

Extracción de aceite de pescado derivado de subproductos del beneficio de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), a través de la técnica de fluidos supercríticos.

Trabajo de grado para optar por el título de Zootecnista

Catalina Torres Toro

Asesor

Carlos A. David Rúaless

Biólogo, Esp., M.Sc en Acuicultura

**Corporación Universitaria Lasallista
Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias
Zootecnia
Caldas- Antioquia
2013**

Tabla de contenido

Resumen	5
Abstract.....	6
Objetivos.....	10
Objetivo general:	10
Objetivos específicos:	10
Justificación	11
Marco teórico.....	13
Fluidos supercríticos:.....	16
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) ω 3 y ω 6:.....	17
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) ω 3 en peces:.....	18
Materiales y métodos	20
Recolección de materia prima:	20
Recolección de carcasas, cabezas, vísceras:	20
Secado de las muestras:	20
Composición de las materias primas:	21
Resultados.....	26
Recomendaciones	31
Bibliografía.....	32

Lista de Tablas

Tabla 1: Humedad.....	26
Tabla 2: Humedad Vísceras, primer ensayo.	26
Tabla 3: Humedad vísceras, segundo secado.	27
Tabla 4: Porcentaje de grasa para las diferentes muestras.....	28
Tabla 5: Contenido de minerales	29
Tabla 6: Porcentaje de Nitrógeno	30
Tabla 7: Calorimetría.....	30

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1: Secado de muestras.....	20
Ilustración 2: Secado de vísceras.....	21
Ilustración 3: Muestras secas.....	21
Ilustración 4: Método Soxhlet.....	22
Ilustración 5: Muestra Calorimétrica.....	24
Ilustración 6: Equipo de fluidos supercríticos.....	25

Resumen

La producción de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) en Colombia soporta el 11,36% de la producción nacional y Antioquia es el principal productor nacional con aproximadamente el 38%. Como resultado del proceso de producción las trucheras tienen desechos originados de las cabezas, vísceras y carcasas que corresponden aproximadamente al 19 % del peso vivo (PV) que en el mejor de los casos son utilizados como abonos o materia prima para harinas de pescado y comúnmente son desperdicios cuya disposición final en la mayoría de los casos no es adecuada, perdiendo un subproducto apto para transformar y convirtiéndolo en un elemento contaminante. En la actualidad, la preocupación constante por la salud y los alimentos consumidos permiten que día a día se investiguen diferentes fuentes para obtención de alimentos nutraceuticos y nuevas técnicas de aprovechamiento de desechos. Este trabajo tiene como objetivo principal, Estandarizar el proceso de extracción de ácidos grasos poliinsaturados derivados de vísceras, cabezas y carcasas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) por medio de fluidos supercríticos. Los resultados del análisis bromatológico fueron: 2.1% humedad; 36,7% grasa promedio; 17.2% minerales; 17.2 % de proteína; un valor calorimétrico de 5414,4141 cal/g para carcasas y un valor de 6068,0078 cal/g para las cabezas. Estos valores ayudan para la identificación de los parámetros a utilizar en la extracción por fluidos supercríticos.

Palabras claves: Fluidos supercríticos, trucha arco iris, alimentos nutraceuticos, desechos, subproductos.

Abstract

Production of trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Colombia supports 11.36% of the national production and Antioquia is the leading producer with about 38% . As a result of the production process the trucheras have caused waste of heads, viscera and carcasses corresponding approximately to 19% of body weight (BW) in the best case they are used as fertilizers or raw material for fishmeal and commonly waste disposal which are in most cases is not adequate, shedding suitable for transforming and turning it into a pollutant byproduct. At present, the constant concern for the health and food consumed daily allow different sources to investigate obtaining functional foods and new techniques for utilization of waste. This work has as main objective to standardize the extraction of polyunsaturated fatty acids derived from viscera , heads and shells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using supercritical fluids. The results of the compositional analysis were: moisture 2.1 % , mean 36.7% fat, 17.2 % minerals, protein 17.2 % , a calorimetric value of 5414.4141 cal / g carcass and a value of 6068.0078 cal / g for heads. These values help to identify the parameters to use in supercritical fluid extraction.

Keywords: supercritical fluids, rainbow trout, nutraceutical, food waste byproducts.

Según la FAO, la acuicultura sigue creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal, con un incremento promedio anual del 8% (SOFIA 2012), representando para muchos países un renglón importante de su economía teniendo en cuenta que dentro de la producción acuícola, la acuicultura continental sustenta el mayor porcentaje. Colombia sigue la misma tendencia mundial y sustenta su producción (más del 95%) por tres especies, tilapia roja (*Oreochromis murrinei*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) (CCI 2010). La trucha arco iris, originaria de la costa este de los Estados Unidos, llega a Colombia en el año de 1939 y desde allí hasta la fecha se han creado más de 87 granjas industriales dedicadas a la Truchicultura de alta producción, sin contar la infraestructura artesanal que de una u otra manera sostiene niveles productivos interesantes y abarcan específicamente mercados regionales. Hoy en día esta especie ocupa el cuarto renglón en importancia en la acuicultura comercial, soportando el 11,36% de la producción nacional y Antioquia es el principal productor nacional con aproximadamente el 38% (CCI 2010).

La producción de aceite de pescado constituye el principal método de aprovechamiento de las capturas de peces no comestibles y de los residuos procedentes de las plantas de beneficio (Rodríguez-Marquéz, 1993); generalmente el aceite de pescado disponible en el mercado mundial proviene del cuerpo entero de la anchoveta peruana (*Engraulis ringens*), a través del método del prensado. Los depósitos de grasa en los peces pueden estar en los músculos, en la piel y en el revestimiento de la cavidad abdominal y dentro de la misma especie el porcentaje de ácidos grasos difiere en virtud de muchos factores como sexo, tamaño, dieta, localización geográfica, temperatura del ambiente y estación del año (Gonçalves, y Souza-Soares, 1988).

Tradicionalmente los aceites de origen animal son extraídos por calentamiento de los tejidos, lo que permite su separación de las proteínas y de otros componentes como ácidos grasos libres y agua que deben ser separados por otros procesos como desgomado, refinación, blanqueamiento o fraccionamiento (Cmolíc y Pokorny, 2000); dentro de los métodos modernos de fraccionamiento se encuentran entre otros, el de fluidos supercríticos, el cual puede usar como solvente dióxido de carbono a un punto crítico de 72 bar, con varias ventajas ya que al comportarse como un líquido facilita la disolución de los solutos, a la vez que, su comportamiento como gas permite una fácil separación de la matriz; estas características conllevan a un proceso de extracción más rápido, eficiente y selectivo comparado con el método de la extracción líquido-líquido, además de amigable en vista del uso de "disolventes verdes" como el CO₂ evitando el uso de los habituales disolventes clorados de las extracciones líquido-líquido (Sihvonen, et al 1999).

En la actualidad los seres humanos están buscando obtener mejores beneficios físicos y mayores ventajas nutricionales a la hora de consumir alimentos. Las enfermedades en especial las cardiovasculares y las enfermedades mentales día a día se convierten en la mayor preocupación por los altos riesgos de muerte que se producen a nivel mundial en especial: Asia, Europa, Estados Unidos (J. Carrero, L. Baró, J. Fonollá, et al., 2005). Esto ha generado que los productores, investigadores e industriales indaguen sobre los subproductos de origen animal y vegetal que pueden ser utilizados para mejorar la salud de los consumidores alrededor del mundo y las necesidades que tienen sobre esta. Una de las mayores ventajas para la prevención y el tratamiento en este tipo de enfermedades se encuentra en el aceite de pescado por su contenido de ácidos grasos poliinsaturados que han demostrado tener altos valores nutraceuticos en la alimentación. El proyecto pretende la utilización de una tecnología emergente para la extracción de aceites, usando subproductos

del faenado de la trucha arco iris, dando respuesta a una necesidad ambiental y a la posibilidad de dar valor agregado y diversificar la oportunidad de negocio usando residuos que normalmente no se aprovechan

Objetivos

Objetivo general:

Utilizar subproductos derivados del beneficio de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) para la obtención de aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados.

Objetivos específicos:

Realizar las determinaciones bromatológicas tanto de las vísceras como de las carcasas de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Estandarizar el proceso de extracción de ácidos grasos poliinsaturados derivados de vísceras y de carcasa de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) por medio de fluidos supercríticos.

Evaluar la calidad, composición y rendimiento del extracto oleoso obtenido y realizar un análisis sensorial del producto final, visualizando su aplicabilidad en alimentos.

Justificación

De acuerdo con el Sistema de Información Pesquero y Acuícola, MADR – CCI, la producción en el sector acuícola en Colombia, por especie según departamentos, durante el 2009 ascendió a 59.818 toneladas, de las cuales aproximadamente 6795 toneladas corresponden a la Truchicultura, de esta producción nacional, 1836 toneladas son aportadas por el departamento de Antioquia, lo que corresponde a una producción mensual de 153 toneladas, producción que se genera esencialmente en la región norte y suroeste.

Variedad de información de tipo estadístico, relacionada con los volúmenes de producción es registrada por los entes nacionales como la Corporación Colombia Internacional, pero lastimosamente no se registran ningún tipo de datos acerca de la disposición final o manejo de subproductos originados del faenado como por ejemplo vísceras y carcasa cuando el producto final de venta son los filetes. Se sabe que es posible utilizar este tipo de residuos para la producción de harinas, aceites, concentrados proteicos, hidrolizados proteicos, colágeno, quitosán y ensilajes (Gonçalves 2011), pero el aprovechamiento de este tipo de subproductos en Colombia es aún incipiente y para la zona de estudio no se registra ningún tipo de proceso relacionado con esta actividad y menos aún el uso de tecnologías emergentes. En la actualidad la demanda de aceite de pescado supera la oferta, con lo cual este ha alcanzado precios muy altos en el mercado internacional, como ejemplo, durante la década de los 80 y 90 la tonelada de aceite de pescado se transaba en U\$ 300-400 y aún menos; hoy en día ese mismo producto se comercializa en U\$ 1.300-1.400/tonelada, habiendo alcanzado en algunas épocas valores superiores a U\$ 1.800/tonelada, con tendencia a incrementar, debido entre otros factores, a las restricciones y disminución en la pesca de captura de la materia prima principal (peces pelágicos) y al incremento de la actividad acuícola (FAO 2012). Otro actor a tener en cuenta en el

incremento del uso de aceites de pescado tiene relación con la tendencia mundial hacia el consumo de alimentos saludables o con propiedades nutraceuticas, es conocido que el aceite de pescado es rico en ácidos grasos poliinsaturados, tipo omega 3, el cual, como ha sido comprobado juega un importante papel en mantener un corazón y sistema vascular saludable en humanos (O'Keefe, J.H. and W.S. Harris, 2000), también se ha comprobado su relación con el desarrollo cerebral durante la temprana infancia (Xiang, et al 2000). Se debe pensar entonces en el aprovechamiento de subproductos derivados de la actividad acuícola como fuentes alternativas de este tipo de ácidos grasos que incluya en su método de fraccionamiento tecnologías amigables o emergentes como es el caso de los fluidos supercríticos.

Marco teórico

La agricultura global de pescado y marisco ha sido el alimento de crecimiento más rápido, la producción del sector en las pocas décadas pasadas y se ha hecho una industria importante en muchos países (R. Olsen, M. Hasan, 2012). Gracias a esto, datos de la FAO (2012) informan que la pesca de captura y la acuicultura suministraron al mundo unos 148 millones de toneladas de pescado en 2010 (con un valor total de 217 500 millones de USD). De ellos, aproximadamente 128 millones de toneladas se destinaron al consumo humano y, según datos preliminares para 2011, la producción se incrementó hasta alcanzar los 154 millones de toneladas, de los que 131 millones de toneladas se destinaron a alimentos. Con el crecimiento mantenido de la producción de pescado y la mejora de los canales de distribución, el suministro mundial de alimentos pesqueros ha aumentado considerablemente en las cinco últimas décadas, con una tasa media de crecimiento del 3,2 por ciento anual en el período de 1961 a 2009, superando el índice de crecimiento de la población mundial del 1,7 por ciento anual. El suministro mundial de peces comestibles per cápita aumentó desde un promedio de 9,9 kg (equivalente en peso vivo) en la década de 1960 hasta 18,4 kg en 2009 (FAO, 2012). China ha sido responsable de la mayor parte de este incremento en el consumo mundial de pescado per cápita, debido al considerable aumento de su producción pesquera, en particular de la acuicultura, a pesar de la revisión a la baja de las estadísticas de producción de China en los últimos años. De los 126 millones de toneladas de pescado disponible para consumo humano en 2009, el menor consumo se registró en África (9,1 millones de toneladas, con 9,1 kg per cápita), mientras que las dos terceras partes del consumo total correspondieron a Asia, con 85,4 millones de toneladas (20,7 kg per cápita), de las que 42,8 millones de toneladas se consumieron fuera de China (15,4 kg per cápita). Las cifras de la FAO (2012) anuncian del consumo per cápita

correspondiente a Oceanía, América del Norte, Europa y América Central y el Caribe fueron 24,6 kg, 24,1 kg, 22,0 kg y 9,9 kg, respectivamente.

El pescado y los productos pesqueros representan para los consumidores una fuente muy valiosa de proteínas y nutrientes esenciales para tener una nutrición equilibrada y disfrutar de buena salud. En 2009, el pescado representó el 16,6 por ciento del aporte de proteínas animales de la población mundial y el 6,5 % de todas las proteínas consumidas (FAO, 2012). En relación con la utilización de la producción mundial de pescado, el 40,5 por ciento (60,2 millones de toneladas) se comercializó vivo, fresco o refrigerado, el 45,9 por ciento (68,1 millones de toneladas) se congeló, curó o elaboró de otro modo para el consumo humano directo, y el 13,6 % se destinó a usos no alimentarios en 2010. Según la FAO (2012) desde comienzos de la década de 1990, ha habido una tendencia al alza en la proporción de la producción de pescado destinado al consumo directo en vez de a otros fines. Mientras que en la década de 1980 en torno al 68 % de la producción de pescado se destinó al consumo humano, esta proporción aumentó a más del 86 % en 2010, equivalente a 128,3 millones de toneladas. En 2010, se destinaron 20,2 millones de toneladas a fines no alimentarios, de los que un 75 % (15 millones de toneladas) se redujo a harina y aceite de pescado. Los 5,1 millones de toneladas restantes se emplearon principalmente para fines ornamentales, piscícolas (peces pequeños, alevines, etc.), para cebo, para usos farmacéuticos y como alimentación directa en la acuicultura, para el ganado y para animales de peletería. Del pescado destinado al consumo humano directo, el pescado vivo, fresco o refrigerado fue el más importante con un porcentaje del 46,9 % en 2010, seguido del pescado congelado (29,3 %), el pescado preparado o en conserva (14,0 %) y el pescado curado (9,8 %). La congelación constituye el principal método de elaboración de pescado para consumo humano y en 2010 representó el 55,2 por ciento del total de pescado

elaborado para el consumo humano y el 25,3 % de la producción total de pescado (FAO, 2012).

Teniendo en cuenta estas producciones y los consumos per cápita las cantidades de desperdicios son muy altos aproximadamente para un corte en filete se tienen residuos de un 27%, esto nos indica que de la producción mundial de piscicultura que son para el consumo humano llegan a una cantidad de 128 millones de toneladas estas proporcionarían 34.560.000 toneladas de desechos, de estos se podría generar aprovechamiento para aceite puesto que anteriormente la harina era el producto de mayor interés comercial y el subproducto de estos desechos más utilizado por su alto valor proteico y buena calidad siendo el aceite un “segundo producto”, más bien un desecho en las primeras etapas de esta actividad (A. Valenzuela, J. Sanhueza, F. de la Barra, 2012). En efecto, inicialmente las plantas productoras de harina de pescado la estaban aprovechando para la alimentación de animales terrestres y fertilizantes ya que es fácilmente digestible teniendo una composición excelente de aminoácidos esenciales y botaban al mar el aceite producido durante el prensado de los pescados (R. Olsen, M. Hasan, 2012). Posteriormente, debido a los incipientes reclamos ambientales y ecológicos, el aceite se enterraba en enormes pozos en el desierto. Esporádicamente se le utilizaba como combustible en las calderas de generación de vapor de las mismas plantas de harina (A. Valenzuela et al. 2012). Lo que claramente se desconocía era el valor nutricional que puede alcanzar a tener los aceites desechados y los valores medicinales que se han encontrado en estos anteriormente desechos industriales y los que tenían el conocimiento sobre algún subproducto que pudieran realizar sabían que el costo era elevado esto se debe a que la especie pelágica se puede deteriorar rápidamente post-mortem principalmente porque ellos a menudo dan de comer al zooplancton que contiene las cantidades grandes de enzimas proteolíticas Felberg et al., (como se citó en R.

Olsen, M. Hasan, 2012). Estas enzimas se escapan de la presa ingerida después de la cosecha degradan los tejidos de músculo del pescado que causa el deterioro de calidad severa la explosión de vientre a menudo llamada y para mantener las condiciones ideales sería muy costoso incrementando como se mencionó anteriormente el producto final no siendo muy asequible para los consumidores. A pesar de los problemas que se presentaron para la obtención de los subproductos cada vez se está innovando con nuevas tecnologías y formas de realizar procesos con los que se puedan utilizar los residuos provenientes del beneficio de los peces, motivando a la reutilización generando ingresos extras para los piscicultores, para cumplir estas reutilizaciones se da como alternativa la utilización de la técnica de fluidos supercríticos para extracción de los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en el aceite de pescado.

Fluidos supercríticos:

Muchos factores han incrementado la necesidad de desarrollar nuevas técnicas para la obtención de diferentes productos con varios propósitos, entre ellas, el elevado precio de solventes orgánicos, restricciones medioambientales y el requerimiento de productos con extrema pureza por parte de las industrias médicas y alimenticias. La extracción por fluidos supercríticos, es un proceso que puede evitar algunos de los problemas que presentan los métodos tradicionales de separación. La región en la cual una sustancia existe como fluido supercrítico está definida por la presión y temperatura crítica; algunos gases como el CO₂, presentan propiedades solventes selectivas deseables cuando se les incrementa su presión por encima de su valor crítico, por el orden de los 1000 a 2000 psig, estas propiedades relacionadas con la viscosidad y la difusión son más efectivas en comparación con la separación por solventes líquidos, por lo tanto se convierten en una

buena elección para la extracción y fraccionamiento de una gran variedad de materias primas. Por ejemplo para la industria de alimentos el CO₂ es escogido por su moderada presión y temperatura crítica (1070 psig – 31.1°C), por ser inerte, poco costoso, no inflamable, ambientalmente aceptado, de fácil consecución y de uso seguro. De esta manera la separación de ácidos grasos poliinsaturados depende de su tamaño molecular más que de su grado de insaturaciones (Sihvonen, et al 1999).

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) ω 3 y ω 6:

Según Simopoulos (1997), las principales fuentes para obtener este tipo de grasas, son los alimentos de origen marino, de hecho se propone el incremento del consumo de este tipo de productos, para aumentar la cantidad PUFAS dentro de la dieta normal, en vista de que en general la dieta occidental es rica en ω 6 y baja en ω 3, que no supe el balance apropiado de PUFAS para un funcionamiento apropiado del cuerpo (Carrero, et al. 2005). Estos esterios de cadena larga, denominados como, ácido eicosapentanoico (EPA), ácido docosapentanoico (DPA) y el ácido docosahexanoico (DHA), también pueden obtenerse del ácido linolénico; pero EPA y DHA, son sintetizados principalmente por fitoplancton marino, el cual es incorporado a través de la cadena alimenticia a las demás especies acuáticas, principalmente a las de aguas frías probablemente debido a la habilidad de estos ácidos grasos para mantenerse líquidos a bajas temperaturas (Sihvonen, et al 1999). Varios trabajos publicados por Calder, P.C. (2004, 2006, 2010); indican la importancia de los PUFAS en la nutrición humana y en la prevención de enfermedades, en vista de la función de servir como precursores hormonales de compuestos conocidos como eicosanoides, los cuales están ligados a las respuestas inflamatorias, actividad del sistema inmune, sistema

cardiovascular, triglicéridos, presión sanguínea y artritis; de ahí su importancia e interés para las industrias farmacéuticas y de alimentos saludables.

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) ω 3 en peces:

Según Averina y Kuttyrev (2011), el perfil de ácidos grasos en los peces varía en función de varios factores tales como, la temperatura del agua, edad, sexo, especie, tipo de pez y principalmente en función del perfil de los ácidos grasos presentes en la cadena alimenticia que pueden ser los del medio natural o de los diversos sistemas de cultivo y que un perfil lipídico ideal es característico de cada especie o linaje la cual es capaz de modular mediante la absorción y metabolismo selectivo de los ácidos grasos de la dieta; de esta manera algunos peces de agua dulce podrían ser considerados como una fuente alternativa de PUFAS de la familia ω 3, en vista de su mayor capacidad de alargar y desaturar los ácidos grasos cortos sintetizados por las algas y plantas como los indica Sargent, et al (2002) en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Averina y Kuttyrev (2011), reportan un contenido porcentual en músculo de trucha arco iris, del 5% de EPA, el 19% de DHA; Segura, J. (2012), reporta que el aceite obtenido de manera tradicional de viseras trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) presenta un bajo porcentaje total de ω 3 (1,34%); en otra especie de salmónido eurihalino, Sun, et al (2006), reportan contenidos muy altos en comparación con otros aceites, 1,64 g/100g de EPA y 1,47/100g de DHA. Sathivel, et al (2002) reportan en viseras del bagre del canal (*Ictalurus punctatus*), contenidos de 4,2 mg/g en base seca de DHA; Özogul, et al (2006), reportan para el bagre africano (*Clarias gariepinus*), porcentajes de 2,1% de EPA y 6,72 de DHA y para la carpa común (*Ciprinus carpio*), porcentajes de 5,9% de EPA y 8,21% de DHA; Jabeen y Chaudhry (2011), realizando estudios en grasa, reportan para la carpa común (*Ciprinus carpio*), porcentajes de

EPA de 0,3% y DHA de 0,36%, para la carpa mayor de la India (*Labeo rohita*), porcentajes de 0,6% de EPA y 1,27% de DHA y para tilapia mozambica (*Oreochromiss mozambicus*), porcentajes de 0,4% de EPA y 0,35% de DHA.

Materiales y métodos

Recolección de materia prima:

Recolección de carcasas, cabezas, vísceras:

Las vísceras y las carcasas de trucha arco iris fueron suministradas por la empresa Truchas del Jardín, localizada en el municipio de Jardín, a 114 kilómetros de la ciudad de Caldas; sus coordenadas geográficas son: Latitud Norte 5°35'58" y Longitud Oeste 75°50'05". La cabecera municipal está a 1.750 metros de altura sobre el nivel del mar y presenta una temperatura promedio de 19 grados centígrados

Secado de las muestras:

Las materias primas fueron secadas en un horno eléctrico, este se utilizó a una temperatura de 65° C, primero se colocaron las carcasas y las cabezas, estas se dejaron por un término de 4 días para reducir al máximo el contenido de humedad a un mínimo aproximado de 7 %. Las vísceras se introdujeron un mes después en las mismas condiciones.

Ilustración 1: Secado de muestras



Ilustración 2: Secado de vísceras



Composición de las materias primas:

Contenido de humedad:

El contenido de humedad fue determinado para las vísceras, cabezas y carcazas después de haberse secado durante los 4 días, el equipo utilizado fue un Horno eléctrico MEMMERT este equipo cuenta con control de temperatura y circulación de aire forzado, el cual es utilizado para secado y deshidratación de material vegetal y de material de laboratorio, análisis de humedad.

Ilustración 3: Muestras secas.



Contenido de grasa:

Fue realizado por el método Soxhlet. Las ventajas más destacables del método Soxhlet son que la muestra está siempre en contacto con el disolvente, con su renovación constante, la temperatura del sistema se mantiene relativamente alta, ya que el calor aplicado al proceso de evaporación es constante, es un método muy simple que no requiere la formación especializada y permitiendo la extracción de una cantidad de aceite mayor en comparación con otros métodos, sin la necesidad de filtrado de la micela después de la extracción (A. Brum, L. Arruda, M. Regitano-D'arce, 2009). Después que la extracción fue terminada se llevó a un roto evaporador BUCHI R-114 con BUCHI waterbath B-480 este equipo extrae el hexano contenido a una temperatura de 70° C y este fue recuperado, separando la grasa total y el hexano.

Ilustración 4: Método Soxhlet.



Prueba de minerales:

Este contenido fue determinado introduciendo las muestras previamente secas, en una MUFLA (Horno para alta temperatura) Industrias Terrígeno 002271, este horno para alta temperatura es un equipo que posee una cámara incorporada con masa de hormigón refractario y con resistencias eléctricas colocadas alrededor, lo que permite medir la temperatura con alta exactitud durante la quema, incineración de muestras y fusión de algunos metales.

Las muestras se dejaron por un periodo de un día y luego se hizo el pesaje de las mismas en una balanza analítica Mettler toledo para determinar los pesos finales, con esto se saca la diferencia de pesos finales – pesos iniciales para determinar los minerales.

Contenido de proteína:

El nitrógeno(N) contenido en las materias primas fue determinado por el equipo UDK 142 (Automatic Distillation Unit) mediante el método de Kjeldahl. Este consta de tres etapas que en su orden son: digestión de la muestra, destilación con arrastre de vapor del amoníaco producido y valoración ácido base de este amoníaco (Official Methods of Analysis of AOAC Internacional, 1997). En la primera etapa, el hidrógeno y el oxígeno proteico, son oxidados hasta dióxido de carbono y agua, mientras que el nitrógeno es convertido en sulfato de amonio, por la acción de un agente oxidante en medio ácido y con la ayuda de un catalizador. Se han desarrollado diferentes variantes en las cuales cambia el catalizador o el agente oxidante, pero en todos los casos, el objetivo final de la etapa de digestión es el de convertir el nitrógeno proteico en sulfato de amonio (AOAC, 1997).

En la etapa siguiente, mediante la acción de una base fuerte, generalmente hidróxido de sodio al 40%, se libera el amoníaco de la sal de amonio. Cuando la valoración se va a efectuar por retroceso, el amoniaco liberado se arrastra con vapor y se recoge sobre un volumen exactamente medido de un ácido estándar. Una variante utilizada comúnmente, consiste en recibir el amoniaco (hidróxido de amonio) sobre ácido bórico aproximadamente al 4% de tal manera que se forma borato de amonio (AOAC, 1997). La etapa final consta de una titulación y fue multiplicado por el valor establecido para este tipo de compuestos que es 6.25 determinando así la proteína ordinaria (AOAC, 1997).

Valor calorimétrico:

Se determinó gracias al equipo llamado CALORIMETER Calorímetro diferencial (Calorimetría de barrido diferencial) se miden las diferencias en la cantidad de calor que fluye hacia o desde la muestra respecto a una referencia, durante un programa de temperatura controlada y en una atmósfera de gas definida (Centro de Instrumentación Científico-Técnica, 2013), los valores son dados en cal/g, en este se toma 1 g de la muestra.

Ilustración 5: Muestra Calorimétrica



Extracción por la técnica de fluidos supercríticos:

El equipo que se utilizará para la extracción a escala de laboratorio tiene las siguientes especificaciones: Extractor Thar con tanque de extracción de 1 L, bomba neumática con potencia máxima de 10.000 psi, sistema de calentamiento por resistencias con temperatura máxima de 120°C y dos tanques separadores. Para determinar las mejores condiciones de extracción en el equipo se realizará un diseño experimental para la optimización del proceso de extracción. Concretamente, se empleará un intervalo de presiones y temperaturas para aplicar un Diseño Central Compuesto con tres replicas en el centro con la ayuda del Statgraphics XV. Los factores seleccionados para el diseño serán la presión y la temperatura. Otras variables como el tiempo de extracción, el tamaño de partícula, la humedad del material y el flujo de solvente se fijarán de antemano.

Ilustración 6: Equipo de fluidos supercríticos



Resultados

Las pruebas bromatológicas arrojaron los siguientes resultados: humedad, como lo indica la tabla 1, para carcasas y cabeza un valor promedio de 1.405% y 2,11, respectivamente.

Tabla 1: Humedad.

MUESTRAS	REPETICIÓN	% HUMEDAD
CARCASAS	1	1,31
	2	1,5
	PROMEDIO	1,405
CABEZAS	1	2,18
	2	2,04
	PROMEDIO	2,11

El contenido de humedad es el indicado ya que los valores que se estaban buscando eran inferiores a 7%, una vez que obtuvo el resultado el extracto oleoso obtenido se introdujo en bolsas selladas y compactas para evitar el flujo de aire que pueda oxidar los compuestos y guardados en los desecadores de Silica Gel. Los datos de humedad que se obtuvieron para las vísceras se muestran en la tabla 2:

Tabla 2: Humedad Vísceras, primer ensayo.

VÍSCERAS	% HUMEDAD
1	8,79
2	7,69
PROMEDIO	8,24

Se realizaron igualmente dos muestreos para la determinación de la humedad, la vísceras tenían un contenido mucho mayor de humedad ya que las concentraciones de agua llegan a un aproximado de 80% por lo que el tiempo que se destinó para el secado no fue suficiente, por esta razón se volvieron a secar las muestras esta vez con una temperatura de 68°C (no se puede aumentar mucho el calor ya que las propiedades y los compuestos podían variar, no siendo confiables los resultados. Nuevamente se secaron esta vez por 5 días y se extendieron más las vísceras para el calor pudiera penetrar por los poros.

Luego de los 5 días se realizó nuevamente una prueba de humedad los resultados fueron:

Tabla 3: Humedad vísceras, segundo secado.

VISCERAS	% HUMEDAD
1	2,67
2	2,68
PROMEDIO:	2,675

La humedad obtenida en el segundo secado fue correcta y con estas humedades entre 1,405% - 2,675% dadas en todas la materias primas se llevó a cabo las demás pruebas bromatológicas.

Los resultados para los contenidos de grasa fueron altos para todas las materias primas utilizadas, esto basados en que son desechos del beneficio de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Tabla 4: Porcentaje de grasa para las diferentes muestras.

	MUESTRAS	% GRASA
CARCASAS	1	31,4941415
	2	35,4534322
	3	37,4230459
	PROMEDIO	34,7902066
CABEZAS	1	36,5162555
	2	42,4545181
	3	28,8425205
	PROMEDIO:	35,9377647
VISCERAS	1	44,6800272
	2	40,4578519
	3	41,8348371
	PROMEDIO	31,7431791

El promedio en los contenidos de grasa para las materias primas fueron: en cabezas un 43,70274705 %; en carcasas un promedio de 34,79020655%; para vísceras un porcentaje de 31,74317906 %. Según los resultados obtenidos la mayor cantidad de grasa se obtuvieron de las cabezas superando los porcentajes de las demás materias primas, a estos se les realizaran los perfiles de ácidos grasos para determinar si la cantidad y la calidad aprovechada de estos desechos si tiene suficientes propiedades nutricionales para ser extraídos y utilizados para el consumo.

Los resultados sobre la cantidad de minerales fueron los siguientes (tabla 5):

Tabla 5: Contenido de minerales

	PESO CRISOLES	P.F /g	P.I /g	DIFERENCIA	Muestra/g	% MINERALES
CARCASAS	A	38,1132	37,5684	(0,5448)	3,0038	18
	B	34,2283	33,6658	(0,5625)	3,0761	18,28614154
	C	35,3547	34,8084	(0,5463)	3,0497	17,91323737
CABEZAS	D	36,1115	35,6111	(0,5004)	3,0438	16,43997635
	E	33,8338	33,3200	(0,5138)	3,0546	16,82053297
	F	32,9461	32,4324	(0,5137)	3,0437	16,87748464
VISCERAS	G	33,3454	32,8356	(0,5100)	3,0545	16,69667703
	H	32,9798	32,4654	(0,5144)	3,0568	16,82805548
	I	33,8544	33,3245	(0,5299)	3,0043	17,63805213

%

PROMEDIO:	17,293020
------------------	------------------

Por los resultados se muestra que el promedio esta en 17 %, este valor es alto y está altamente relacionado con la cantidad de calcio que tenían presentes ya que los componentes de estos desechos están compuestos de espinas.

Los contenidos de nitrógeno obtenidos, se titularon y los ml (mililitros) utilizados se multiplicaron por la constante 6,25 que indica el contenido de nitrógeno.

Tabla 6: Porcentaje de Nitrógeno

		PESO DE MUESTRAS/g	TITULACION/ ml	% PROTEINA
CABEZAS	A	0,6303	2,9	18,125
	B	0,5089	2,9	18,125
	C	0,6157	2,9	18,125
CARCASAS	D	0,5677	2,8	17,5
	E	0,5955	2,9	18,125
	F	0,5349	2,8	17,5
VISCERAS	G	0,5261	2,5	15,625
	H	0,5115	2,4	15
	I	0,5665	2,7	16,875
			PROMEDIO	17,22222222

El valor energético o calorimetría se realizó solo a las cabezas y a las carcasas, en el equipo calorimétrico, a las vísceras no se pudo ya que el equipo con el que se contaba no podía realizar esta prueba a sustancias tan líquidas, fue un inconveniente y por esto no se realizó. Para esta prueba se tomó una muestra lo más exacta posible de 1 g, se toman 2 ml de agua destilada y se utiliza cinta de celulosa, los datos fueron los siguientes:

Tabla 7: Calorimetría.

	Peso Muestra/g	CALOR(cal/g)
CARCASAS	0,9998	5414,4141
CABEZAS	1,0007	6068,0078

Recomendaciones

Para realizar las pruebas bromatológicas se determinaron las siguientes recomendaciones:

Primero debe realizarse una prueba microbiológica ya que estas materias primas están destinadas al consumo humano y deben estar bajas en la carga microbiana evaluando las coliformes fecales totales y las unidades formadoras de colonias.

Para determinar el contenido de grasa el tiempo normalmente por el método Soxhlet debe dejarse un tiempo aproximado de 3 - 4 horas (variando según las necesidades y los compuestos), este estudio recomienda realizar la prueba durante 5 horas ya que se evidencian residuos de grasa y lo más conveniente es que el hexano termine de extraer la grasa emergiendo lo más cristalino posible.

Una recomendación para el secado especialmente de las vísceras es dejar por un lapso de 4 días como mínimo, esto se debe a que el contenido de humedad es mucho mayor lo que dificulta que el contenido de humedad este por debajo de un 7%.

Para las pruebas de calorimetría de debe ser lo más exacto posible en el peso de las muestras, ya que los datos arrojados por el sistema pueden tener unas variaciones considerables y los datos no tendrían veracidad.

En las pruebas preliminares para la extracción de fluidos supercríticos se evidencio que las condiciones más adecuadas hasta el momento para realizar dicha extracción son: temperaturas 65°C y una presión de 350 bar.

Bibliografía

AOAC. Official Methods of Análisis of AOAC Internacional. 16th Edition. 3rd Revisión. 1997 METODO AOAC 954.01 (coeficiente 6.25) Método Micro kjeldhal.

Bastos, AL, Baish, ALM, 2006. graxos da pele e músculo de Balistes capriscus e Menticirrhus litoralis, pescados na região sul do Brasil; Fatty acids profile in muscle and skin of Balistes capriscus, Rev. Inst. Adolfo, v. 65, p. 94-99.

Bastos, AL, Baish, ALM. 2006. graxos da pele e músculo de Balistes capriscus e Menticirrhus litoralis, pescados na região sul do Brasil; Fatty acids profile in muscle and skin of Balistes capriscus, Rev. Inst. Adolfo, v. 65, p. 94-99.

Blanco, M. Sotelo, C.G. Chapela, M.J. Pérez-Martín, R.I. 2007. Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends, Trends in Food Science & Technology, v.18, p. 29-36.

Carrero, J J, Baró, L, Fonollá, J, Jiménez, J López-huertas, J J Boza E. 2005. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta de omega-3-fatty acids and, Nutr. Hosp. (2005) XX (1) 63-69 ISSN 0212-1611. CODEN NUH0EQ S.V.R. 318.

Centro de Instrumentación Científico-Técnica, 2013. Calorímetro diferencial (AT03). España: Campus Las Lagunillas. Recuperado de <http://www10.ujaen.es/conocenos/servicios-unidades/cict/calorimetro-diferencial-at03>

Cmolik J, Pokorny J. 2000. Physical refining of edible oils. *Eur J Lipid ScienTechnol*; 102: 472-85.

Corporación Colombia Internacional (CCI). 2010A. Sistema de Información de la oferta agropecuaria. Encuesta Nacional Piscícola. Pp 1-13. ISSN 2010 – 8449.

Egan, H., Kirk, R., & Sawyer, R., "Análisis Químico de Alimentos de Pearson", 4ta edición, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, 1991, p. 13-17, 19-39.

FAO, 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Departamento de pesca y Acuicultura de la FAO, Roma, ISBN 978-92-5-307225-5.

GONÇALVES, A. A.; SOUZA-SOARES, L. A. 1998. Lipídios em Peixes. *Vetor, FURG*, Rio Grande, v. 8, p. 35-53.

Horrobin, D F, Bennett, C N, 1999. Depression and bipolar disorder: relationships to impaired fatty acid and phospholipid metabolism and to diabetes, cardiovascular disease, immunological abnormalities, cancer, ageing and osteoporosis. Possible candidate genes, Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids, v.60, p.217-234.

Izquierdo Córser, P, Torres Ferrari, G, González Díaz, Elizabeth, Barboza-Martínez, Yasmina M. S., Enrique A. Cagnasso, María. 1999. Composición de ácidos grasos y

contenido de humedad en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela, Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, v. 9,p.463-468.

Jabeen, Farhat, Chaudhry, AS, 2011. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. Food Chemistry, v.125, p. 991-996.

Jabeen, Farhat, Chaudhry, AS. 2011. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species, Food Chemistry, v.125, p. 991-996.

M. Sihvonen, E. Järvenpää, V. Hietaniemi and R. Huopalahti. 1999. Advances in supercritical carbon dioxide technologies. Trends in FoodScience&Technology 10, 217-222.

Martha Coronado Herrera, Salvador Vega y León, Rey Gutiérrez Tolentino, Beatriz García Fernández y Gilberto Díaz González. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. Nutrición, v.25, p.72-79.

O'Keefe, J.H. and W.S. Harris, 2000. Omega-3 Fatty Acids: Time for Clinical Implementation? Am. J. Cardiol. 85:1239–1241.

Olsen, Ragnar L. Hasan, Mohammad R.2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. Trends in Food Science & Technology, v. 27, p. 120-128.

Prentice-Hernández, C., 2011. Óleo de pescado. Gonçalves, A. Tecnología do pescado. Capítulo cuarto, p399-406. ISBN 978-85-388-0197-9. Editora Atheneu.

Rodríguez Marqués, G. 1993. La Industria de los Pequeños Pelágicos y la industria de la Harina y el Aceite de pescado en América Latina. FAO/Programa de Investigación de GLOBEFISH, v. 20, p. 31-40.

Shahidi, Fereidoon, Wanasundara, Udaya N. 1998. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies, Trends in Food Science & Technology, v. 9, p. 230-240.

Velásquez, Á. 2008. La tecnología de fluidos supercríticos, un proceso limpio para el sector industrial, Revista Universitaria Lasallista, v.3 p. 120-123. ISSN: 1909-0455. Editorial Corporación Universitaria Lasallista Área Metropolitana del Valle de Aburrá.

Xiang, M., G. Alfven, M. Blennow, M. Trygg, and R. Zetterstrom, 2000. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Human Milk and Brain Growth During Early Infancy, Acta Paediatrica. 89: 142–147.