90	4.09±0.07 k	2.07± 0.05 h	1.01 ±0.03 cd
120	5.92±0.02 l	2.51 ±0.04 ij	1.67± 0.29 e
150	4.51±0.06 k	2.01 ±0.05 fgh	2.05 ±0.006 gh

TBARS es la media ± la desviación estándar (n = 3). Valores con letras diferentes tienen diferencia significativa (p<0.05)

Entre la emulsión y el polvo no existieron diferencias significativas para este indicador en los 140 y 150 días. Fomuso y col. (2002) evaluaron el proceso de oxidación de los lípidos utilizando el valor de peróxido y las TBARS, en emulsiones del tipo aceite-agua con diferentes tipos y concentraciones de emulsificantes, observando una incidencia del tipo de emulsificante sobre los valores de peróxido, aunque en todos los casos, existió una

tendencia al aumento con el tiempo. Por otro lado, los valores de TBARS se vieron influenciados tanto por el tipo como por la concentración del agente emulsificante, mostrando altas y bajas en sus valores. Un comportamiento similar se apreció para este indicador durante el estudio de almacenamiento de la emulsión y del polvo donde este parámetro presentó variaciones en función del tipo de producto evaluado.

Los compuestos resultantes de la oxidación secundaria de los lípidos entre los que se encuentran los aldehídos, originan en los productos alimenticios olores y sabores conocidos comúnmente como alimentos rancios. Trabajos como los de Hoyland y Taylor (1991) y el de Raharjo y col. (1993) indican alguna correlación entre TBARS y las evaluaciones sensoriales, pero otros autores no encontraron correlación (Vasiliki, 2002).

7.7 Bebidas lácteas nutricionalmente mejoradas.

Los resultados del ordenamiento, según preferencia, emitido por los catadores a las variantes de yogurt ensayadas, aparecen en la Figura 12, donde el menor valor corresponde con la mayor aceptación y el mayor valor con la menos aceptada.

Al aplicar la prueba de Friedman se obtuvo un valor de $F = 15.8$, superior al estadígrafo de la Tabla para 9 catadores y 4 muestras (7.81), lo que indica que existe diferencia significativa con un 5% de riesgo de error entre las dosis. Para conocer si dos variantes son diferentes significativamente, se compararon las diferencias absolutas entre las sumas de los rangos, con el resultado de la siguiente fórmula para un 5% de riesgo de error.

$$| R_i - R_j | > 1.960 \sqrt{\frac{JP(P+1)}{6}} \quad (5 \% \text{ de error})$$

(R: suma de rangos, J: número de jueces, P: número de muestras. Diferencias mayores que 10.73 indican que las muestras son significativamente diferentes). No existió diferencia entre las variantes 1, 2 y 3, aunque se seleccionó la variante 2 con 7 % de AHTM como la más aceptada.

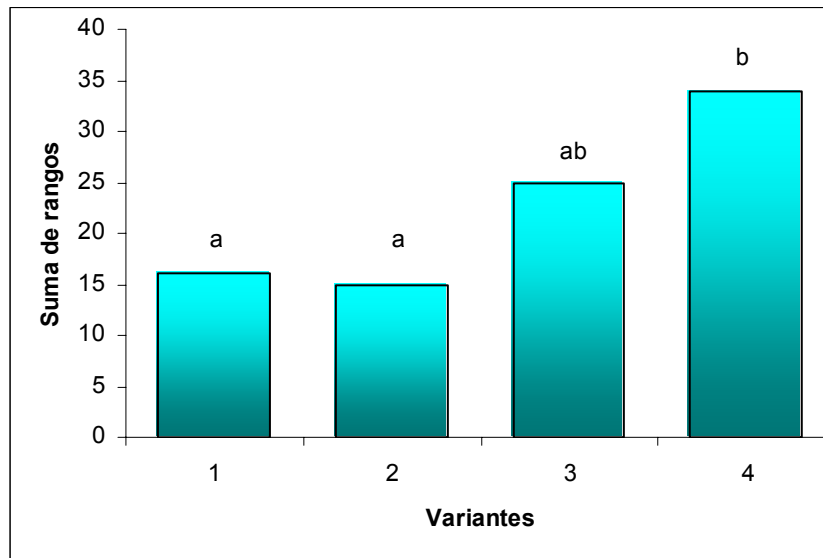


Figura 12. Resultados de la prueba de ordenamiento del yogurt mejorado nutricionalmente con AHTM. Letras diferentes indican diferencias significativas.

La prueba afectiva aplicada ubicó el producto desarrollado en la categoría de “me gusta un poco” correspondiéndose con un valor de 6 puntos. Las 3 variantes de la bebida láctea elaborada (V1-25, V2-27 y V3-29 % de adición de AHTM) fueron evaluadas sensorialmente siguiendo el mismo procedimiento descrito para el yogurt, las mismas fueron diferentes significativamente para un 5 % de error (Fig. 13). La variante con 27 % de inclusión de AHTM fue la más aceptada por los catadores.

La prueba afectiva aplicada ubicó el producto desarrollado en la categoría de “me gusta mucho” correspondiéndose con un valor de 8.1 puntos.

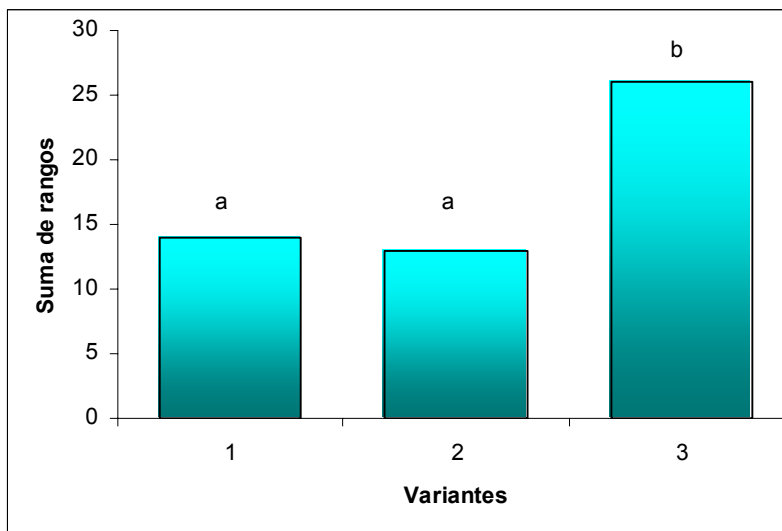


Figura 13. Resultados prueba de ordenamiento de la bebida láctea instantánea. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Simopoulos (2000) plantea como requerimiento diario de un adulto 0.22g de EPA y 0.22 g de DHA por día en una dieta de 2000 kcal. Los productos desarrollados aportan entre 4-12 % del requerimiento diario de EPA y entre 15-51 % del requerimiento de DHA (Tabla XXIV).

Tabla XXIV. Aporte de ácidos grasos EPA y DHA de los productos desarrollados

Producto	EPA (20:5) (mg)	Aporte (%)	DHA (22:6) (mg)	Aporte (%)
Aceite (cucharada)	26	12	96	44
Emulsión (cucharada)	9.2	4	33.6	15
Yogurt (200mL)	29.4	13	113	51
Bebida Láctea (100 g)	14.1	6.4	54.6	25

7.8 Ensayo Clínico

7.8.1 Hipertensión arterial

Los medicamentos convencionalmente usados en el tratamiento de la hipertensión producen efectos secundarios indeseados, por lo que se han realizado estudios dirigidos al desarrollo de suplementos con productos naturales que reduzcan la presión arterial. Diferentes autores (Kris-Etherton, 2003; Nasiff-Hadad, 2003), han ensayado suplementar las dietas de pacientes hipertensos con cantidades entre 2-5 g de aceite de pescado, logrando reducciones tanto en la presión sistólica (alta) como en la diastólica (baja). En este estudio el suministro de 15 mL de emulsión (4 g de aceite) de aceite de hígado de tiburón permitió la total sustitución de tratamiento con hipotensores en el 61 % de los pacientes y una reducción de hasta el 50 % de la dosis del medicamento en el resto de los participantes en el ensayo. Como resultado la presión sistólica promedio disminuyó significativamente ($t=2.74$, $p<0.05$) de 130 a 117 mm Hg y la diastólica de 85 a 75 mm Hg ($t=3.24$, $p<0.01$) (Figura 14). En el grupo placebo la presión sistólica promedio estuvo entre 134- 129 y la diastólica entre 85-79, con estos pacientes no fue posible interrumpir el

tratamiento con medicamentos hipotensores y solo se pudo disminuir en un 5 % de ellos.

Las variaciones logradas con la dosis ensayada fueron superiores a las reportadas por Appel y col. (1993) y Morris y col. (1993) con cantidades de hasta 7 g de aceite, lo cual puede estar dado por la composición de los ácidos grasos en los aceites usados, ya que se conoce que son los ácidos grasos los que incrementan la producción de vasodilatadores y antiagregantes (Singh, 2001).

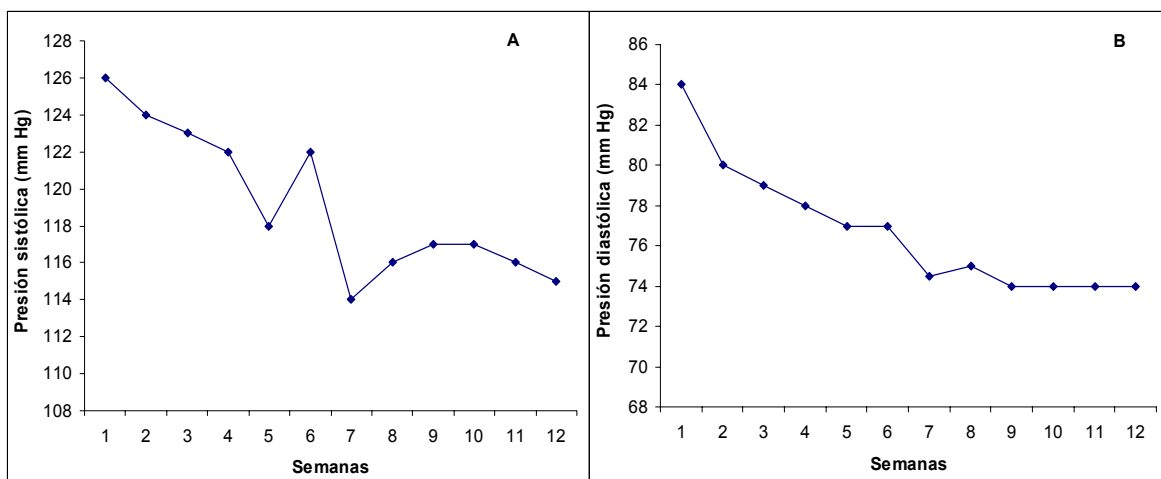


Figura 14. Comportamiento de la presión arterial en pacientes que consumieron la emulsión saborizada.

7.8.2 Hipertrigliceridemia

En el control de los triglicéridos a pesar de observarse una disminución después del consumo de la emulsión no existió diferencia significativa en la concentración al inicio y final del estudio (inicio 2.1 ± 1.16 mmol/L, final 1.52 ± 0.82). Esta demostrado por muchos autores (Kestin, 1990; Torres, 2000; Connor, 2000; Carrero, 2005) el efecto positivo de la ingesta de alimentos ricos en ácidos grasos polinsaturados en la reducción de los

triglicéridos en sangre; sin embargo, Nasiff- Hadad (2003) plantea que el descenso de la hipertrigliceridemia será mayor cuanto mayor sea el nivel basal de triglicéridos, tanto cuando se suministran dosis bajas de ácidos grasos durante largo tiempo como cuando se ofrece una dosis única muy alta. Ambas situaciones pudieron estar incidiendo en los resultados de este trabajo ya que los niveles iniciales de triglicéridos como promedio no fueron muy elevados y la cantidad de 4g de aceite que aportan 15 mL de emulsión pudiera no ser suficiente, teniendo en cuenta que Harris y col. (1997) y Grimsgaard y col. (1997) lograron disminuir los triglicéridos con dosis de 5 g de EPA y DHA.

7.8.3 Fenilcetonuria

Al inicio del estudio todos los pacientes presentaron alteraciones en uno o varios de los lípidos plasmáticos (colesterol total, HDL y LDL), encontrándose valores de colesterol y HDL por debajo de los normales (5.72 mmol/L y 0.9-1.2 mmol/L). en el caso de LDL los niveles presentaron grandes fluctuaciones abarcando desde 0.5 a 3.18 mmol/L.

En la Tabla XXV se muestran las medias y la desviación estándar de los indicadores evaluados antes y después de la suplementación de la dieta con la emulsión. El resultado de la prueba t Student aplicada para conocer si había variación de los indicadores evaluados por el efecto de la ingestión de la emulsión mostró que existía diferencia significativa en los niveles en sangre de los lípidos plasmáticos analizados (colesterol $t = 8.34$, HDL, $t = 3.25$ y LDL $t = 9.69$) para un nivel de significación $p < 0.01$. Después de 180 días de suplementación de la dieta con la emulsión, el HDL aumentó en un 33%. Carrero y col. (2005) plantean que los ácidos grasos de pescado suelen producir un aumento en el colesterol DHL de un 10%, aunque depende del alimento y de las cantidades de n-3

ingeridas, lo que justifica los resultados alcanzados teniendo en cuenta la concentración de aceite suministrada en la emulsión. En cuanto LDL colesterol su concentración en el plasma esta determinada por los eventos metabólicos que ocurren en el hígado y que a su vez están influenciados por la dieta (Dietschy, 1997). Este indicador disminuye durante la suplementación, causando un efecto positivo ya que estas lipoproteínas conocidas como colesterol malo constituyen un factor de riesgo en enfermedades cardiovasculares (Finnegan y col., 2003)

Tabla XXV. Lípidos plasmáticos antes y después de la suplementación con emulsión.

Lípido o lipoproteína	1 día	180 días
Colesterol (mmol/L)	3.17± 0.69	4.5 ± 0.28
HDL (mmol/L)	0.9 ± 0.5	1.2 ± 0.2
LDL (mmol/L)	1.6 ± 0.8	0.31 ±0.03

Lípidos plasmáticos, se presentan las medias ± desviación estándar (n=25)

7.9. Costos de operaciones y rentabilidad de las producciones de aceite de hígado de tiburón, emulsión y microencapsulado.

La utilización de hígados de tiburones para la producción de aceites permite su aprovechamiento como fuente de ácidos grasos, habiendo demostrado ventajas nutricionales para los productos que lo incluyen en su formulación.

La ubicación de las plantas seleccionadas para las producciones propuestas en el centro de la isla y cercana a un puerto pesquero, además de permitir el uso de un equipamiento no utilizado, favorece la disponibilidad continua de materia prima; considerando para una máxima producción que el 100 % de los hígados de los tiburones capturados sean enviados a dichas plantas. En la evaluación de los costos de producción,

los principales rubros son materias primas y materiales, mano de obra y servicios (Tablas XXVI, XXVII y XXVIII). El hígado en el aceite y el aceite en la emulsión, representan el 33 y 41 % del costo total de operación, mientras en el microencapsulado, el aceite como materia prima fundamental representa el 29 %.

Tabla XXVI. Costos de operación para la producción de 1 t y 50.4 t de aceite de hígado de tiburón.

Categorías	Costo/ton (USD)	Costo total (USD)
Mat Primas y Materiales	1034.54	52140.72
hígado	900.00	45360.00
antioxidante	39.30	1980.72
envases metálicos	95.24	4800.00
Salarios	556.39	28041.98
Mantenimiento	62.20	3134.80
Servicios Públicos	477.56	24069.00
Vapor	138.89	7000.00
Electricidad	223.43	11261.00
Agua	115.24	5808.00
Suministros de Operación	9.33	470.22
Total Costos directos	2140.01	107856.72
Depreciación	155.50	7837.00
Gastos de administración	68.48	3451.41
Costos de venta y distribución	12.84	647.14
Total de costos indirectos	236.82	11935.56
TOTAL COSTOS DE OPERACIÓN	2376.83	119792.27

Estos valores se encuentran entre los reportados por Parin y col. (1990) como porcentajes típicos de materias primas respecto al costo total de producción, los cuales oscilan, entre 20-80 % para plantas procesadoras de productos pesqueros de países como Argentina, Uruguay, Brasil, Noruega, entre otros.

El componente mano de obra en el proceso de aceite representa el 23 % del costo total lo cual según Zugarramurdi y col. (1981b) es característico de procesos con gran manipulación, para los procesos de emulsionado y microencapsulación la mano de obra

representa el 5.2 y 12 % respectivamente, lo que se corresponde con procesos muy mecanizados (Parin y col., 1994).

Los servicios públicos en el proceso de obtención de aceite representan el 20 % del costo total de la producción lo cual resulta superior a lo reportado para plantas pesqueras por Parin y col. (1990), esto se explica por el alto consumo de vapor y electricidad que requiere este proceso. Por otro lado, este rubro en los procesos de emulsión y microencapsulación representa menos del 10 %.

Tabla XXVII Costos de operación para la producción de 1t y 168 t de emulsión.

Categorías	Costo/t (USD)	Costo total (USD)
Mat Primas y Materiales	1966.63	330394.24
Aceite de hígado de tiburón	900.00	151200.00
Insumos	626.63	105274.24
Envases, etiquetas y pegamento	440.00	73920.00
Salarios	115.74	19444.58
Combustible	2.37	398.16
Mantenimiento	0.60	100.00
Servicios Públicos	9.61	1615.19
Electricidad	9.02	1515.19
Agua	0.60	100.00
Suministros de Operación	0.09	15.00
Total Costos directos	2095.04	351967.17
Depreciación	14.88	2500.00
Gastos de administración	67.04	11262.95
Costos de venta y distribución	12.57	2111.80
Total de costos indirectos	94.49	15874.75
TOTAL COSTOS DE OPERACIÓN	2189.54	367841.93

Los costos indirectos estimados para los tres procesos representan entre el 4 y el 5 % de los costos directos los cuales se encuentran dentro de los valores encontrados para plantas procesadoras de productos pesqueros en Argentina y Estados Unidos (Parin, 1994).

El costo total de operación estimado para la producción de una tonelada de aceite microencapsulado es superior en 392.9 USD al costo de producción de la emulsión, esta diferencia se debe a los salarios ya que el equipamiento es más complejo y requiere de

técnicos especializados, así como un mayor consumo de agua y electricidad.

Tabla XXVIII. Costos de operación para 1 t y 68.7 t de aceite microencapsulado.

Categorías	Costo/t (USD)	Costo total (USD)
Mat Primas y Materiales	2026.33	139209.00
Aceite de tiburón	750.00	51525.00
Maltodextrina	140.86	9676.80
Goma arábica	548.75	37699.20
Gelatina	146.72	10080.00
Envases,etiquetas y pegamento	440.00	30228.00
Salarios	335.67	23060.31
Combustible	1.74	119.45
Mantenimiento	1.63	112.00
Servicios Públicos	83.02	5703.36
Electricidad	75.33	5175.36
Agua	7.69	528.00
Suministros de operaciones	0.24	16.80
Total de costos directos	2448.63	168220.91
Depreciación	40.76	2800.00
Gastos de administración	78.36	5383.07
Costos de venta y distribución	14.69	1009.33
Total de costos indirectos	133.80	9192.39
TOTAL COSTOS DE OPERACIÓN	2582.44	177413.31

Los suplementos nutricionales a desarrollar serán destinados al consumo nacional, dirigiéndose fundamentalmente, a personas con regímenes especiales de alimentación, por lo que los precios tomados (aceite 3.0 USD/kg, emulsión 3.5 USD/kg y microencapsulado 4.0 USD/kg) para esta evaluación comparados con los precios internacionales (3.5-4.5 USD/kg aceite crudo, IFFO, 2002; 27 USD/kg emulsión de aceite de tiburón marca Naturista,

<http://www.elangeldetusalud.com.mx/Sitio%20Web/Sistema%20Respiratorio4.html>) de productos semejantes resultan muy inferiores, ya que se pretende que los productos puedan estar al alcance de esta población; sin embargo, los indicadores económicos evaluados

(Tablas XXIX, XXX y XXXI) muestran que los procesos de obtención de aceite a partir de hígados de tiburones y su empleo en la elaboración de emulsiones o microencapsulado son viables.

Tabla XXIX Indicadores económicos de la producción de 1t y 50.4t de aceite de hígado de tiburón.

Indicadores	USD/ton	USD
Ventas	3000.00	151200.00
Costo de operación	2376.83	119792.27
Utilidad en operaciones	623.17	31407.73
Depreciación	155.50	7837.00
Utilidad imponible	467.67	23570.73
Impuesto(35%)	163.69	8249.76
Utilidad neta	303.99	15320.97

Tabla XXX. Indicadores económicos para la producción de 1 t y 168 t de emulsión

Indicadores	USD/ton	USD
Ventas	2940.00	588000.00
Costo de operación	1839.21	367841.93
Utilidad en operaciones	1100.79	220158.07
Depreciación	12.50	2500.00
Utilidad imponible	1088.29	217658.07
Impuesto (35%)	380.90	76180.33
Utilidad neta	707.39	141477.75

Tabla XXXI. Indicadores económicos para la producción de 1 t y 68.7 t de aceite microencapsulado.

Indicadores	USD/ton	USD
Ventas	3367.65	274800.00
Costo de operación	2174.18	177413.31
Utilidad en operaciones	1193.46	97386.69
Depreciación	34.31	2800.00
Utilidad imponible	1159.15	94586.69
Impuesto(35%)	405.70	33105.34
Utilidad neta	753.45	61481.35

En general son procesos sencillos que requieren de bajos costos de producción. Las utilidades netas generadas por la comercialización del aceite, la emulsión y el polvo serían de 10, 24.0 y 22.3 % de las ventas para cada producto.

Los benéficos resultados obtenidos para la salud al consumir la emulsión saborizada, la aceptación por parte de los consumidores de las bebidas lácteas enriquecidas así como los beneficios económicos evaluados, hacen factible las producciones del aceite, emulsión y aceite microencapsulado.

8. CONCLUSIONES

- Una temperatura de 70 °C durante 10 minutos garantiza la extracción de un aceite a partir de hígados de tiburones frescos con parámetros de calidad dentro de los establecidos para aceites comestibles.
- El aceite obtenido constituye una fuente natural de triglicéridos y ácidos grasos polinsaturados por lo que puede ser usado en la elaboración de suplementos nutricionales
- Los parámetros tecnológicos definidos para la obtención de una emulsión de aceite de hígado de tiburón (temperatura de calentamiento 90-95 °C, condiciones de homogeneización 4463 g por 30 min,) garantizan una buena estabilidad.
- Los sabores utilizados para saborizar las emulsiones son adecuados, ya que las mismas fueron aceptadas por los catadores y evaluadas de buenas.
- La matriz de secado preparada con una mezcla de 30 % maltodextrina, 8 % goma arábica, 2 % gelatina base y 29.5 % de aceite, garantiza una eficiencia de encapsulación de aceite de 98%.
- Los parámetros tecnológicos y los materiales encapsulantes definidos para elaborar la emulsión y el aceite microencapsulado limitan los procesos de oxidación y garantizan un tiempo de vida útil de 150 días.

- Las TBARS no resultaron un indicador de los procesos oxidativos secundarios en los productos desarrollados.
- Los tratamientos tecnológicos aplicados no afectan el perfil de ácidos grasos de los productos finales con respecto al del aceite usado como materia prima.
- El aceite microencapsulado puede ser usado en concentraciones entre 7 y hasta 27 % de inclusión en el desarrollo de bebidas lácteas, mejorando su valor nutricional.
- El aporte de EPA y DHA de los productos desarrollados permiten catalogarlos como suplementos nutricionales.
- El consumo de 15 mL de emulsión por día permitió prescindir de medicamentos hipotensores a pacientes con hipertensión arterial.
- Las dosis de emulsión suministradas a pacientes hipertriglicéidicos no logró disminuir significativamente los triglicéridos durante las 12 semanas que duró el estudio.
- La suplementación de la dieta con 15 mL de la emulsión de aceite de hígado de tiburón a niños fenilcetonúricos incidió positivamente en la regulación de los niveles de colesterol y lipoproteínas (HDL y LDL) en sangre.

- La producción de aceite a partir de hígados de tiburones en Cuba es factible a partir del uso de instalaciones existentes, pudiendo generar utilidades de hasta el 15 % de las ventas.
- La producción de emulsiones saborizadas y aceite microencapsulado en Cuba es factible a partir del uso de instalaciones existentes, pudiendo generar utilidades de hasta 24 y 27 % respectivamente.

9. REFERENCIAS

- Ackman, R. G., (1990). Seafood lipids and fatty acids. *Food Rev. Int*, 6(4):617-646.
- Ackman, R.G. (1980). Fish lipids. Part 1. In J. J. Connell (ed.) *Advances in fish science and technology*, Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey, pp 86-103.
- Ackman, R.G., Heras, H. (1997). Recent applications of Gas Chromatography-Mass Spectrometry methodology. In McDonal, R. E., Mossoba, M.M. (Eds.), *New Technology and Applications in Lipids Analysis*. AOAC Press, Champaign, IL, pp325-340.
- Ackman, R.G., Ratnayake, W.M. (1992). Non-enzymatic oxidation of seafood lipids. In *Advances in seafood biochemistry*. Ed. Flick, G. J. y Martin, R. E. Technomic Publishing Co., INC Pennsylvania, EU pp.400.
- Aidos, I. (2002). Production of high-quality fish oil from herring byproducts. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- Aidos, I., Van der Padt, A., Boom, R. M., Luten, J.B. (2001). Upgrading of maatjes herring byproducts: production of crude fish oil. *J. Agric. Food Chem.*, (49):3697-3704.
- Allain, P.P., Poon, L.S., Chan, S. (1974). Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, (20):470-475.
- Alvidrez-Morales, A., González-Martínez, B.E., Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos Funcionales. *Rev. Salud y Nutrición*, vol 3 (3):46-54.
- American Public Health Association, (2001) *Compendium of methods for the microbiological Examination of Foods*. 4 ed. APHA, Washington, DC.
- American Society for Testing Materials, (A.S.T.M.) D1439 – 03 (2005). *F.E.U.M 8th Ed.*, 2005.
- Andersen, S. (1995). Microencapsulated omega-3 fatty acids from marine sources. *Lipids Technology* (7):81-85.
- Ando, S., Hatano, M., Zama, K. (1982). A consumption of muscle lipid during spawning migration of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, (51):1817-1824.
- Appel, L.J., Milke, E.R., Seidler, A.J. (1993). Does supplementation of diet with “fish oil” reduce blood pressure? A meta analysis of controlled clinical trials. *Arch Intern Med*, (153):1429-1438.
- Arbuckle, W.S. (1986). Emulsification. In: *Encyclopedia of Food Engineering*, ed. C.W. Hall.

- 286-288. Westport, Conn: AVI Publishing.
- Assmann, G., Sabs, H.V., Khonert, U. (1983). LDL-Cholesterol determination in blood serum following precipitation of LDL with polyvinyl sulfate. *Clin. Chem.*, (140):77-83.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), (1990). *Official Methods of Analysis*, 15th. Ed. Washington, DC. Allen, ON.
- Bakes, M.J., Nichols, P.D. (1996). Lipid, fatty acid and squalene composition of liver oil from six species of deep-sea shark collected in southern Australian waters. *Comp. Biochem. Physiol.* (110B):267-275.
- Balassa, L., Brody, J. (1968). Microencapsulation. *Food Engineering*, pp 88-91.
- Banks, A., (1967). Deteriorative changes in fish oils. In: *Fish,oil,their Chemistry, Technology, Stability, Nutritional Properties and Uses*. The Avi. Publishing Co.,Inc. pp 440.
- Barrios -García, B. (1989). Programa de prevención de Fenilcetonuria: Papel del pediatra. *Rev. Cub. Ped.*, vol.61(1):146-47.
- Becker, P. (1972). Emulsiones. *Teoría y Práctica* .pp 10-58.
- Beristain, C.I.; Azuara, E., Tamayo, T.T., Vernon-Carter, E.J. (2003). Effect of caking and stickiness on the retention of spray-dried encapsulated orange peel oil. *J. Sci. Food Agric.* vol 83, (4):1613-1616.
- Bigger, J., (2001). Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular events: a fish tale. *Circulation*, (103):623 -625.
- Bimbo, A.P. (1998). Guidelines for characterizing food grade fish oil. *Int. News Fats, Oil Relat. Mater*, (9):473-483.
- Birch, D.G., Birch, E.E., Hoffman, D.R., Uauy, R.D. (1992). Retinal development in very-low-birth-weight infants fed diets differing in omega-3 fatty acids. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 33(8):2365-2376.
- Brazel, C.S. (1999). Microencapsulation. Offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World*, vol. 44(6):388–393.
- Brockerhoof, H., Ackman, R.G., Holey, R.J. (1963). Specific distribution of fatty acids in marine lipids. *Arch. Biochem. Biophys.*, (100):9-12.
- Buccolo, G., David, H. (1973). Quantitative determination of serum tryglicerides by the use of enzymes. *Clin. Chem.*, (19):475-482.
- Buranudeen, F., Rajadurai, R. (1986). Squalene. *INFOFISH. Maketing Digest*, (1):42-43.

- Calder, P.C. (2003). New evidence in support of the cardiovascular benefit of long-chain n-3 fatty acids. *Italian Heart Journal*, (4):427-429.
- Carlson, S.E., Werkman, S.H., Peeples, J.M., Wilson, W.M. (1994). Growth and development of premature infants in relation to n-3 and n-6 fatty acid status. In: *Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. Proceedings of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids*, Basel, Switzerland, S. Karger. In press
- Carrero J.J., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J.J., López-Huertas, E. (2005). Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Rev. Nutrición Hospitalaria*, (XX):63-69.
- Carrero, J.J., Baró, L, Fonollá, J., González-Santiago, M., Martínez-Férez, A., Castillo, R., Jiménez, J., Boza, J.J., López-Huertas E. (2004). Cardiovascular effects of milk enriched with n-3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid folic acid and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidaemia. *Nutrition* 20(6):521-527.
- Chapman, D. (1990). *Introduction to lipids*. 2nd Ed McGraw Hill Publishing. New York
- Chi-Cheng, L., Shan-Yang, L., Hwang, L.S. (1995). Microencapsulation of squid oil with hydrophilic macromolecules for oxidative and thermal stabilization. *J. Food Sci.* vol. 60 (1):36-39.
- Compagno, L.J. (1984). *Sharks of the world*. FAO Species Catalogue, vol. 4, Part 1, Roma.
- Connor, E.W. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, (7):171-175.
- Connor, W.E. (1990). *Grasas y aceites en la alimentación humana*. Consulta FAO. OMS de expertos. *Alimentación y Nutrición* 57.
- Contreras, M.A., Stanley, I.R. (2002). Recent studies on interactions between n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in brain and other tissues. *Current Opinion in Lipidology*, (13):267-272.
- Crawford, M.A., Doyle, W., Drury, P.J., Lennon, A., Costeloe, K., Leighfield, M. (1989). n-6 and n-3 fatty acids during early human development. *J. Internal Medicine*, vol 225(1):159-169.
- De Caterina, R. (2003). Antiarrhythmic effects of omega-3 fatty acids: from epidemiology to bedside. *Am. Heart Journal*, (146):420-30.
- Deasy, P. (1983). *Microencapsulation and related drug process*. pp 21-59. Marcel Dekker Inc.

N. Y.

- Decker, E.A., Chan, W.K., Faustman, C. (1998). TBA as an index of oxidative rancidity in muscle foods. Proc. 51st Ann Recip Meat Conf p 66, American Meat Science Assoc., Kansas City.
- Dietschy J. M. (1997). Theoretical considerations of what regulates low-density-lipoprotein and high-density-lipoprotein cholesterol. Am. J. Clin. Nutr., 65: 1581S-1589S.
- Espinosa, L. (1983). Los tiburones. Ed. Científico Técnica, Ministerio de Cultura, (Part II):S34-S46.
- Espinosa, L. (1987). Registro de *Somniosus rostratus*, Risso 1826 (*Elasmobranchii: Squalidae*) en aguas cubanas. Memorias. 1^{er} Congreso de Ciencias del Mar, Palacio de las Convenciones, Cuba.
- Espinosa, L. (1994). Aspectos biológico-pesqueros de los tiburones en aguas cubanas. Memorias 3^{er} Congreso Ciencias del Mar, C, Habana, Cuba.
- Espinosa, L. (1997). Estado de explotación y perspectivas del recurso tiburón en Cuba. 1^a Reunión Nacional de Biodiversidad Marina, Inst. Oceanología, 26-27 Nov, C Habana.
- Espinosa-Herrera, N., Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E.J. (2002). Composite wall microencapsulate diets for marine shrimp larvae. In World Aquaculture, Book of Abstracts.pp591, Beijing, China.
- FAO/OMS, (1994). Fats and Oils in Human Nutrition. Report of a Joint Expert Consultation FAO Food and Nutrition Paper N° 57.
- FAOSTAT (2005). <http://faostat.fao.org/faostat/>.
- Finnegan, Y., Minihane, E.A., Leigh-Firbank, E.C., Kew, S., Meijer, W. (2003). Plant- and marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids have differential effects on fasting and postprandial blood lipid concentrations and on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hyperlipidemic subjects. Am. J. Clin. Nutr. vol. 77 (4):783-795.
- Fomuso, L. B., Corredig, M., Akoh C.C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. J. Agric. Food Chem. (50):2957-2961.
- Frankel, E.N., Satué-García, T., Meyer, A.S., German, J.B. (2002). Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. J. Agric. Food chem., (50):2094-2099.
- Gascon, A.D., Zuritz, C.A., Bustamante, J.A, Borbon, L., Obert, G. (1999). A study of different

formulations of wall support systems for microencapsulation of antioxidant essential oils. II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 4: Industrial Processing, Standards & Regulations, Quality, Marketing, Economics.

Gibbs, B.F., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C.N.(1999). Encapsulation in the food industry: A review. *Internacional J. Food Science and Nutrition* 50 (3):213–224.

Grave, R.E. (1972). Uses for microencapsulation in food additives. *Cereal Sci. Today.* (7):107-109.

Gray, J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (55):539-546.

Grimsgaard, S., Bonaa, K.H., Hansen J.B. (1997). Highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in humans have similar triacylglycerol-lowering effects but divergent effects on serum fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, (66):649-659.

Guillén, M.D., Ruiz, A., Cabo, N. (2004). Study of the oxidative degradation of farmed salmon lipids by means of Fourier transform infrared spectroscopy. Influence of salting. *J. Sci. Food Agric.*, vol. 84 (12):1528-1534.

Guitart, D. (1975). Las pesquerías pelágico-oceánicas de corto radio de acción en la región noroccidental de Cuba. *Serie Oceanológica* (31):1-26.

Gutiérrez, S., García, E., Núñez de Villavicencio, M., De Hombre, R., Abreu, J., Fung, V., Fernández, N., Córdova, A., Sedre, J. M. (2001). Desarrollo de una emulsión saborizada para regimenes especiales de alimentación. *Alimentaria.* (322):55-58.

Haag, M., (2003). Essential fatty acids the brain. *Can. J. Psychiatry*, vol.48 (3):195-203.

Hardy, R., Mackie, P. (1969). Seasonal variation in some of the lipid components of sprats (*Sprattus sprattus*). *J. Sci. Food Agrc.*, (20):193-198.

Harris, W.S. (1997). Fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, (65):1645S-1654S.

Harris, W.S. (2003). n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids reduce risk of coronary heart disease death: extending the evidence to the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, (77):279-280.

Hazra, A.K., Ghosh, S., Banerjee, S., Mukherejee, B. (1998). Studies on lipid and fatty acid composition of puffer livers from Indian coastal waters with seasonal variation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (75):1673-1678.

Heinzelmann, K., Franke, K., Velasco, J., Márquez- Ruiz, G. (2000). Microencapsulation of fish

- oil by freeze drying techniques and influence of process parameters on oxidative stability during storage. *Eur. Food Research and Technology* 211(4):234-239.
- Herederó, L., Atencio, G., Vega, J.L. (1986). Diagn3stico precoz de la Fenilcetonuria en Cuba. *Rev. Cub. Ped.*, 58(1):27-33.
- Higgins, S., Carroll, Y., O'Brien N. M., Morrissey, P. A. (1999). Use of microencapsulated fish oil as a means of increasing n-3 polyunsaturated fatty acids intake. *J. Human Nutrition and Dietetics* (12):265-271.
- Hiratsuka, S., Kitagawa, T., Matsue, Y., Hashidume, M. (2004). Lipid class and fatty acid composition of phospholipids from the gonads of skipjack. *Tuna. Fisheries Science*, (70):903-909.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M. (2001). Microencapsulating properties of sodium caseinate. *J. Agric. Food Chem.* 49:1943-1938.
- Hogan, S.A., O'Riordan, E.D., O'Sullivan, M. (2003). Microencapsulation and oxidative stability of spray dried fish oil emulsion. *Microencapsulation* vol.20, (5):675:688.
- Holm, T., Andreassen, A.K., Aukrust, P., Andersen, K., Geiran, O.R., Kjekshus, J. (2001). Omega-3 fatty acids improve blood pressure control and preserve renal function in hypertensive heart transplant recipients. *Eur. Heart J.*, 22(5):428-36.
- H3lmer, G. (1989). Triglycerides in Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils. vol. 1. Boca Raton, FL, CRC Press pp139-174.
- Hoyland, D.V., Taylor, A.J. (1991). A Review of the Methodology of the 2-Thiobarbituric Acid Test. *Food Chem.* (40):271-291.
- Hu, F. (2002). Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *J. Am. Medical Association*, (287):1815-1821.
- Huss, H.H., Jorgensen, L.V., Vogel, B.F. (2000). Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal Food Microbiology*, vol. 62(3):267-274.
- IFFO, 2002. Seafood By-products Conference.
- International Standard Organization (ISO) 4121:2003, Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative response scales.
- International Standard Organization (ISO) 8587, First edition, 1988-12-01. Sensory analysis- Metodology -Ranking.
- Jayasinghe, Ch., Gotoh, N., Tokairin, S., Ehara, H., Wada, S. (2003). Inter species changes oil

- lipid compositions in livers of shallow-water shark from the Indian Ocean. *Fisheries Science* (69):644-653.
- Jimenez, M., García, H.S., Beristain, C.I. (2004). Spray drying microencapsulation and oxidative stability of conjugated linoleic acid. *Eur. Food Res. Technol.*, (219):588-592.
- Jiménez, S.Z. (1993). Metodología de la atención de niños con Fenilcetonuria y Enfermedad de la orina con olor a miel de arce (EOMA). *Arch. Lat. Am. Nutr.*, 43(3):204-10.
- Kang, S.J., Timmins, M.C.A., Ackman, R.G. (1998). Similarities in the lipid class profiles of oils from Atlantic and Pacific dogfish livers. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, (75):1667-1672.
- Keogh, M.K., O' Kennedy, B.T., Kelly, J., Auty, M.A., Kelly, P.M., Fureby, A., Haahr, A.M. (2001). Stability to oxidation of spray-dried fish oil powder microencapsulated using milk ingredients. *J. Food Sci.*, vol. 66(2):217-224.
- Kesting, M., Clifton, P., Belling, G.B., Nestel, P.J. (1990). n-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am. J. Clin. Nutr.*, (51):1028-1034.
- Khayat, A., Schwal, D., (1983). Lipid oxidation in seafood. *Food Technol.*, (37):130–140.
- Kiessling, A.T., Asgaard, T., Storebakken, T., Johansson, L., Kiessling, K.H. (1991). Changes in the structure and function of the muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. III .Chemical Composition. *Aquaculture*,93:3739-3787.
- Kim, S.J., Park, G.B., Kang, C.B., Park, S.D. (2000). Improvement of oxidative stability of conjugated linoleic acid by microencapsulation in cyclodextrins. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48(9):3922-3929.
- Kinsella, J.E. (1986). Food components with potential therapeutic benefits. *Food Technol.*, vol 40(2):89-97.
- Kiru, D., Favetti, F.G. (1986). Determinación de actividad de agua. *Lebensm. Wiss. Technol.* (19):290-301.
- Kjerstad, M., Fosse, I., Willemsem, H. M., (2003). Utilization of deep-sea sharks at Hatton Bank in the North Atlantic. *J. Northwest Atlantic Fisheries Science*, (31):333–338.
- Kolanowski, W., Laufenberg, G., Kunz, B. (2004). Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol.55 (4):333-343.
- Kolanowski, W., Swiderski, F., Berger, S (1999) Possibilities of fish oil application for food products enrichment with ω -3 PUFA. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, (50):39-49.

- Kolanowski, W., Swiderski, F., Lis, E., Berger, S. (2001). Enrichment of spreadable fats with polyunsaturated fatty acids omega-3 using fish oil. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 52(6):469-76.
- Kreuzer, R., Ahmed, R. (1999). "Shark utilization and marketing". FAO, Fisheries Technical Paper 389, Rome
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J. (2003). Omega fatty acids and cardiovascular disease. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.*, (23):151-152.
- Laidlaw, M., Holub, B.J. (2003). Effects of supplementation with fish oil derived n-3 acids and α -linolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acids profiles in women. *Am. J. Clin. Nutr.*, (77):37-42.
- Lauritzen, L., Hansen, H.S., Jorgensen, M.H., Michaelsen, K.F., (2001). The essentiality of long – chain omega–3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog. Lip. Res.* (40):1–94.
- Let, M.B., Jacobsen, C., Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2003). Oxidative flavour determination of fish oil enriched milk. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* (105):518-528.
- Liechti, A. (1985). The technology of powdered flavours. *Food Eng. Intern.*, (10):16.
- Love, R.M., (1970). *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press. London.
- Lumdubwong, N., (2001). Low and medium-DE maltodextrins from waxy wheat starch: preparation and properties. *Starch/ Staerke*, vol. 53(12):605-615.
- Mantzioris, E., Cleland, L.G., Gibson, R.A., Neumann, M.A., James M.J. (2000). Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, (72):42-8.
- Martínez, G., Santander-Álvarez, C. (2000). Factibilidad técnica y financiera de explotación del cangrejo dorado (*Chaceon chilensis*) de Juan Fernández. *Inv. Mar Valparaíso*, (28):203-218.
- Matsumara, Y., Satake, C., Egamai, M., Mori, T. (2000). Interaction of gum Arabia, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 64(9):1827-1835.
- Medvedeff, M.G., Vedota, M.C., Lloret, M.A., Espínola y León. H.A. (2000). Bioactividad de la solución saturada de sacarosa sobre *Sporothrix schenckii*. *Rev. Iberoam. Micol.*, (17):146-148.

- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S., Matsuno, R. (2002). Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum Arábica or maltodextrin by spray-drying. *J. Microencapsulation*, vol. 19(2):181-189.
- Montero, D., Robaina, L.E., Socorro, J., Vergara, J.M., Tort, L., Izquierdo, M.S. (2001). Alteration of liver and muscle fatty acid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles held at high stocking density and fed an essential fatty acid deficient diet. *Fish Physiol. Biochem.* (24):63-72.
- Mori, T. (1999). Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, (70):817-25.
- Morris, M.C., Sacks, F., Rosner, B. (1993). Does fish oil lower blood pressure? A meta analysis of controlled trials. *Circulation*, (88):523-533.
- Muika, B., Lendl, B. (2005). Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier
- Nasiff-Hadad, A., Ibarra, E.M. (2003). Ácidos grasos omega-3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. *Rev. Cub. Med.*, vol. 42(2)49-55. Naturista. www.elangeldetusalud.com.mx/Sitio%20Web/Sistema%20Respiratorio4.html
- Navarro G., Mola, L., García, E., Simelane, K., Barrios, E., Lee, M. (1991). Composición lipídica y patrón de ácidos grasos del hígado de elasmobranchios (*Selachioide*). *Rev. Ciencia y Tecnología Pesquera*, (3):18-23.
- Navarro, G. (1998). Obtención de un concentrado de ácidos grasos polinsaturados omega-3 a partir de aceite de hígado de tiburón. Tesis de Maestría, Universidad de la Habana. Cuba.
- Navarro-García, G., Pacheco-Aguilar, R., Bringas-Albarado, L., Ortega-García, J. (2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the livers of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. *Food Chem.*, (87):89-96.
- Navarro-García, G., Pacheco-Aguilar, R., Vallejo-Córdova, B., Ramírez-Suárez, J.C., Bolaños, A. (2000). Lipid composition of liver oil of shark species from the Caribbean and Gulf of California waters. *J. Food Comp. Anal.* (13):791-798.
- Nawar, W.W. (1996). Lipids. In *Food Chemistry*. 3rd Ed. pp. 226-255. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Nelson, J.K., Moxnes, K.E., Lenson, M.D., Gastineall, C.E. (1997). *Dietética y Nutrición: Manual de la clínica Mayo*. 7ed. Madrid: Harcourt Brace.

- Nestel, P., Sigue, H., Pomeroy, S., Cehum, M., Abbey, M., Raderstorff, D. (2002). The fatty acids eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, (76):326–330.
- Nettleton, J.A. (1995). *Omega-3 Fatty Acids and Health*. Chapman and Hall, pp 359, New York..
- Nichols, P.D., Bakes, M.J., Elliott, N.G. (2001). Oil rich in docosahexaenoic acid in livers of shark from temperate Australian waters. *J. Marine and Freshwater Research*, (49):763-767.
- Okkerman H.W. and C.L Hansen. 2000b. Seafood by-products. Cap 11. In: *Animal By-*
- Ollis, T.E., Meyer, B.J., Howe, P.C.R. (1999). Australian food sources and intakes of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Annals of Nutrition and Metabolism*, (43):346-355.
- Oomen, C.M., (2000). Fish consumption and coronary heart disease mortality in Finland, Italy and the Netherlands. *Am. J. of Epidemiology*, (151):999-1006.
- Osborn, H.T., Akoh, C.C. (2004). Effect of emulsifier type droplet size, and oil concentration on lipid oxidation in structured lipid-based oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, (84):451-456.
- Pacheco, M. T., Barrera, D. A., (1994). Fraccionamiento del aceite de hígado de tiburón azul (*Prionace glauca*) y su estabilización con antioxidante. *Rev. Grasas y Aceites* vol. 45 (3):155-160.
- Palacios, E., Bonilla, A., Luna, D., Racotta, I.S. (2004). Survival Na^+/K^+ -ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed and starved white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarve. *Aquaculture*, (234):497-511.
- Parin, M.A., Gadaleta, L., Zugarramurdi, A. (1990). Análisis Económico de una planta de congelado de pescado. Congreso Latinoamericano Frío. Buenos Aires, Argentina.
- Parin, M.A., Zugarramurdi A., (1994). Investment and production costs analysis in food processing plants. *Int. J. Prod. Econ.*, (34):83-89.
- Pawlosky, R.J., Hibbeln, J.R., Lin, Y., Goodson, S., Riggs, P., Sebring, N., Brown, G., Salem, J.N., (2003). Effect of beef and fish based diets on the kinetics of n-3 fatty acid metabolism in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, (77):565-72.
- Pedroza-Islas, R. (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícola. En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N.

(Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, Quintana Roo, México.

- Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E.J., Durán Domínguez, C., Trejo, S. (1999). Using biopolimer blends for shrimp feedstuff microencapsulation. *Food Res. Int.*, (32):367-374.
- Penny, M., Etherton, K., Harris, W. S., Lawrence, J., Appel, M.D. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, (106):2747-2757.
- Penny, M., Etherton, K., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R. L., Moriarty, K., Fishell, V., Etherton, Terry, D. (1999). High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 70(6):1009-1015.
- Planas, M., Fernández-Reiriz, M., Ferreiro, M. J. (1990). Effect of selected variables on the preparation of gelatin-acacia microcapsules for the aquaculture. *Acuacultural Engineering*, (9):229-341.
- Popplewell, L.M. (2001). Evaluating encapsulation economics. *Perfumer & Flavorist*, vol. 26(2):2-6.
- Porrata, C. (1997). Recomendaciones nutricionales y guías alimentarias para la población cubana. La Habana (ed) Pueblo y Educación.
- Preston, H.D. (1978) Clouding agents and heading liquor, in *Developments in Soft Drink Technology*, vol.1 (L.F. Green, ed.) Applied Science, pp 87-88.
Product and Utilization. CRC Press, London. Pp.393-438
- Raharjo, S., Sofos, J.N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Sci.*, (35):145-149.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology* (16):1195–1236.
- Redziniak, G., Perrier, P., (1996). Cosmetic Applications of lipids. En *microencapsulation* (ed. S Benita) pp 577-587, Marcel Dekker Inc. N. Y. EUA.
- Reineccius, G. (1994). *Source Book of Flavours*. 2nd. ed. Chapman & Hall. New York.
- Reineccius, G.A. (1991). Role of carbohydrates in the encapsulation of flavors. *Food Technol.*, 45 (3):144-149.
- Riscardo, M.A. (2003). Influence of Composition of Emulsifier Blends on the Rheological Properties of Salad Dressing-Type Emulsions. *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 9(1) 53-63
- Risch, S.J., Reineccius, G.A. (1988). Spray dried orange oil. Effect of emulsion size on flavor retention and shelf life. In: Risch, S.J., Reineccius G.A., editors. *Flavors encapsulation*.

Washington DC; Am. Chem. Soc. pp 67-77.

- Roberfroid, M.B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.*; (71):1660-1664.
- Robins, M., (2000). Emulsiones lipídicas. *Rev. Aceites y Grasas*, vol.51 (1-2):26-34.
- Rossell, J.B. (1989). Measurement of rancidity. In *Rancidity in Foods*, Allen, JC, and Hamilton, RC (eds) pp23-30 Elsevier Science Publishers LTD
- Saglik, S., Imre, S. (2001). ω 3 Fatty Acids in Some Fish Species from Turkey. *J. Food Sci.*, vol 66(2):210-212.
- Saify, Z.S., Akhtar, S. (2003). A study on the fatty acid composition of fish liver oil from two marine fish, *Eusphyra blochii* and *Carcharhinus bleekeri*. *Turk. J. Chem.* (27):251-258
- Sánchez, M. (1999). Elaboración de aromas microencapsulados. Informe técnico 27. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Ciudad de la Habana, Cuba.
- Sánchez, M.C., Borjano, M., Guerrero, A., Gallegos, C. (2000). Evolución de las propiedades geológicas de emulsiones aceite vegetal en agua durante el proceso de emulsificación y almacenamiento. *Rev. Aceites y Grasas*, vol. 51(4):230-236.
- Sanders, T.A. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *Am. J. Clin. Nutr.*, (71):176S-180S.
- Sankarikutly, M.M., Sreekumar, C.S., Narayanan, A.G., Mathew, A.G. (1988). Studies on microencapsulation of cardamom oil by spray drying technique. *J. Food Sci. Technol.*, (25):352-356.
- Schrooyen, P.M., Van der Meer, R., De Kruif, C.G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, (60):475-479.
- Shahidi, F., Hong, C. (1994). Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. *J. Food Biochem.*, (97)-105.
- Shuster, C.Y., Froines, J.R., Olcott, H.S. (1965). Phospholipids of menhaden muscle. *JAOCS*, vol. 42(10):887-888.
- Sidex, X., Cohen, D., Chen, L. H. (1998). Effect of fish oil on cytokines and immune functions of mice with murine AIDS. *J. of lip. Res.*, (39):1677-1687.
- Simopolous, A.P., Leaf, A., Salem, J. (2000). Workshop Statement on the Essentiality of and Recommended Dietary Intake for Omega-6 and Omega-3 Fatty Acids. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acid, vol. 63 (3):119-121.

- Simopoulos, A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, (54): 438-463.
- Simopoulos, A.P., (1999). Esencial fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, (70):560S-569S.
- Singh, R.B.,Niaz, M.A. (2001). Genetic variation and nutrition in relation to coronary artery disease. *Eur. Heart J.*, vol. 22(5):428-436.
- Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., Linko,P. (2003). Microencapsulation by spray drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science*, vol 68 (7):2256-2262.
- Stansby, M. E. (1990). *Fish oil in nutrition*. Pub. Por Van Nostranol Reinhold. New York.
- Stansby, M.E., May A.S. (1967). Chemical composition of commercially important fish of the USA. *Fish Ind. Res.*, (3):29-34.
- StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- Stone, J. N. (1996). Fish Consumption, Fish Oil, Lipids and Coronary Heart Disease. *Circulation*. (94):2337-2340.
- Tarlagdis, B.H., Watts, B.M., Jounathan, M.T., Dugan, L. (1962). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, (37):44-48.
- Toft, I., Kaare, M., Olec, C., Nordoy, A., Jenssen T. (1995). Effect of n-3 polyunsaturatyed fatty acids on glucose homepstasis and blood pressure in essential hypertension. *Annals of Internal Medicine*, vol. 23(12):911-918.
- Torres, I.C. (2000). Study of the effects of dietary fish intake on serum lipids and lipoprotein in two populations with different dietary habits. *British Journal of Nutrition*, (83):371-379.
- transform Raman spectroscop. *Chemistry Physics Lipids*, (134):173-182.
- Uaay, D. R., Olivares, S. (2002). Importancia de las grasas y aceites para el crecimiento y desarrollo de los niños [en línea]. Food and Agriculture Organization (FAO) of the united Nations: Alimentación, Nutrición y Agricultura,. [Fecha de consulta: 25 de junio de 2003]. Disponible en: < <http://www.fao.org/docrep/t4660t/t4660t05.htm>>.
- Uaay, R., Mena, P. (2001). Lipids and Neurodevelopment, *Nutition Reviews*, vol.59(8):1-12.}
- USDA. Composition of foods - raw, processed, prepared. Agriculture Handbook 8 Series (8-

- 15). Washington D.C.: USDA-HNIS; 1990.
- Valenzuela, A., Nieto, S., (2001). Ácido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-infantil. *Rev. Med. Chile*, (129):1203-1211.
- Valenzuela, A., Sanhueza, J., Garrido, A. (1999). Ácidos grasos polinsaturados de cadena larga n-3: cuando y por qué es necesaria la suplementación con estos ácidos grasos. *Rev. Aceites y Grasas*, (X):294-299.
- Valenzuela, A., Sanhueza, J., Nieto, S. (2000). Ácidos grasos omega-3 de cadena larga en la salud y nutrición humana y animal: un modelo para el desarrollo de alimentos funcionales. *Rev. Aceites & Grasas*, (XI): 526-533.
- Vannuceini, S., (1999). Shark utilization, marketing and trade. FAO Fisheries Technical Paper 389, Rome.
- Varljen, J., Sulic, S., Brmalj, J. (2003). Lipid classes and fatty acid composition of *Diplodus vulgaris* and *Conger conger* originating from the Adriatic Sea. *Food Technol. Biotechnol.*, (41):149-156.
- Vasiliki, R., Kyrana-Vladimirov, P.(2002). Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 37(3):319-324.
- Vaskovsky, V.E. (1989). Phospholipids. in *Marine Biogenic Lipids, Fats, and Oils*. Vol. 1. Boca Raton, FL, CRC Press pp199-243
- Vercellotti, J.R., Angelo, A.J. (1992). Lipid oxidation in foods: An overview. In *Lipid oxidation in food*. pp 1-11. Am. Chem. Soc., Washington, D. C.
- Wallace, J.M., McCabe, A.J., Robson, P.J., Keogh, M.K., Murray, C.A., Kelly, P.M., Marquez-Ruiz, G., McGlynn, H., Gilmore W.S., Strain, J.J. (2000). The bioavailability of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in foods enriched with microencapsulated fish oil, *Annals of Nutrition and Metabolism*, (44):157-162.
- Wetherbee, B.M., Nichols, P.D. (2000). Lipid composition of the liver oil of deep-sea shark from the Chatham Rise, New Zealand. *Comp. biochem. Physiol.*, (125B):511-521.
- Wetzel, D.L., Reynolds, J.E. (2004). Definitive identification of fatty acid constituents in marine mammal tissues. *Can. J. Fish. Aquat. Sci*, vol. 61(4):554-560.
- Williams, C.M., Moore, F., Morgan, L., Wright, J. (1992). Effect of n-3 fatty acids on postprandial triacylglycerol and hormone concentrations in normal subjects. *Br. J. Nutr.*,

(68).655-666.

Young, S.L., Sarda, X., Rosenberg, M. (1993). Microencapsulating properties of whey proteins. J Dairy Sci., (76):2878-2885.

Zugarramurdi, A., (1981b). Estimación de costos en la industria pesquera. La industria Cárnica Latinoamericana, (Buenos Aires, Argentina), vol. 8(40):16-22.

Zugarramurdi, A., Parín, M.A., Lupin, H.M. (1998). Ingeniería económica aplicada a la industria pesquera. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Documento Técnico de Pesca 351.