



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

TITULO

**"EFECTO DE LOS ANTIOXIDANTES EN LA ESTABILIDAD
OXIDATIVA DEL ACEITE DE PESCADO CRUDO INDUSTRIAL"**

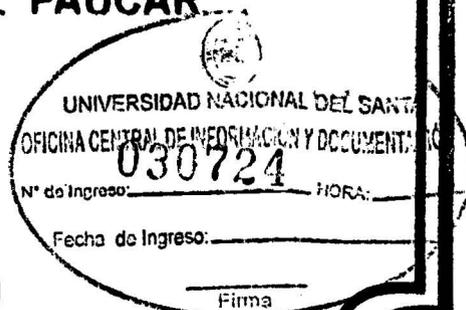
**TESIS PARA OPTAR EL
TITULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL:**

EJECUTORES:

**BACH. CORTEZ IBAÑEZ DIANA
BACH. HUERTA CHAUCA JESSICA**

ASESOR:

DR. GILBERT RODRÍGUEZ PAUCAR



NUEVO CHIMBOTE - PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



HOJA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR

El presente trabajo de tesis titulada “Efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial” ha contado con el asesoramiento del Dr. Gilbert Rodríguez Paucar, de quien deja constancia de su aprobación. Por tal motivo, firmo el presente trabajo en calidad de Asesor. Designado por RESOLUCION DECANATURAL N° 471-2014-UNS-FI

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop and a horizontal stroke, is written over a solid horizontal line.

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar

ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA ACADEMICA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



HOJA DE CONFORMIDAD DEL JURADO

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL

“Efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial.”

TESISTAS

Bach. Cortez Ibañez Diana Catalina

Bach. Huerta Chauca Jessica karen

Revisado y aprobado por el siguiente jurado evaluador, designado mediante Resolución Decanatural N° 090-15-UNS-CFI

Dra. Elza Aguirre Vargas

PRESIDENTE

Dr. Augusto Castillo Calderón

SECRETARIA

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar

INTEGRANTE

DEDICATORIA

Dedicamos la presente tesis:

A Dios por mostrarnos que día a día con paciencia y
sabiduría todo es posible.

A nuestros padres y hermanos que nos apoyaron en todo
momento, quienes con su amor y comprensión
incondicional hicieron posible la culminación de esta etapa
de nuestra vida.

A nuestros amigos gracias por su ayuda constante en
nuestro trabajo de investigación.

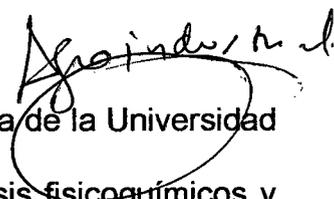
A todo ellos, muchas gracias de todo corazón.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Área de Investigación y Desarrollo de las Oficinas de Lima y Coishco de la empresa Pesquera Hayduk SA por el apoyo en brindarnos diversas muestras de materia prima, antioxidantes, orientación y asesoría externa para el desarrollo de nuestra tesis

Agradecemos al Ing. David Vásquez de la empresa COLPEX-Chimbote, por su contribución y orientación para realizar los análisis fisicoquímicos en la muestra de aceite de pescado.

Agradecemos al Instituto de Investigación Tecnológica de la Universidad Nacional del Santa por permitimos realizar los análisis fisicoquímicos y de estabilidad oxidativa en el Equipo Rancimat.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Aguirre, A. L.", is written over the text of the third paragraph. The signature is written in a cursive style and is partially enclosed by a circular scribble.

INDICE

	Pág.
Resumen	11
Abstract	12
I. INTRODUCCION	13
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	15
2.1. Definición de Aceite de Pescado Crudo	15
2.1.1. Características del aceite de pescado	16
2.2. Usos, comercialización de aceite	18
2.3. Definición de Lípidos	19
2.4. Definición de Ácidos Grasos	20
2.4.1. Ácidos Grasos Saturados	21
2.4.2. Ácidos Grasos Insaturados (PUFAS)	22
2.4.3. Ácidos Grasos Monoinsaturados	24
2.4.4. Ácidos Grasos Poliinsaturados	26
2.4.5. Ácidos grasos esenciales	28
2.5. Extracción de Aceite de Pescado	28
2.5.1. Método de extracción de aceite	29
2.5.1.1. Tratamiento térmico	30
2.5.1.2. Prensado en frío	30
2.6. Autooxidación o enranciamiento oxidativo	31
2.6.1. Iniciación	33
2.6.2. Propagación	35
2.6.3. Terminación	35
2.7. Antioxidantes	37
2.7.1. Antioxidantes artificiales	39
2.7.1.1. Etoxiquina	40
2.7.1.2. Butil hidroxitolueno	40
2.7.2. Antioxidantes naturales	41

2.7.2.1.	Tocoferoles	41
2.7.2.2.	Compuestos fenólicos	43
2.8.	Métodos empleados para determinar la oxidación de los aceites	46
2.8.1.	valor del peróxido (VP)	46
2.8.2.	Valor de la p- Anisidina (AOCS CD 18-90)	48
2.8.3.	Índice de acidez	50
2.8.4.	Índice de yodo	51
2.8.5.	Índice de estabilidad oxidativa	51
2.9.	Método Rancimat	54
III.	MATERIALES Y METODOS	54
3.1.	Materiales, equipos e instrumentos	55
3.1.1.	Materiales	55
3.1.1.1.	Materia Prima	55
3.1.1.2.	Inzumos	55
3.1.1.3.	Reactivos	55
3.1.1.4.	Materiales de vidrio	56
3.1.1.5.	Materiales metálicos y otros	56
3.1.2.	Equipos e Instrumentos	57
3.2.	Metodología de Análisis	59
3.2.1.	Análisis Físicoquímicos	59
3.2.1.1.	Humedad	59
3.2.1.2.	Densidad	59
3.2.1.3.	Acidez	59
3.2.1.4.	Índice de Peróxido	59
3.2.1.5.	Índice de Yodo	61
3.2.1.6.	Índice de Anisidina	62
3.2.1.7.	Determinación de Ácidos Grasos	63
3.2.1.8.	Índice de estabilidad oxidativa	63
3.2.2.	Energía de activación	64

3.2.3.	Adición del Antioxidante	65
3.2.3.1.	Preparación de aceite de pescado con antioxidante al 1%	65
3.2.3.2.	Preparación de aceite de pescado a 200 ppm	66
3.2.3.3.	Análisis en el Rancimat de Aceite de Pescado	67
3.3.	Procedimiento	68
3.3.1.	Recepción de la Materia Prima	68
3.3.2.	Homogenización	68
3.3.3.	Dilución 1	68
3.3.4.	Dilución 2	68
3.3.5.	Pesado	68
3.3.6.	Análisis Rancimat	68
3.4.	Diseño Experimental	69
3.4.1.	Flujo del diseño experimental del aceite de pescado crudo	69
3.4.2.	Variables dependientes	70
3.4.3.	Variables independientes	70
3.5.	Diseño Estadístico	71
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	75
4.1.	Perfil porcentual de ácidos grasos	75
4.2.	Características Fisicoquímicas del aceite pescado crudo de superficie.	79
4.3.	Tiempo de Inducción del aceite de pescado crudo de superficie	83
4.4.	Antioxidantes y su mecanismo de acción.	90
4.5.	Efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo de superficie	92
4.6.	Curvas de inducción	96
4.7.	Análisis de Varianza (ANOVA)	97
4.8.	Determinación de energía de activación	98

V. CONCLUSIONES	100
VI. RECOMENDACIONES	102
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	103
ANEXOS	111

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Contenido de EPA y de DHA del aceite obtenido de diferentes especies marinas	15
Cuadro 2: Características fisicoquímicas del aceite de pescado crudo industrial	17
Cuadro 3: Estructura química de ácidos grasos saturados	22
Cuadro 4: Algunos Ácidos Grasos mono insaturados más comunes en los alimentos.	25
Cuadro 5: Características fisicoquímicas del aceite SALfresh	31
Cuadro 6: Concentración máxima permitida para antioxidantes sintéticos	45
Cuadro 7: Composición porcentual de ácidos grasos EPA y DHA en la muestra de aceite pescado crudo.	77
Cuadro 8. Calidad Inicial del aceite pescado crudo de superficie.	80
Cuadro 9. Tiempo de Inducción del aceite de pescado crudo de superficie sin adición y con antioxidante al 0.02%.	84
Cuadro 10. Eficiencia de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado.	93
Cuadro 11. Curvas de Inducción del Aceite de Pescado Crudo de Superficie, sin adición y con adición de antioxidante.	96
Cuadro 12: Análisis de Varianza (ANOVA)	97
Cuadro 12. Determinación de la energía de activación	98
Cuadro 13: Índices de Estabilidad Oxidativa en aceite de pescado crudo industrial	116

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura QUIMICA de diferentes ácidos grasos.	21
Figura 2. Isomería Cis – Trans de los ácidos grasos.	23
Figura 3. Diferencias existentes entre las estructurales espaciales de los ácidos grasos, uno saturado y otro insaturado.	24
Figura 4. Estructura molecular del ácido oleico.	25
Figura 5. Obtención de aceite de pescado crudo industrial	30
Figura 6. Mecanismo de oxidación del ácido linoléico con oxígeno triplete.	33
Figura 7: Estructura química de los tocoferoles	42
Figura 8. Estructura química del ácido carnósico y del ácido rosmarínico.	44
Figura 9. Determinación de los hidroperóxidos lipídicos.	47
Figura 10. Reacción de los compuestos aldehídos con el reactivo p – anisidina.	49
Figura 11. Estados de la oxidación lipídico	50
Figura 12. Reacciones de titulación del yodo con tiosulfato.	51
Figura 13. Tiempo de inducción determinado por el Rancimat.	53
Figura 14. Muestra de aceite de pescado crudo.	55
Figura 15. Equipo RANCIMAT METROHM 743	58

INDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1: Tiempo de Inducción a 80°C y 90°C de la muestra control y 88 muestra con antioxidantes.

Grafico 02. Tiempos de Inducción del aceite pescado sin antioxidante 89 (CONTROL) y con antioxidante Etoxiquina, a 80°C y 90°C.

RESUMEN

Se determinó la efectividad de dos antioxidantes sintéticos y tres antioxidantes naturales en la estabilización oxidativa del aceite de pescado crudo, obtenido de la pesca industrial correspondiente a la captura de diferentes especies principalmente de anchoveta. Se caracterizó la muestra de aceite con análisis fisicoquímicos tales como: Acidez 3.167%(ácido oleico), Humedad (0.63%), Densidad (0.927 g/ml), Índice de Peróxido (3.58 meqO₂/kg), Índice de Refracción (1.479), Índice de Iodo (145.8 cg I₂/g), Índice de Anisidina (20.6), Totox (27.76 meqO₂/kg), resultados que fueron comparables con las especificaciones de exportación del aceite de pescado crudo. La estabilidad oxidativa del aceite se determinó en el equipo Rancimat 743 a temperaturas de 80°, 90° Y 100°C, flujo de aire constante de 10 L/h , 3g muestra y concentración(200ppm) de cada antioxidante. Los tiempos de inducción a 80°C fueron 6.65h y 13.83h para el aceite sin antioxidante y con Etoxiquina respectivamente. Los antioxidantes mostraron el siguiente orden de eficiencia: Etoxiquina > Tocoferoles mixtos > BHT > mix de tocoferoles, lecitina y extracto de romero> δ, γ, β y α tocoferol.

ABSTRACT

Established the effectiveness of two synthetic antioxidants and three natural antioxidants on the oxidative stabilization of fish oil, obtained from the different species of capture industrial fishing principally anchovy. The fish oil showed values of acidity index 3.167%(oleic acid), Humidity (0.63%), density (0.927 g / ml), peroxide index (3.58 meqO₂ / kg), Refractive Index (1479), iodine value (12 145.8 cg / g), anisidine value (20.6), Totox (27.76 meqO₂ / kg), the results were comparable with the export specifications of crude fish oil. The oxidative stability of fish oil was determined using the Rancimat 743, temperatures were used in this case 80 °, 90 ° and 100 ° C, air flow 10 l / h, 3g sample and concentration of antioxidant(200 ppm). The induction period to 80 ° C were 13.83h and 6.65h to oil without antioxidant and oil with Ethoxyquin respectively. The antioxidants shown the following order of efficiency: Ethoxyquin> mix tocopherols> BHT> vegetable oil, tocopherols, lecithin and rosemary extract> δ, γ, β and α-tocopherol.

I. INTRODUCCION

El Perú es considerado actualmente uno de los más importantes productores de aceite de pescado en el mundo. Este aceite es principalmente exportado en forma de aceite crudo siendo el principal mercado los países de Europa como: Alemania, Holanda, Noruega y entre los países americanos se encuentra México.

El aceite de pescado crudo se utiliza principalmente en el alimento balanceado para piensos, peces de criadero, pero también se utiliza para elaborar cápsulas que contienen los ácidos grasos omega 3.

Actualmente el 76% de la producción mundial de aceite crudo de pescado se destina para la acuicultura. Los peces en cautiverio, son alimentados con pellets que tienen un alto contenido de harina (25%) y aceite de pescado crudo (3-5%).

El aceite de pescado crudo es favorable para un mejor crecimiento, engorde y mayor contenido de aceite en la pulpa si sus parámetros están dentro del límite permitido, de lo contrario, un aceite oxidado podría traer disminución en el crecimiento y eventualmente provocar la muerte asociada con lesiones necróticas en el hepatopáncreas de los peces y piensos.

La rancidez oxidativa es sin duda la principal causa del deterioro de aceites y grasas y define la vida de almacenamiento de este tipo de productos. Por lo tanto, la estabilidad (resistencia a la oxidación) viene a ser uno de los factores que más preocupan a los productores, así como también es uno de los principales criterios de calidad en aceites y grasas. Innumerables

factores determinan la estabilidad de aceites y grasas, destacando la composición química y las condiciones de procesamiento.

De acuerdo a lo expuesto, los objetivos de este estudio fueron:

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de pescado crudo tales como el Índice de Acidez, Índice de Peróxido, Índice de Anisidina, Índice de Iodo, Humedad, Densidad, Índice de Refracción y Totox,
- Determinar el perfil porcentual de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en el aceite de pescado crudo industrial.
- Determinar los tiempos de inducción del aceite de pescado crudo a temperaturas de 80°C, 90°C y 100°C, con flujo de aire de 10L/h, y concentración de antioxidantes 200ppm.
- Comparar la eficacia de los antioxidantes comerciales: A1 (Etoxiquina), A2 (tocoferoles mixtos), A3 (aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero), A4 (alfa, delta, beta y gamma tocoferol), A5 (Butilhidroxitolueno BHT).
- Determinar el efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial.
- Determinar la energía de activación (E_a) de la reacción de oxidación de aceite de pescado crudo industrial.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Definición de Aceite de Pescado crudo

Aceite de pescado crudo; es líquido a temperatura ambiente, de origen marino, (jurel, caballa, anchoveta, etc.) de color amarillo anaranjado, que se ha obtenido por el prensado del pescado y seguidas centrifugaciones para separar los diferentes componentes. (Valenzuela A, 2012).

El aceite de pescado es un producto industrial de alto valor nutricional por su contenido de ácidos grasos omega-3 de cadena larga; eicosapentaenoico (C20:5, EPA), docosapentaenoico (C22:5, DPA) y docosahexaenoico (C22:6, DHA). Estos ácidos grasos, particularmente el EPA y el DHA, son hoy día altamente valorado por sus propiedades profilácticas y terapéuticas, en diversas situaciones nutricionales y enfermedades. El aceite de pescado es la fuente primaria, y quizás la más abundante, de estos ácidos grasos, lo cual actualmente ha creado una gran demanda de este insumo. El cuadro 1 muestra el contenido promedio de EPA y DHA del aceite obtenido de diferentes especies de peces, cuya captura, o producción (acuicultura) es común en Chile y Perú, principalmente. (Valenzuela A, 2012).

Originalmente, el aceite de pescado era un “segundo producto” de la fabricación de la harina de pescado, un valioso producto de amplia utilización en la industria de la nutrición animal. Perú, Chile, Dinamarca y Noruega, en ese orden, son los países con

mayor actividad pesquera destinada a la fabricación de harina de pescado y aceite de pescado. (Valenzuela A, 2012).

Cuadro 1: Contenido de EPA y de DHA del aceite obtenido de diferentes especies marinas

Especies	EPA (g/100g)	DHA (g/100g)
Jurel	14	10
Salmon	7	10.8
Trucha	4.5	8.6
Sardina	16	10
Anchoveta	11	10
Atún	13	10
Bacalao	11	12

Fuente: Valenzuela A, 2012

2.1.1. Características del aceite de pescado

Los aceites de origen marino se caracterizan por su alto contenido de los llamados ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga (AGPICL), siendo los más importantes el ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y el ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA). Los ácidos grasos omega-3 de cadena larga EPA y DHA son altamente valorados por los demostrados efectos benéficos en la salud y en la nutrición tanto humana como animal que produce su consumo. (Sanhueza J, 2009).

Cuadro 2: Características fisicoquímicas del aceite de pescado crudo industrial

ACEITE DE PESCADO			MERCADOS	
Parámetros			AQUA	OMEGA 3
FFA	%	Max	3	3
Humedad e impurezas	%	Max	1	1
Materia saponificable	%	Max	2,5	2,5
Índice de yodo	Hanus	Min/Max	160 – 200	160 – 200
Color Gardner	Gardner	Max	15	15
EPA + DHA	%	Min	26	28
Anisidina	%	Max	-	25
Índice de peróxido	Meq/Kg	Max	5 a 10	5 a 7
Totox		Max	35	30

Fuente: Análisis fisicoquímicos del aceite de pescado crudo de exportación, (Hayduk, 2014).

Desde el punto de vista nutricional los ácidos grasos omega-9 pueden ser formados por los organismos animales, no es así con los ácidos grasos omega-6 y omega-3. Por esta razón a los ácidos grasos omega-9 se les considera como no esenciales, en cambio los ácidos grasos omega-6 y omega-3 son esenciales, lo cual significa que los debemos consumir en una determinada cantidad y proporción entre ellos. (Sanhueza J, 2009).

2.2. Usos, comercialización de aceite

El principal uso del aceite de pescado hoy en día es la industria acuicultora para la elaboración de piensos para peces de criadero, principalmente en la salmonicultura (salmón y trucha), la que ha alcanzado altos niveles de producción en países como Noruega, Chile, Canadá, Escocia, entre los países con mayor actividad en este rubro. El salmón es una especie carnívora, por lo cual en cautiverio debe ser alimentado con insumos de origen animal e idealmente marinos. Por esta razón los pellets que se preparan para estos animales deben tener un alto contenido de harina(25%) y aceite de pescado(3-5%). Esta actividad consume el 76% de la producción de aceite de pescado, demanda que es cada vez más creciente.

Otra actividad que demanda aceite de pescado, aunque cada vez en menor proporción, es la hidrogenación para la preparación de mantecas y margarinas, la que actualmente se estima en 11% de la producción. Sin embargo, esta actividad está decreciendo debido al cuestionamiento de los efectos nutricionales en la salud, hecho que se debate por la formación de isómeros trans en gran cantidad y variedad durante la hidrogenación de los aceites marinos. (Valenzuela A, 2012). Otras fuentes de grasa como: el cebo de vacuno y recientemente la grasa de palma, han sustituido el uso de aceite de pescado en esta actividad. La industria de suplementos nutricionales para enriquecer alimentos en ácidos

grasos omega-3 es un rubro de fuerte crecimiento en los últimos años ya que estos ácidos grasos constituyen una excelente alternativa para el desarrollo de alimentos funcionales.

Finalmente, la industria farmacéutica y nutracéutica representa un porcentaje importante de la demanda actual, donde se utiliza para la preparación de cápsulas, concentrados de omega-3, emulsiones y otras formas consumibles. (Valenzuela A, 2012).

2.3. Definición de Lípidos

La palabra lípido proviene del griego lipos que significa grasa. Los lípidos son un grupo de compuestos de estructura heterogénea muy abundantes en la naturaleza, sus representantes más importantes son las grasas y los aceites. Están formados por carbono, oxígeno e hidrogeno y en ciertos casos también pueden contener fósforo y nitrógeno. Dentro de los compuestos clasificados como lípidos existe una gran variedad de sustancias que presentan poca similitud en su estructura química, pero todas tienen la particularidad de que son solubles en disolventes orgánicos (éter, cloroformo y otros disolventes no polares) e insolubles en agua (Badui D, 1984).

Las principales funciones que desempeñan los lípidos incluyen:

- Ser componentes estructurales de las membranas.
- Constituir depósitos de reserva de combustible metabólico

Los lípidos se dividen en dos grandes clases, los lípidos saponificables que pueden ser hidrolizados bajo condiciones alcalinas produciendo ácidos grasos, estos comprenden las grasas, los aceites, las ceras, los fosfolípidos y los fosfátidos; y los lípidos insaponificables que no pueden ser sometidos a reacciones de hidrolisis en medios alcalinos, son básicamente los esteroides, (Stoker y Walker, 1991).

2.4. Definición de Ácidos Grasos

Los ácidos grasos son los componentes más importantes de los aceites y las grasas, son moléculas lineales, químicamente formadas por una larga cadena de átomos de carbono y de hidrógeno y en un extremo un grupo carboxilo (figura 1).

Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Su fórmula química es $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, (n indica la cantidad de átomos de carbono que forman la cadena hidrocarbonada). Los ácidos grasos difieren entre sí por su longitud y por el número y posiciones de enlaces doble entre carbonos consecutivos (C=C). Esto permite clasificarlos en saturado, monoinsaturados y poliinsaturados. (Navas P., 2010).

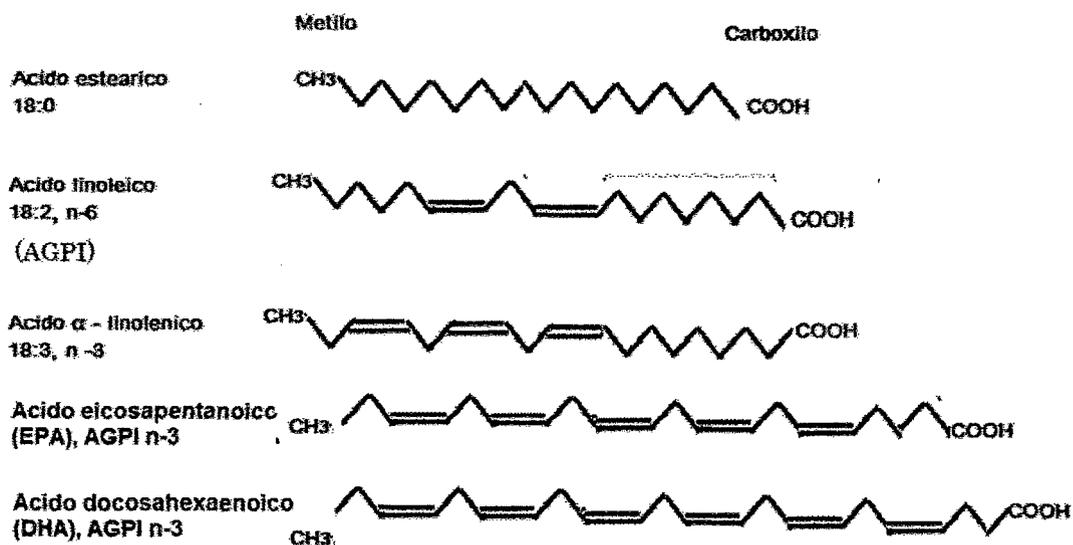


Figura 1. Estructura química de diferentes ácidos grasos.
Fuente: Vega, 2005

2.4.1. Ácidos Grasos Saturados (AGS)

Los ácidos grasos saturados poseen un enlace simple entre cada par de átomos de carbonos (C-C-C-C), y todos los átomos de carbono (menos el terminal) están unidos a dos átomos de hidrógeno, es decir, que están "saturados" de hidrógeno. Son ejemplos el esteárico, butírico, palmítico, entre otros. Están presentes en las grasas animales, y en aceites vegetales de cacao, palma, coco y otros. (Navas P., 2010)

Los ácidos grasos saturados de menos de 10 átomos de carbono son líquidos a temperatura ambiente y parcialmente solubles en agua. A partir de 12 carbonos, son sólidos y prácticamente insolubles en agua. En estado sólido, los ácidos grasos saturados adoptan la conformación alterna todo -anti, que da un máximo de simetría al cristal, por lo

que los puntos de fusión son elevados. El punto de fusión aumenta con la longitud de la cadena (Baldui, 1996).

Cuadro 3: Estructura química de ácidos grasos saturados

Ácidos grasos	estructura	Formula
Caprílico	8:0	$C_8H_{16}O_2$
Cáprico	10:0	$C_{10}H_{20}O_2$
Laúrico	12:0	$C_{12}H_{24}O_2$
Mirístico	14:0	$C_{14}H_{28}O_2$
Palmítico	16:0	$C_{16}H_{32}O_2$
Esteárico	18:0	$C_{18}H_{36}O_2$
Araquídico	20:0	$C_{20}H_{40}O_2$
behénico	22:0	$C_{22}H_{44}O_2$
Lignocérico	24:0	$C_{24}H_{48}O_2$

Fuente: Grasas y aceites en la nutrición humana, FAO

2.4.2. Ácidos Grasos Insaturados (PUFAS)

Los ácidos grasos insaturados tienen una mayor reactividad química que los saturados debido a la presencia de los dobles enlaces. Estos ácidos predominan sobre los saturados, especialmente en los aceites vegetales y en las grasas animales marinos que viven a bajas temperaturas. Su punto de fusión disminuye a medida que aumenta el grado de insaturación y su sensibilidad a las reacciones de oxidación en mayor cuanto más insaturado sea el ácido, los puntos de fusión de los ácidos insaturados son menores que

de los saturados para una misma longitud de la cadena de átomos de carbono (Baldui, 1981).

Todos los ácidos grasos insaturados naturales presentan isomería *cis*. El isómero *cis*- posee los dos hidrógenos hacia el mismo lado, mientras que en el isómero *trans*- se encuentran alternados.

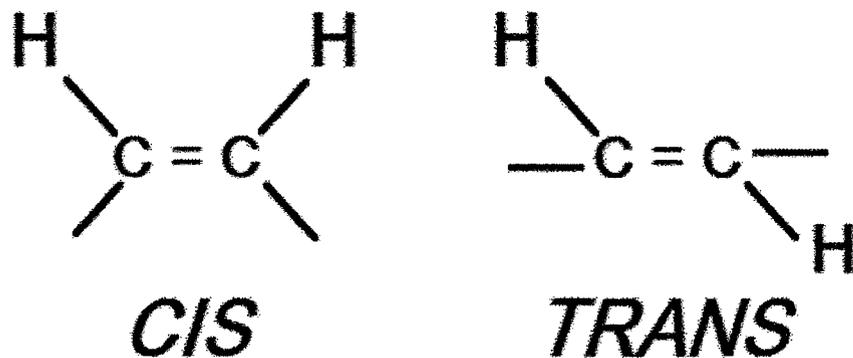


Figura 2: Isomería Cis – Trans de los ácidos grasos.
Fuente: Grasas y aceites en la nutrición humana, FAO

La presencia de dobles enlaces con isomería *cis*-, en los ácidos grasos insaturados hace que la cadena hidrocarbonada se doble en el espacio lo cual, a su vez, dificulta su empaquetamiento con otras moléculas próximas y asegura que los lípidos que contienen estos ácidos grasos tengan bajos puntos de fusión y, por consiguiente, sean fluidos a temperaturas fisiológicas, lo que facilita, entre otras cosas, su transporte en nuestro organismo. (Baldui, 1981).

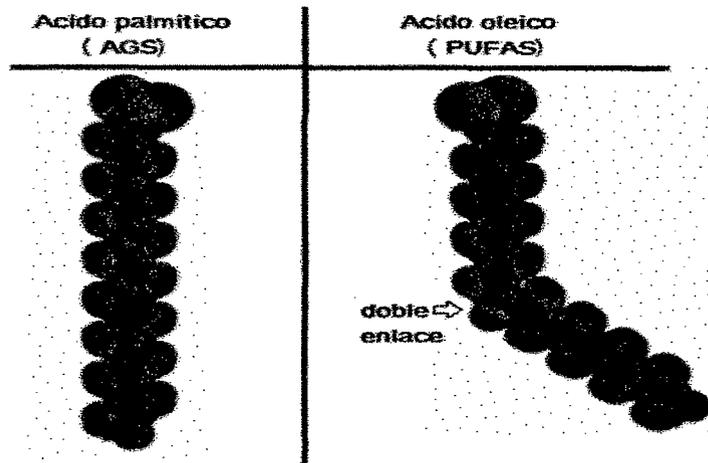


Figura 3: Diferencias existentes entre las estructurales espaciales de un ácido graso saturado y otro insaturado.
Fuente: Grasas y aceites en la nutrición humana, FAO

Estructura tridimensional de dos ácidos grasos, la presencia de la insaturación de configuración cis torsiona la estructura espacial de la molécula, a diferencia de la estructura lineal del ácido graso saturado.

2.4.3. Ácidos Grasos Monoinsaturados

Los ácidos grasos monoinsaturados son aquellos ácidos grasos de cadena carbonada par que poseen una sola insaturación en su estructura, es decir, poseen un solo doble enlace carbono-carbono ($-\text{CH}=\text{CH}-$). Un ejemplo de este tipo de ácidos es el ácido oleico (figura 4) presente en casi todas las grasas naturales, llamado comúnmente omega 9. (Navas P., 2010)

2.4.4. Ácidos Grasos Poliinsaturados

Los ácidos grasos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids, PUFA), poseen un grupo polar carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada de 16 a 20 carbonos con doble enlaces en dos o más pares de carbonos (C=C). Al ser "insaturados" son capaces de fijar más hidrógeno. (Navas P., 2010).

Los ácidos grasos omega 3 son tipos de grasa poliinsaturada esencial. Al igual que los ácidos grasos omega 6 son insaturados ya que carecen de dos átomos de hidrogeno, poseen en su lugar dos átomos de carbono adicionales. (Jaime A, 1993).

Los ácidos grasos omega 3 fueron descubiertos en 1982 por el investigador Ralph Holman, como consecuencia de un estudio sobre la dieta de los esquimales. Estudios efectuados en Groenlandia establecieron que la baja incidencia de infartos y enfermedades cardiovasculares entre los esquimales estaba estrechamente relacionada con su dieta, muy rica en grasa animal marina que contiene una elevada cantidad de ácidos grasos omega 3. (Stoker y Walker, 1991).

Hay tres moléculas calificadas como omega 3: el EPA (ácido eicosapentanoico) conocido también como ácido timnodónico y el DHA (ácido docosahexanoico) llamado también ácido cervónico o clupanodónico, que se

encuentran en los animales (pescados), mientras que el ALA (ácido alfa linolénico) solo se encuentra en ciertos vegetales (aceite de linaza, nueces, tofu). Estas tres sustancias tienen el mismo arreglo molecular, pero no son iguales; su estructura química se puede observar en la figura 1. El EPA Y DHA son esenciales para la dieta humana. El cuerpo no puede fabricar estos ácidos, pero si es capaz de convertir el ALA en EPA y DHA, aunque está demostrado que el proceso es lento e ineficiente. (Montaño, 1998).

La fuente primaria de AGPI omega 3 es la gran diversidad de microorganismos e invertebrados que forman el fito y zooplancton marino, estos pueden elongar y desaturar el ALN transformándolo a través de una serie de pasos intermediarios en EPA y posteriormente en DHA, que se transfieren vía cadena alimenticia a peces, crustáceos y mamíferos. Mientras mayor es el contenido de grasa de estos animales, mayor es el contenido de EPA Y DHA de su carne y del aceite que se obtiene de muchos de ellos. El EPA se acumula principalmente el tejido adiposo, mientras que el 90% o más del DHA constituye el tejido nervioso y cerebro de estos animales, principalmente en la forma de fosfatidil serina y fosfatidil etanolamina. De esta manera, los peces constituyen importantes fuentes de EPA y DHA, consumidos como tal o a través de los productos de su

industrialización (principalmente, harina y aceite). (Robalino J, 2009).

2.4.5. Ácidos grasos esenciales

Son aquellos ácidos grasos que el organismo no puede sintetizar, por lo que tiene que ser obtenidos a través de la dieta (Montaño, 1998). Hay dos familias de ácidos grasos esenciales: los omega-3 y los omega-6. PUFAs fundamentales para el cuerpo son el ácido araquidónico, el ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docosahexanoico (DHA) (Broadhurst, 1998).

2.5. Extracción de aceite de pescado

Actualmente, el grueso de la harina y del aceite de pescado de todo el mundo se fabrica con el método denominado "de prensadura en húmedo". Las principales fases de este método consisten en la cocción para coagular las proteínas, con lo que se liberan el agua y el aceite retenidos; la separación, al prensar los elementos coagulados, con los cuales se obtiene una fase sólida, que contiene de 60 a 80% de materia seca excedente de aceite formada fundamentalmente de proteínas no disueltas; y una fase líquida, llamada líquido de prensadora, que contiene el resto de los componentes: aceites, proteínas disueltas y en suspensión, vitaminas y elementos minerales. (Valenzuela A, 2012).

2.5.1. Método de extracción de aceite de pescado

2.5.1.1. Tratamiento térmico

En la planta procesadora, los pescados son triturados y sometidos a cocción con vapor en un "cooker" (según la terminología industrial) a 120-140°C, durante 2 o 3 horas y luego prensados en grandes prensas metálicas, obteniéndose así un sólido que luego se seca en túneles de calor a 50-60°C, hasta 8% de humedad y se envasa como harina en sacos de polietileno; el líquido de prensa se procesa en un "decanter" (un tipo de separador centrífugo) para separar el aceite de pescado, el cual finalmente se centrifuga a alta velocidad para eliminar restos de agua y posteriormente se acopia en grandes estanques para su comercialización. Del "decanter" también se separa una "agua de cola" que posteriormente se concentra por evaporación para recuperar proteínas solubles que se incorporan a la harina que entra al secador. (Valenzuela A, 2012).

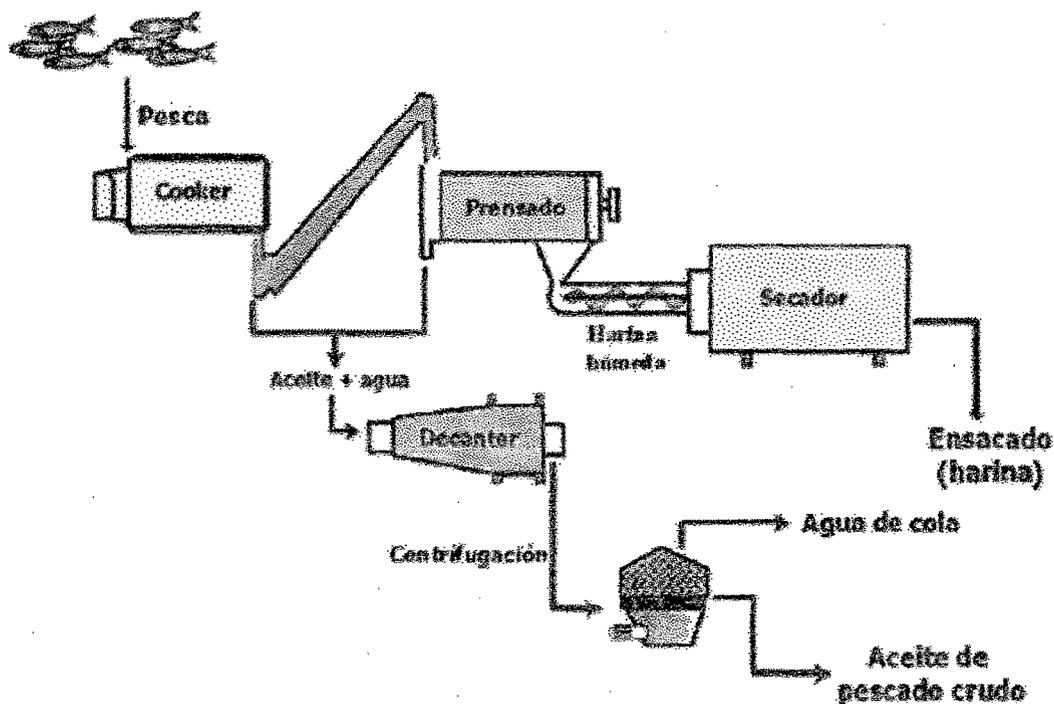


Figura 5: Obtención de aceite de pescado crudo industrial
Fuente: Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Alfonso Valenzuela B, 2012

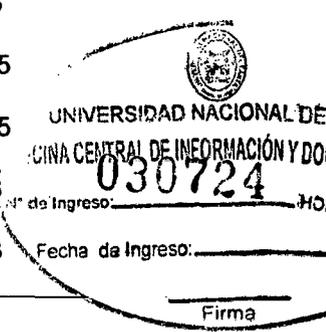
2.5.1.2. Prensado en frío

El método de prensado en frío es empleado por la empresa SALfresh, el aceite de pescado puro y prensado procedente del salmón originario del norte del Círculo Polar Ártico en Noruega. El salmón entra en la fábrica vivo y desde el momento en que tiene lugar su procesado, los aceites se extraen del pescado en menos de 75 minutos, solo se utiliza la carne magra del pescado para hacer el aceite mediante un prensado en frío, todo el proceso se realiza en un entorno protegido con nitrógeno para proteger el aceite del oxígeno y evitar su oxidación, después de la extracción el aceite

es almacenado a temperaturas inferiores a -20°C en tanques diseñados para evitar el contacto con el metal, antes de enviarlo para su encapsulado y garantizar así un producto fresco y puro. (folleto tecnico Acacia, 2011).

Cuadro 5: Características fisicoquímicas del aceite SALfresh

PARAMETROS			RESULTADO
Acidez	Mg KOH/g	Min	<1
Materia insaponificable	%		<0.6
Humedad	%		<1
Color Gardner			8
Índice peróxido	Meq O ₂ /kg	Max	0.5
Índice anisidina	Meq O ₂ /kg	Max	<0.5
Totox		Max	<1,5
EPA	%	Min	3,8
DHA	%	Min	5,3



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
 OFICINA CENTRAL DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN
 030724
 Fecha de Ingreso: _____
 Firma _____

Fuente: Folleto tecnico Acacia, 2011

2.6. Autooxidación o enranciamiento oxidativo

Este tipo de enranciamiento se debe a la oxidación atmosférica de la grasa, razón por la cual es conocido también como Autooxidación, por ser un mecanismo que genera compuestos que a su vez mantienen y aceleran la reacción (Badui S, 1996).

La acción del oxígeno atmosférico, sobre las cadenas alifáticas poliinsaturadas de los ácidos grasos, da lugar al sabor y olor típicos, fuertes y desagradables de las grasas oxidadas. Sin embargo, existen enzimas como las lipoxigenasas y

ciclooxigenasas o las hidroperóxidasas, enol isomerasa, alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa, entre otras, que son responsables de la descomposición de los hidroperóxidos lipídicos, siendo la lipoxigenasa la enzima clave de todo el proceso (Zamora R. et al., 1991).

La autooxidación es la causante de la mayor parte de los problemas de deterioro de los productos grasos y generalmente envuelve un mecanismo en cadena de radical libre. Este El mecanismo comprende tres fases (Daniels R. et al., 2006).

- Iniciación o de formación de radicales libres (hidroperóxidos).
- Propagación o de reacción de los radicales libres entre sí
- Terminación o de constitución de productos no radicales (alcoholes, compuestos carbonílicos). (Millar., 2001).

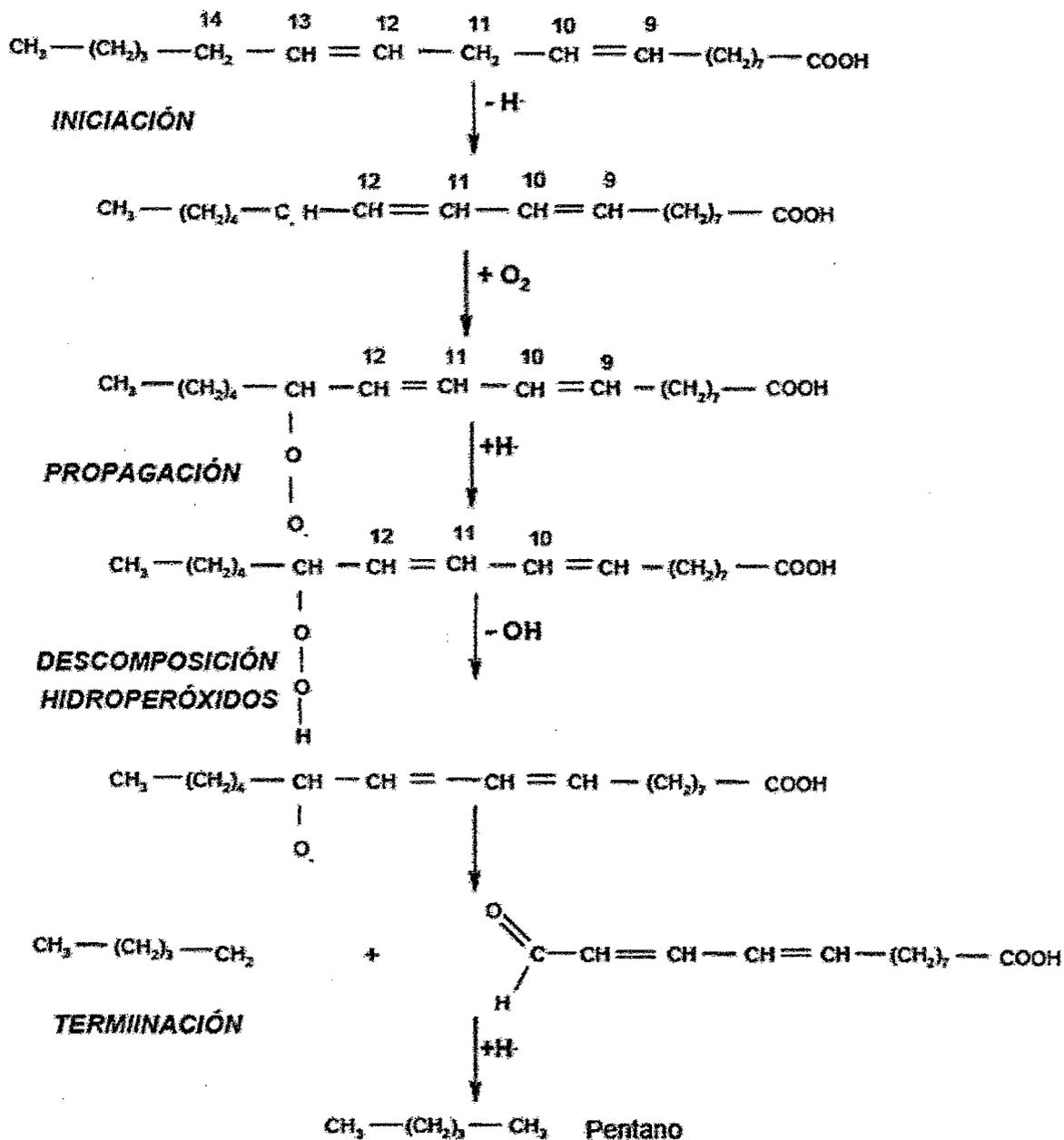


Figura 6: Mecanismo de oxidación del ácido linoléico con oxígeno triplete. Fuente: Evaluación de la estabilidad oxidativa de grasas, (Castillo J, 2007).

2.6.1. Iniciación

En este primer paso, se presenta una abstracción de átomos de hidrógeno que puede ser un hidrógeno alílico de un ácido graso o cualquier otro hidrógeno que se encuentre débilmente

enlazado cerca de una insaturación, dando lugar a un nuevo radical (Hidalgo F. et al., 1991)

Estos hidrógenos metilénicos (CH_2) están activados por la vecindad de los dobles enlaces y son más reactivos que los otros, razón por la cual, los compuestos poliinsaturados de las grasas se oxidan más rápido que los saturados, en quienes únicamente sucede la oxidación cuando las condiciones son muy fuertes. La energía de un fotón, sobre uno de estos hidrógenos lábiles, produce un radical inestable, el cual se estabiliza electrónicamente formando híbridos de resonancia conjugados (dienos o trienos conjugados), consiguiéndose de esta manera una estructura mesomérica más estable para que los radicales fijen oxígeno (Primo E., 1998).

El oxígeno triplete ($^3\text{O}_2$), a diferencia del oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$), no ataca el doble enlace de un ácido graso, sino que reacciona con los radicales libres para formar radicales peróxido (Miller., 2001). Esto ocurre, debido a que el oxígeno en su estado normal de triplete (sus dos electrones más externos tienen un spin igual) es muy poco electrófilo y por sí sólo no actúa sobre los dobles enlaces; mientras que en la configuración electrónica singulete, donde los spin son diferentes, se presenta una fuerte repulsión entre ellos, de manera que el átomo de oxígeno queda excitado, muy electrófilo y lo suficientemente reactivo como para unirse

directamente a los ácidos grasos, lo cual se facilita porque estos últimos también están como singulete (Badui S, 1996).

2.6.2. Propagación

El radical formado en la etapa de la iniciación, propaga la reacción de radical libre abstrayendo un átomo de hidrógeno del medio, creando así otro radical libre. Subsecuentemente, la reacción directa de los ácidos grasos insaturados con el O₂ es termodinámicamente difícil, la producción de los primeros radicales necesarios para empezar la propagación debe ocurrir por algún medio catalítico; el calor, la exposición a la luz o mecanismos donde el oxígeno singulete es la especie activa, dan lugar a la descomposición de los hidroperóxidos formados (Naz S., 2005).

Estos compuestos son susceptibles de presentar una disociación homolítica por pérdida de un protón o de un radical hidroxilo. En el primer caso, la reacción es normalmente reversible mientras que en el segundo caso no ocurre (Hidalgo F. et al., 1991).

2.6.3. Terminación

Los radicales formados pueden terminar la reacción por acoplamiento con otros radicales o por la incorporación al sistema graso de un antioxidante, el cual actúa como un atrapador de radicales libres, finalizando de esta manera la fase de propagación. Otra forma de finalizar el proceso de autoxidación es la reestructuración y la ciclización de los

radicales peróxidos formando especies relativamente estables, no iniciadoras y no propagadoras, como compuestos volátiles y no volátiles (aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos, etc.,) que por posteriores autooxidaciones se transforman en los polímeros y otros productos característicos de un sistema lipídico oxidado (Bermúdez A., 2003).

Los compuestos volátiles son centro de atención principalmente por tres razones:

- Muchos de ellos son compuestos de elevada importancia sensorial, con la incidencia que tal propiedad tiene en el olor y el olor de los alimentos.
- Sirven de base al conocimiento de muchas reacciones implicadas en la degradación termoxidativa.
- Su identificación permite establecer las posibilidades de reacciones con otros compuestos de la dieta (Dobarganes M. et al. 1995).

La formación de muchos de estos compuestos se explica a partir de la estructura original de los hidroperóxidos, que se reestructuran siguiendo unas rutas principales de ruptura de molécula y otras reacciones inusuales aun no muy bien elucidadas. La degradación de aldehídos saturados en un medio que se encuentra autooxidado puede ser representado por una secuencia de reacciones desde los hidroperóxidos (Hidalgo F. et al., 1991).

2.7. Antioxidantes

Un antioxidante primario es un compuesto fenólico, una fenilamina o cualquier sustancia que contenga al menos un grupo hidroxilo, tiol o amino, unido a un anillo bencénico. El papel de un antioxidante es interrumpir la segunda etapa de la cadena de propagación de oxidación de lípidos mediante la reacción con un peróxido (ROO-), cualquier radical libre (R-) o especie oxidante por transferencia de un átomo de hidrogeno o por transferencia de un electrón, un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción oxidante de una molécula inestable de un radical libre sin perder su propia estabilidad electroquímica. (Rojano et al. 2008).

Existen antioxidantes de tipo sintético utilizados para preservar los alimentos de consumo humano y animal, como el Butilhidroxianisol (BHA), el Butilhidroxitolueno (BHT), el Propilgalato (PG), el ButilHidroxiquinona terciaria (BHQT) y los Tocoferoles sintéticos, entre otros (Moure et al. 2001).

De igual forma, existen antioxidantes naturales como las vitaminas C, E y A y los carotenoides, y otros de naturaleza fenolica como las isoflavonas, ácidos fenolicos, polifenoles, catequinas, esteres fenolicos, el ácido carosico, el ácido rosmarico, bioflavonoides, chalconas, quercetina y camferol, entre otros (Avello & Suwalsky 2006).

La selección de un antioxidante debe estar basada en el tipo de grasa o aceite que se esté usando y en factores de la producción

como el costo, eficacia, condiciones de procesamiento, disponibilidad, conveniencia, estabilidad, seguridad, tipo de animal a ser alimentado y las preferencias del consumidor (Herrera et al 2005).

Uno de los métodos más efectivos de controlar la oxidación y estabilizar el aceite de pescado, facilitando al mismo tiempo su comercialización, es mediante el empleo de antioxidantes, siendo los más utilizados para este fin los antioxidantes del tipo fenólico; entre los sintéticos sobresalen: BHT, BHA, TBHQ como los más efectivos o también mezclas de éstos en formas comerciales muy utilizadas. Recientemente se está observando una tendencia cada vez más creciente por el uso de sustancias naturales. El antioxidante natural más ampliamente utilizado es el alfatocoferol. Asimismo hay estudios sobre la interacción sinergista efectiva del alfatocoferol con los fosfolípidos, utilizándose para este fin la lecitina por ser la más disponible comercialmente. (Rojano et al. 2008).

Desde el punto de vista práctico, los antioxidantes tienen que poseer las siguientes propiedades: ser inocuos, muy activos a concentraciones bajas (0,01 – 0,02 %) y liposolubles, para acumularse en la fase lipídica de un alimento, además deberán ser estables durante todos los procesos ordinarios de la tecnología alimentaria (Belitz y Grosch, 1997).

Los antioxidantes retrasan el desarrollo de compuestos tóxicos y de sabores indeseables en los alimentos, mantienen su calidad

nutritiva y aumentan la vida útil de los mismo prolongando el periodo de inducción de la materia grasa. Los antioxidantes pueden inhibir o retardar la oxidación de dos maneras: como limpiadores de radicales libres que actúan durante el periodo de inducción (antioxidante primario), o por un mecanismo que no implica la eliminación directa de los radicales libres, en este caso se habla de antioxidantes secundarios; estos funcionan por una variedad de mecanismos; complejando iones metálicos, como limpiadores de oxígeno, convirtiendo los hidroperóxidos a especies no radicalarias, absorbiendo radiación UV o desactivando el oxígeno singulete y expresan su actividad antioxidante cuando estos compuestos están presentes (Gordon, 2001).

2.7.1. Antioxidantes Artificiales

El ButilHidroxitolueno (BHT) es efectivo para la estabilización de aceites vegetales. Es el antioxidante más aceptado para el uso en alimentos para humanos y animales. La concentración máxima permitida por la FDA (Food and Drug Administration) es del 0.02% del contenido de grasa del alimento balanceado. Tiene un efecto sinérgico con el BHA, cuando se usan juntos. (NRC 1993).

La Etoxiquina es uno de los antioxidantes más comunes usados en los alimentos para bovinos y aves. Es efectiva en grasas animales y en aceites vegetales y mantiene bien su calidad como antioxidante durante el procesamiento. Su uso

es limitado en alimentos para humanos y algunas mascotas y, por motivos de seguridad, se pueden adicionar máximo 150 mg/kg de dieta. (NRC, 1993).

2.7.1.1. Etoxiquina

La etoxiquina, 6-etoxi-1,2-dinidro-2,2,4-trimetilquinolina es un antioxidante utilizado en la industria alimentaria, en especial en la fabricación de harina de pescado, la concentración mínima permitida para evitar su autocombustión durante su transporte en barco es de 700ppm. La etoxiquina se utiliza como aditivo para proteger a los piensos de la autocombustión durante el transporte. Las determinaciones de resonancia electrónica de spin (ESR) muestran que la mayor parte de la etoxiquina existe en forma de radical libre, el cual se estabiliza por dimerización. El radical libre es la especie con actividad antioxidante. (NRC, 1993).

2.7.1.2. Butil hidroxitolueno (BHT)

El butil hidroxitolueno (BHT) es un poderoso antioxidante sintético que se ha utilizado por décadas en los alimentos, sin embargo, se han hecho estudios que demuestran su posible toxicidad

La acción antioxidante del BHT es similar a la de la vitamina E: dona eficientemente un átomo de hidrogeno a un radical peroxi o alcohoxi, interfiriendo con la propagación de la peroxidación lipídica (Gordon, 2001).

2.7.2. Antioxidantes Naturales

El uso de antioxidantes sintéticos está restringido en varios países, debido a los posibles efectos negativos que pueden generar en la salud humana. Por tal razón, los antioxidantes naturales se consideran más seguros. El α -Tocoferol (denominado también como alfa-tocoferol, es el estereoisómero dextrógiro denominado D-Alfa-tocoferol, mientras que el sintético es el DL-Alfa-Tocoferol. Cuando se emplea en la industria alimentaria se suele codificar como: "E 307". El alfa-tocoferol es un antioxidante que posee la propiedad de proteger a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas y otras estructuras celulares de la peroxidación lipídica. Por ello, es la forma de vitamina E que preferentemente se absorbe y acumula en los seres humanos. Es muy poco soluble en agua, alcanzando mayores grados de solubilidad en aceites. (Gordon, 2001).

2.7.2.1. Tocoferoles

El término vitamina E agrupa a una serie de 8 compuestos: α -, β -, δ -, γ - γ tocoferol, y α -, β -, δ -, γ -tocotrienol (Johnson, 2001). Los derivados metilados del tocol, el 2 – metil 2 (4',8',12'-trimetil-tridecil)-croman-3-ol, se denominan tocoferoles. La actividad antioxidante de los tocoferoles aumenta en la serie $\alpha \rightarrow \delta$, lo contrario

ocurre con la actividad vitamínica y con la velocidad de reacción con radicales peróxido. La actividad vitamínica del γ -tocoferol comparada con el α -tocoferol es más alta y se debe a la mayor estabilidad del primero y a la aparición de productos distintos, durante la reacción de Autooxidación. (Gordon, 2001).

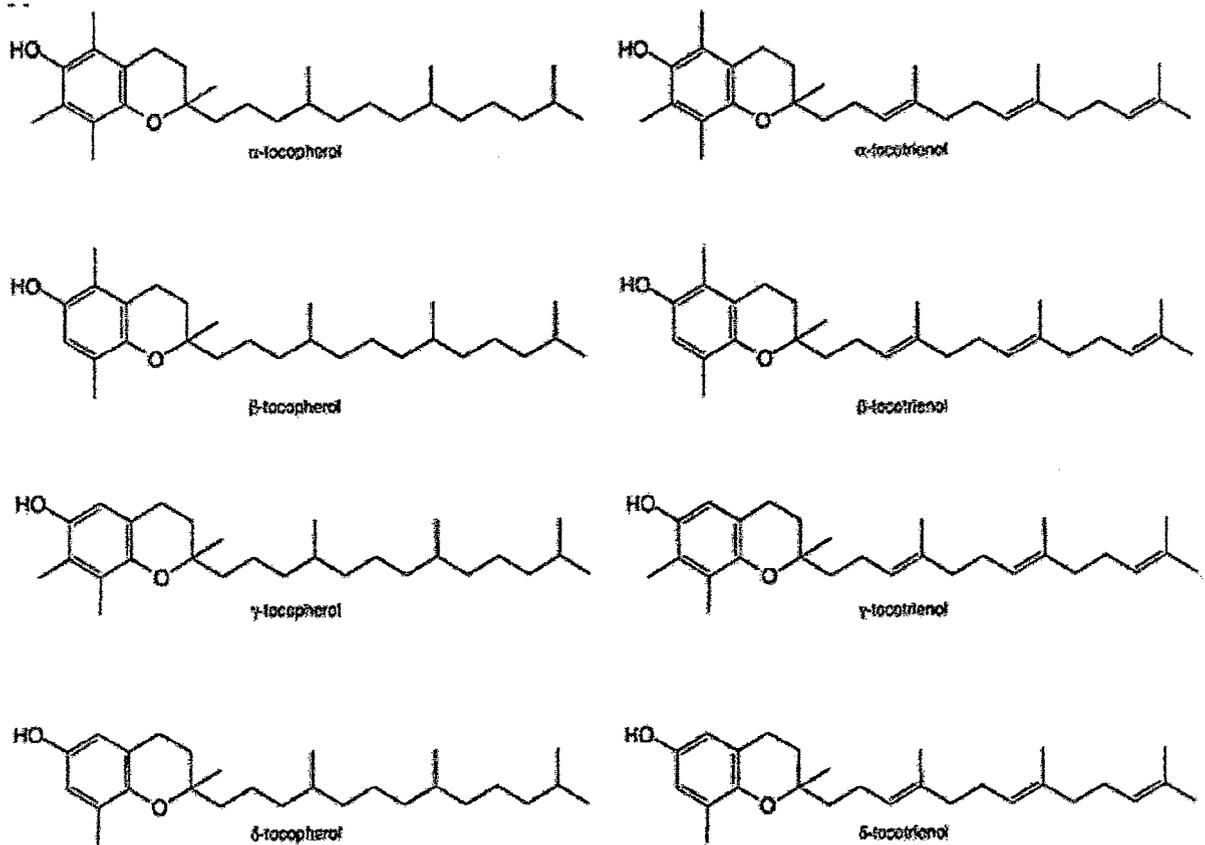


Figura 7: Estructura química de los tocoferoles
Fuente: Navas P., 2010

Los tocoferoles son antioxidantes naturales, de estructura fenólica que se agregan a la harina de pescado para retardar su deterioro, al igual que la etoxiquina, el BHT y el BHA. Han sido ampliamente usados como una alternativa natural a los antioxidantes sintéticos. La fortificación de los alimentos de acuicultura

con vitamina E se aplica comúnmente para mejorar la estabilidad oxidativa, y por ende la vida útil de los pescados. Estudios han demostrado que la carne de los animales que han sido alimentando con dietas suplementarias de tocoferoles es menos susceptible a la oxidación lipídica, debido a que este antioxidante se almacena en las membranas de las células animales. (Gordon, 2001).

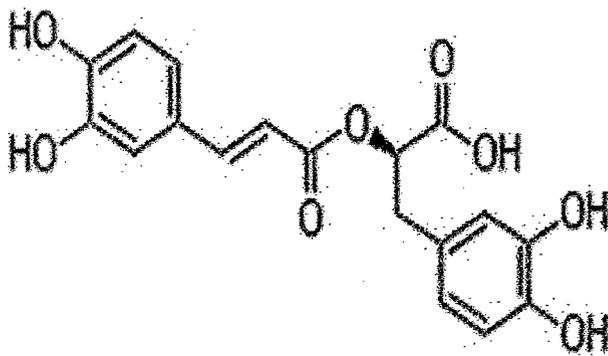
2.7.2.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos tales como los representantes de la serie flavonona y de los flavonoles, que se hallan ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales, juegan un papel como antioxidantes naturales. Entre las diferentes especies de plantas estudiadas destaca la familia Labiada a la cual pertenecen el romero (*Rosmarinus officinalis*) y la salvia (*Salvia officinalis* y *Salvia Fructicosa*-9, en ellas se han identificado diversos compuestos fenólicos, que han demostrado poseer una gran actividad antioxidante. (Frankel et al., 1996).

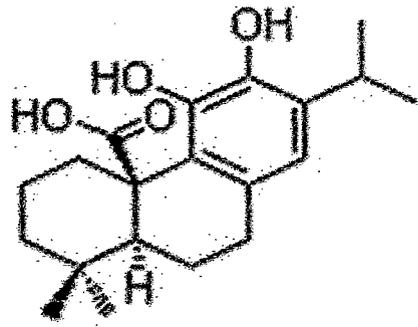
El extracto de romero es uno de los más utilizados y comercializados, en él se ha reportado la presencia de, al menos seis diterpenos fenólicos con actividad antioxidante; carnosol, ácido carnosico, rosmadial,

rosmanol, epirosmanol, metil carnosato además de ácidos fenólicos como el rosmarínico. (Frankel et al., 1996).

En sistemas lipídicos, los extractos de romero con elevados contenidos de diterpenos fenólicos han resultado ser más efectivos mientras que en sistemas acuosos, el ácido rosmarínico exhibe la mayor actividad antioxidante. (Frankel et al., 1996).



Acido Rosmarínico
Formula molecular: C₁₈H₁₆O₈



Acido Carnosico
Formula molecular: C₂₀H₂₈O₄

Figura 18: Estructura química del ácido carnósico y del ácido rosmarínico.
Fuente: Navas P., 2010

Para inhibir la oxidación en alimentos que contengan lípidos de pescado y para prevenir la rancidez en músculo de pescados grasos, es recomendable el empleo de extractos naturales con propiedades antioxidantes provenientes de frutas y hortalizas. (Medina et al., 2003).

Cuadro 6: Concentración máxima permitida para antioxidantes sintéticos

Antioxidante	Dosis (%)	Dosis (ppm)
D,l alfa tocoferol sintético (TS)	0.1	1000
D alfa tocoferol acetato (TN)	0.2	2000
BHA	0.02	200
BHT	0.02	200
TBHQ	0.02	200
Proxil	0.03	300
Proxil	0.05	500
Tocoferol sintético y lecitina de huevo (LH)	0.1 y 3	
Tocoferol sintético y lecitina de huevo (LH)	0.1 y 5	
Tocoferol natural y lecitina de soya (LH)	0.1 y 5	
Tocoferol sintético y lecitina de soya (LH)	0.1 y 5	

Fuente: Castillo L., 2012

2.8. Métodos empleados para determinar la oxidación de los aceites

En la industria de alimentos se ha usado una serie de métodos para analizar diversos intermedios o productos de la oxidación, estos varían desde las evaluaciones sensoriales sencillas, que son poco precisas y muy subjetivas, hasta algunos análisis químicos y físicos que requieren de instrumentos complejos, más reproducibles y sensibles que cuantifican objetivamente la intensidad de la oxidación. (Castillo J., 2007).

2.8.1. Valor del Peróxido (VP)

Éste es el método clásico (PV, AOCS Cd 8b-90) para medir la oxidación de un aceite, tiene el inconveniente que solo permite apreciar compuestos peroxidados que se forman en las fases iniciales de la oxidación, motivo por el cual los valores tienden a disminuir bruscamente si la rancidez se encuentra en un estado muy avanzado por lo que también tiene poco valor para el aceite de fritura ya que esta prueba es altamente sensible a las temperaturas y el PV obtenido sería más una indicación del proceso de enfriamiento y almacenamiento después del calentamiento que de los productos formados por efecto de la temperatura. (Gordon M. et. al., 2001).

En las primeras fases de la oxidación (periodo de inducción) la formación de peróxidos es lenta variando desde unas semanas a varios meses, de acuerdo a la clase de aceite, a

las condiciones de almacenamiento, al tipo y contenido natural o adicionado de antioxidantes (Nieblas M. et al., 2000). El método tradicional, se basa en la capacidad de los peróxidos, para oxidar el ion yoduro de KI y producir yodo que se valora con una solución estandarizada de $2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; también se puede emplear óxido ferroso y cuantificar el ion férrico formado, la cantidad de $2\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido es proporcionar a la cantidad de peróxidos presentes en la muestra (Hotchkiss P., 1997).

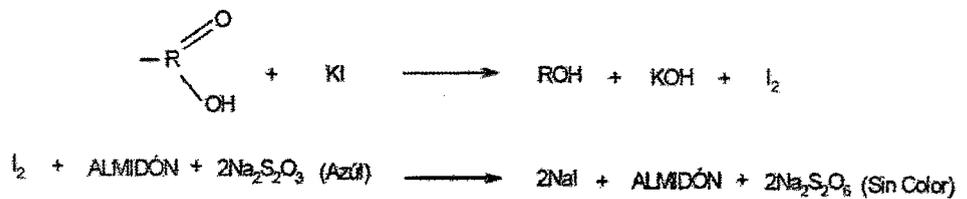


Figura 9: Determinación de los hidroperóxidos lipídicos.
Fuente: Castillo J., 2007

El ensayo oficial de la AOAC es el que más se emplea y el que generalmente se usa para efectos comparativos (Badui S., 1996).

Este método es útil para lípidos voluminosos, como los presentes en los alimentos, un PV > a 2 es un indicador de que el producto tiene un gran potencial de rancidez.

Una sola medida del contenido de peróxidos puede ser usada como un índice del estado oxidativo de la grasa, sólo si los peróxidos formados son lo bastante estables de modo que no

se descompongan después de la formación (Tian K. y Purnendu D., 1999).

Si bien el índice de peróxidos ha sido una medida corriente de la oxidación lipídica, su utilización se limita a las etapas iniciales de la reacción. Como los hidroperóxidos sufren reacciones posteriores de descomposición, la historia oxidativa completa de la grasa no se revela en su índice de peróxidos; éste puede ser bajo porque el material es de buena calidad o porque se ha reducido por algún proceso, enmascarando su deterioro verdadero. (Grompone M., 1991).

2.8.2. Valor de la p- Anisidina (AOCS CD 18-90)

Los aldehídos son productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. Este valor mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado dando lugar a diferentes tipos de compuestos carbonílicos. Conjuntamente con los niveles de peróxido presentes, el perfil de la degradación pasada y futura, un aceite puede ser mapeado o graficado especialmente en aceites procesados por segunda vez para reducir el nivel de los ácidos grasos libres. (Navas P., 2010)

La prueba del índice de p-anisidina es particularmente útil para aceites con bajos índices de peróxidos.

El principio de éste método radica en la reacción de condensación entre los dienales conjugados o 2-aquenales de la muestra y el reactivo de p-anisidina (p-metoxianilina) en solución de iso-octano seguido por determinación espectrofotométrica a 350 nm (Miller., 2001).

La intensidad del color de los productos amarillentos formados depende no solo de la cantidad de compuestos aldehídicos presentes sino también de su estructura: un doble enlace en la cadena carbona, conjugado con el doble enlace del carbonilo, aumenta la absorbancia molar (Nieblas M. et al., 2001).

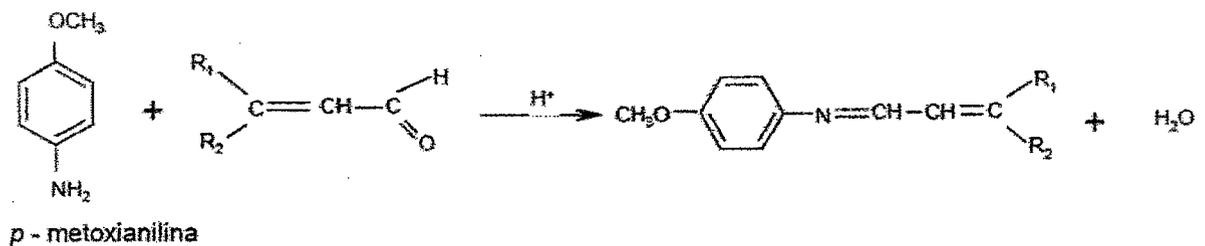


Figura 10: reacción de los compuestos aldehídos con el reactivo p-anisidina.
Fuente: Castillo J., 2007

Los aldehídos son productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. Este ensayo mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado. Los aceites con buena estabilidad oxidativa deberán tener valores de p-Anisidina no mayores de 2 mmol/kg. (Nieblas M. et al., 2001).

2.8.3. Índice de acidez

En general el índice de acidez es una medida de la cantidad de cadenas de ácido graso que han sido hidrolizadas desde la estructura básica del glicerol, representa el número de KOH necesarios para saponificar los ácidos grasos libres de una grasa y se expresa generalmente como porcentaje de ácidos grasos calculados en términos del ácido oleico (Badui S., 1996).

La medida de los ácidos grasos libres permite evaluar el estado general de enranciamiento de un alimento ya que usualmente el enranciamiento hidrolítico acompaña el enranciamiento oxidativo.

Los índices descritos anteriormente, pueden estar relacionados con los tres estados de oxidación como se muestra en la Figura 11 (Badui S., 1996).

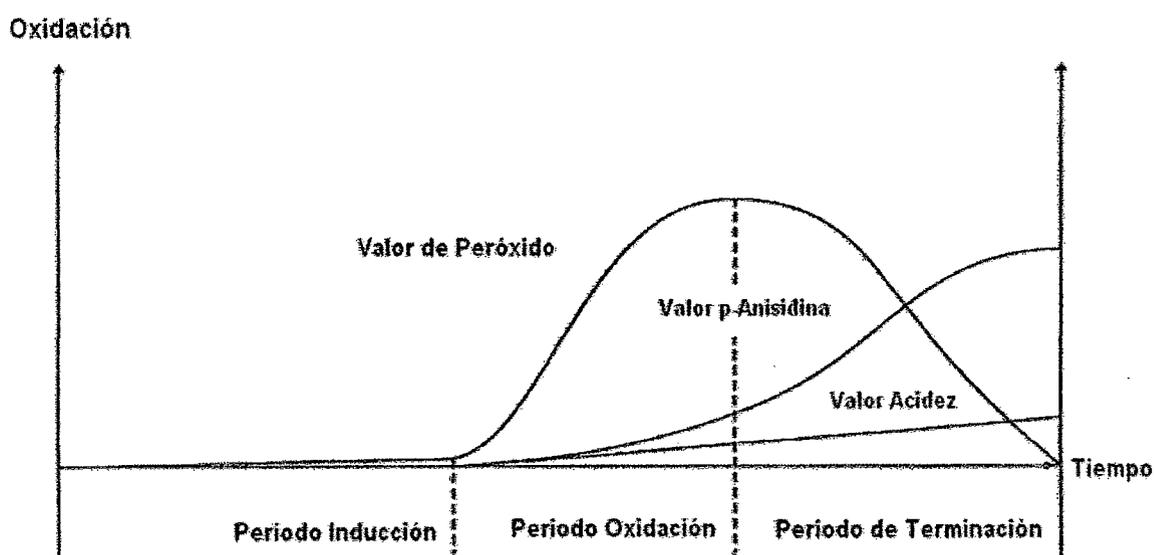


Figura 11: Estados de la oxidación lipídica
Fuente: Castillo J., 2007

2.8.4. Índice de yodo

Los peróxidos lipídicos son capaces de oxidar el ion yoduro (I^-) a yodo (I_2), que puede determinarse con una valoración volumétrica con tiosulfato de sodio. Este método es útil para lípidos voluminosos, como los presentes en los alimentos (Moreno y Larrauri., 1998). El yodo se adiciona a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados cuantitativamente bajo condiciones controladas. En esto se basa químicamente la determinación del índice de yodo, el cual se define como: "El número de gramos de yodo absorbidos por 100 g de aceite o grasa".

Las reacciones de titulación del yodo son las siguientes (Bernal I., 1994):

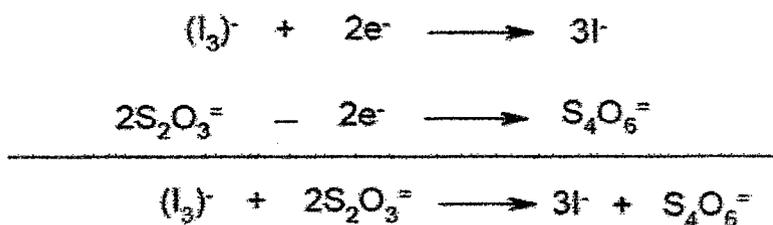


Figura 12: Reacciones de titulación del yodo con tiosulfato.
Fuente: Castillo J., 2007

2.8.5. Índice de estabilidad oxidativa

El índice de estabilidad de los aceites u oxidación inducida, permite determinar la estabilidad oxidativa automáticamente bajo condiciones de temperatura y tiempo estandarizado. Fue desarrollado por Hadorn y Zurcher, se fundamenta en el

hecho de que la mayoría de los productos volátiles de bajo peso molecular formados en la descomposición de los hidroperóxidos corresponden a ácido fórmico (Daniels R. et al., 2006).

La estabilidad oxidativa se define como la resistencia de una matriz lipídica a la oxidación por efecto de la temperatura, luz, oxígeno, presencia de metales etc., lo que genera el deterioro de un aceite o grasa en un periodo de tiempo razonablemente corto (Frankel, 1998).

El estado oxidativo del producto, el cual medido por los índices mencionados, indica su situación oxidativa actual y que depende de las condiciones de manejo, almacenamiento y procesamiento de las materias primas y productos intermediarios y finales, en suma de la historia del producto, más no proporciona ninguna información acerca de su posible estabilidad. Cuando se trata de estabilidad, en realidad estamos queriendo estimar su comportamiento futuro, donde no solamente la historia del producto está implicada, sino también su composición química, es decir la presencia o ausencia de antioxidantes o pro-oxidantes, la cantidad de ácidos grasos insaturados y su tipo, etc., factores de vital importancia en la estabilidad de un aceite o grasa. (Barrera D., 1993).

A las temperaturas del ensayo, el ácido fórmico es arrastrado por la corriente de aire y se disuelve en agua fría, provocando un aumento de conductividad en la misma. Este cambio de conductividad permite definir el periodo de inducción del aceite analizado. (Moreno C., 1998).

El periodo de inducción se define como el tiempo necesario para llegar al punto de inflexión de la gráfica que representa la conductividad en función del tiempo. El tiempo de inflexión queda por tanto definido como el punto de intersección de las tangentes a las dos ramas de la gráfica.

Se establece que la mejor estabilidad oxidativa para una muestra de aceite, esta relaciona con el tiempo de inducción más largo. (Moreno C., 1998).

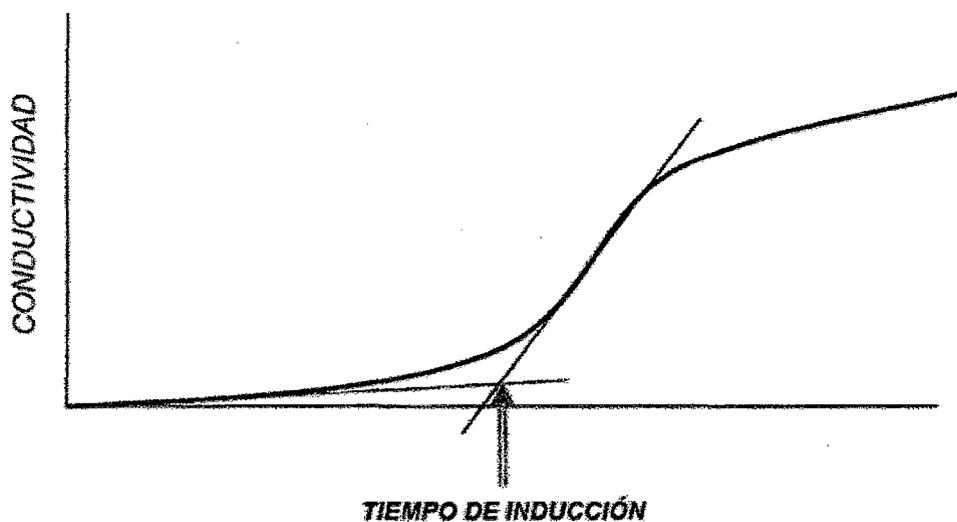


Figura 13: Tiempo de inducción determinado por el Rancimat.
Fuente: Castillo J., 2007

2.9. Método Rancimat

El método rancimat, incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92), es la prueba automatizada del AOM, que mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. El producto de desdoblamiento, que es el ácido fórmico, es conducido hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs Tiempo. (Navas P., 2010)

3. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad del Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa; Nuevo Chimbote.

3.1. Materiales, equipos e instrumentos

3.1.1. Materiales

3.1.1.1. Materia Prima

El Aceite de pescado crudo corresponde a la pesca industrial de la zona de Coishco, provincia del Santa, departamento de Ancash. Muestra proporcionada por la empresa Hayduk S.A., correspondiente al aceite de superficie del tanque de almacenamiento, procedente de la captura de diferentes especies principalmente de anchoveta. Color amarillo oscuro, olor y sabor característicos del aceite de pescado.

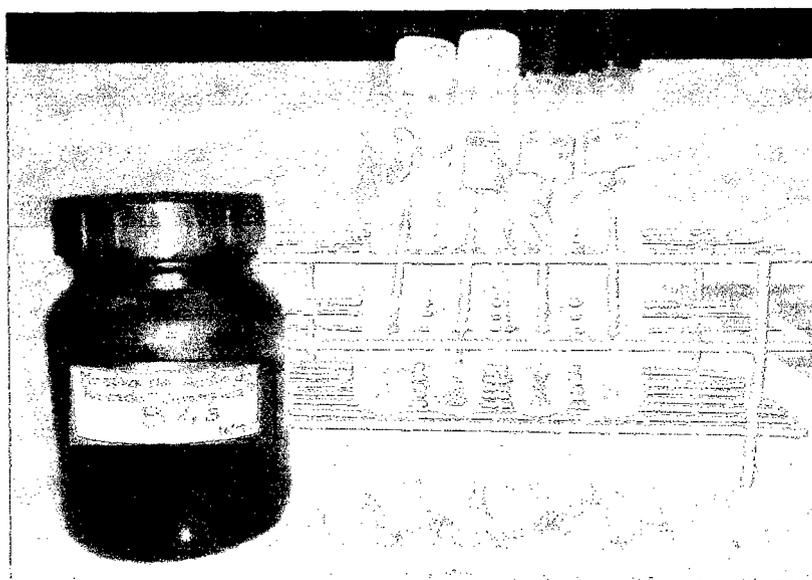


Figura 14: Muestra de aceite de pescado crudo.

3.1.1.2. Antioxidantes

- ✓ Antioxidantes
- ✓ A1 (Etoxiquina)
- ✓ A2 (Tocoferoles mixtos)
- ✓ A3 (mix de tocoferoles naturales, lecitina, extracto de romero).
- ✓ A4 (alfa, delta, beta, gamma tocoferol).
- ✓ A5 (butilhidroxitolueno, BHT).

3.1.1.3. Reactivos

- ✓ Nitrógeno (gas)
- ✓ Alcohol (96%)
- ✓ Hidróxido de Sodio
- ✓ Fenolftaleína
- ✓ Cloroformo, grado HPLC.
- ✓ Isooctano, grado HPLC.
- ✓ P-anisidina, Merck.
- ✓ Ácido Acético, grado HPLC.
- ✓ Reactivo de WIJS, Merck.

3.1.1.4. Materiales de vidrio

- ✓ Probetas (50 y 100ml)
- ✓ Picnómetro
- ✓ Vasos precipitados
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Tubos de centrifuga
- ✓ Pipetas de 2, 5, 10 ml

✓ Celdas

✓ Placas

3.1.1.5. Materiales de metálicos y otros

✓ Papel Aluminio.

✓ Papel toalla.

✓ Pinzas de metal y madera

✓ Gradilla para tubos de ensayo

✓ Peras de succión

3.1.2. Equipos e Instrumentos

- **Rancimat**

Marca: Metrohm

Modelo: 743

- **Centrifuga**

Marca: SIGMA

Modelo: 2- 16

Velocidad: 15 000 rpm

Motor: 1 HP eléctrico

- **Balanza**

Marca: Precisa

Modelo: 4200 C

Serie: 321LX

MAX: 4200 gr. MIN: 0.5gr.

e= 0,1 gr.

- **Balanza analítica**

Marca: Precisa

Modelo: 220 A

MAX: 220 gr. MIN: 0,01gr.

e= 0,001 gr.

- **Estufa**

Marca: POL –EKO APARATURA

Modelo: SLW115 TOPT

- **Espectrofotómetro**

Marca: Jasco LSE – 701

Modelo: V- 670 Spectrophotometer

- **Cromatografía de Gases.**

Modelo: GC 2010, con detector FID y ECD

Columna: Rt@-2560, para CIS/TRANS FAMES

Marca: Shimadzu

- **Vortex**

Modelo: V1 plus

Marca: Boeco – Germany

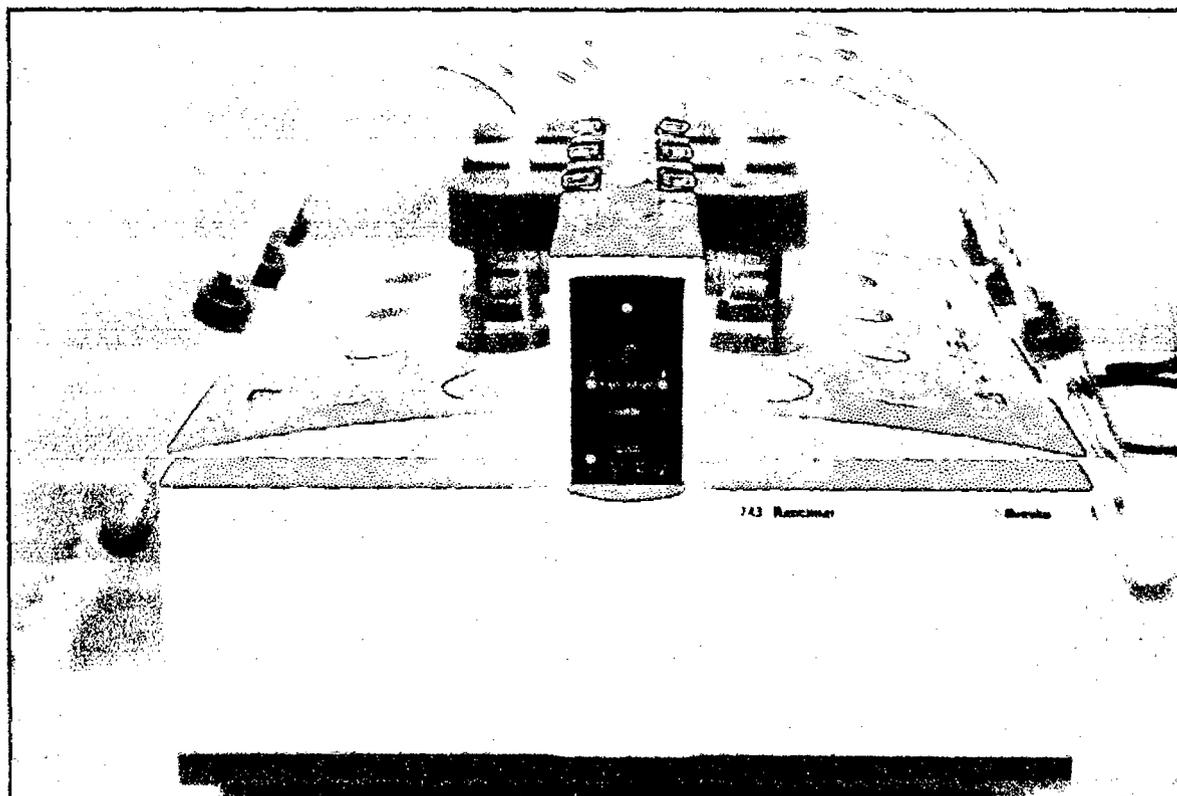


Figura 15: Equipo RANCIMAT METROHM 743

3.2. Metodología de Análisis

3.2.1. Análisis Fisicoquímicos

3.2.1.1. Humedad

El porcentaje de humedad en el aceite de pescado se determinó mediante el método Norma Mexicana NMX – F – 083 – 1986.

Basada en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa de la muestra deseada hasta masa constante en estufa de aire a 105°C.

3.2.1.2. Densidad

Se determinó la densidad del aceite de pescado crudo industrial mediante el método del picnómetro.

3.2.1.3. Acidez

Se determinó mediante el Método NTP 2009. 005 1968 (Revisada el 2011). Este método mide la cantidad de ácidos grasos libres en la materia grasa.

3.2.1.4. Índice de Peróxido

La determinación se realizó mediante el método de la AOAC 2001.11.

El índice de peróxido, es el método químico más común para determinar el grado de deterioro oxidativa

de las grasas y aceites, Los resultados se expresan como mili equivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite que producen la oxidación del yoduro a yodo en unas condiciones determinadas. En la reacción, que tiene lugar en medio ácido, se libera un mol de yodo por cada mol de oxígeno peroxídico. El yodo liberado se valora con una disolución de tiosulfato sódico utilizando almidón como indicador.

Procedimiento:

1. Pesar 5g de muestra grasa (o aceite) homogenizada en un Erlenmeyer de 250 ml con tapa de vidrio.
2. Añadir 30 ml de solución de ácido acético (HOAC-CHCL): cloroformo y agitar hasta que se disuelva.
3. Añadir 1 ml de solución saturada de KI, agitar vigorosamente.
4. agitar vigorosamente por 1 minuto.
5. Añadir 30 ml de agua destilada.
6. Titular con tiosulfato de sodio 0.1 N, agitando vigorosamente hasta que el color amarillo casi desaparezca.
7. Adicionar 1 ml de solución de almidón al 1 %. Continuar titulado hasta desaparición del color azul. Si

se gasta una cantidad menos a 0.5 ml de tiosulfato
repetir la determinación con tiosulfato 0.01N.

8. Hacer un blanco con los reactivos utilizados.

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{N \times V \times 56.1}{P}$$

Donde,

V es el volumen de disolución de tiosulfato empleado
en la valoración (mL)

N es la normalidad exacta de la disolución de tiosulfato
sódico empleada

P es el peso de la muestra (g).

3.2.1.5. Índice de Yodo

Según Método AOCS Cd 1d-92 (97)

PROCEDIMIENTO

1. Pesar 0.2g de muestra grasa (o aceite) homogenizada
en un Erlenmeyer de 250 ml.
2. Añadir 10 ml. de cloroformo y agitar hasta que se
disuelva.
3. Añadir 15 ml de WIJS.
4. Humedecer las tapas rápidamente con KI al 15%.
Agitar levemente.
5. Reposar 45 min. en oscuridad.
6. Añadir 10 ml. de KI al 15 %.
7. Añadir 50 ml. de agua destilada.

8. Titular con tiosulfato de sodio al 0.1 N (viraje de marrón a amarillo).
9. Añadir 1 ml. de almidón al 1%.
10. Titular con tiosulfato de sodio al 0.1 N. (viraje de azul a blanco).

$$IY = \frac{(B - M)ml \times N \times 12.65}{W}$$

B: gasto de tiosulfato de sodio (blanco).

M: gasto de tiosulfato de sodio muestra.

W: peso de aceite

3.2.1.6. Índice de Anisidina

La determinación se realizara mediante el método de AOCS – Cod. 18 – 90 que da cuenta de la presencia de aldehídos (principalmente 2-alquenes y 2,4-dienales) en el aceite, los cuales se consideran como productos secundarios de la oxidación de los mismos. El valor se determina espectrofotométricamente a una longitud de onda de 350nm.

Los hidroperóxidos no tienen sabor ni olor, pero estos se rompen rápidamente para formar compuestos secundarios, principalmente aldehídos, que presentan fuertes olores y sabores desagradables. El valor de p-anisidina reacciona con los compuestos aldehídos, originando productos de coloración amarilla que se cuantifican espectrofotométricamente a 350 nanómetros.

Procedimiento

1. Pesar 0.5g de muestra grasa (o aceite) homogenizada en una fiola de 25 ml.
2. aforar con isooctano, agitar para disolver y diluir.
3. extraer 5 ml de la muestra medir la absorbancia a 350 nanómetros en el espectrofotómetro. También medir el blanco con isooctano puro a 350 nanómetros.
4. Extraer 5 ml de la fiola y agregar 1 ml de anisidina, agitar fuertemente por 1 minuto, dejar reposar por 10 minutos y leer la absorbancia a 350 nanómetros, también medir el blanco, 5 ml de isooctano adicional 1 ml de anisidina y medir la absorbancia.

$$IAN = \frac{25 \times (1.2 \times Ab - As)}{W_{muestra}}$$

Donde

W: peso de la muestra

3.2.1.7. Determinación de Ácidos Grasos

La determinación se realizara mediante el método de la AOAC Método Oficial 991.39.

3.2.1.8. Índice de estabilidad oxidativa

Se utilizó el método AOCS Cd 12b-92 en el Metrohm Rancimat 743, el cual consta de las siguientes etapas:

Preparación de muestra

- Pesar aproximadamente (3.0 ± 0.1 g) de aceite para cada tubo de reacción.

Celda Conductimétrica Integrada

- Colocar los electrodos (lavados rigurosamente con agua destilada, luego con alcohol 98° y rociados con nitrógeno). La celda de medida de la conductividad está integrada en la tapa del recipiente de medida. Al colocar la tapa sobre el recipiente, la celda se sumerge en el agua y está inmediatamente en la posición correcta. Al mismo tiempo se produce el contacto con la electrónica del aparato.

Análisis Rancimat

Se realizó bajo las siguientes condiciones:

- Temperatura del bloque calefactor 80°, 90° y 100°C
- Flujo de aire: 10 L/h
- Volumen de agua destilada 60 ml.
- Conductividad de agua destilada 1.2 $\mu\text{s/cm}$.

3.2.2. Energía de Activación

La dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura termodinámica fue utilizada para la determinación de la energía de activación de las reacciones de oxidación en los aceites vegetales vírgenes estudiados. Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa y col, (1989), la adición de los radicales de oxígeno a los ácidos grasos se produce preferentemente en

los dobles enlaces entre los átomos de carbono, siguiendo cinéticas de primer orden. Se hace uso de la siguiente ecuación :

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T}$$

Donde:

OSI: Índice de Estabilidad Oxidativa (h).

T: Temperatura (°C).

E_a: Energía de Activación (KJ/mol).

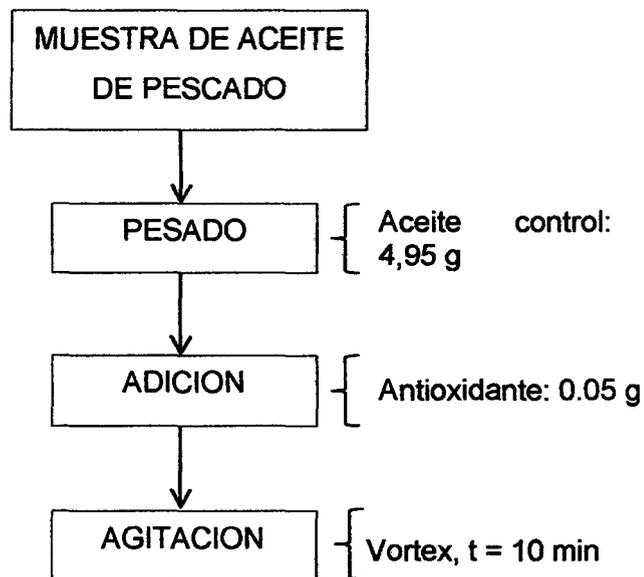
R: Constante ideal de los gases.

Z: Factor de Arrhenius.

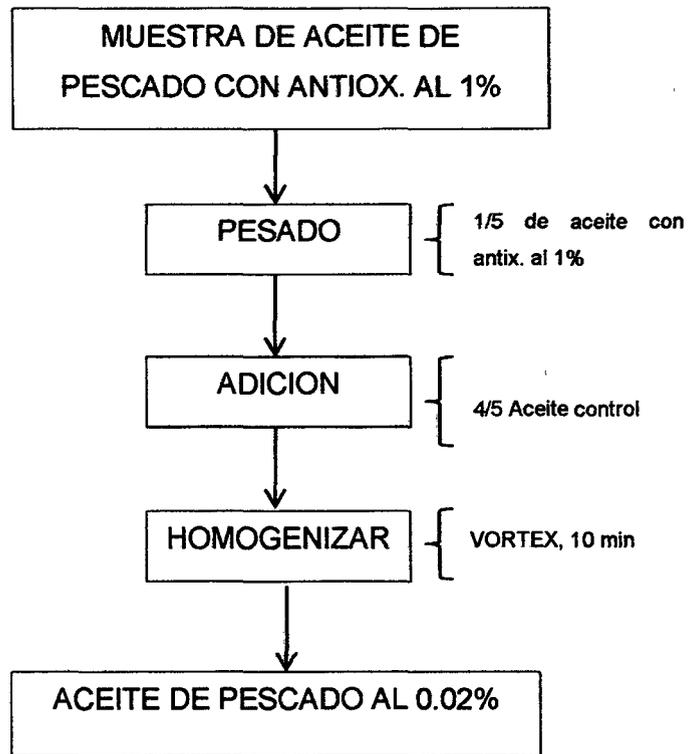
α: grado de transformación de moléculas insaturadas.

3.2.3. Adición del Antioxidante

3.2.3.1. Preparación de aceite de pescado con antioxidante al 1%

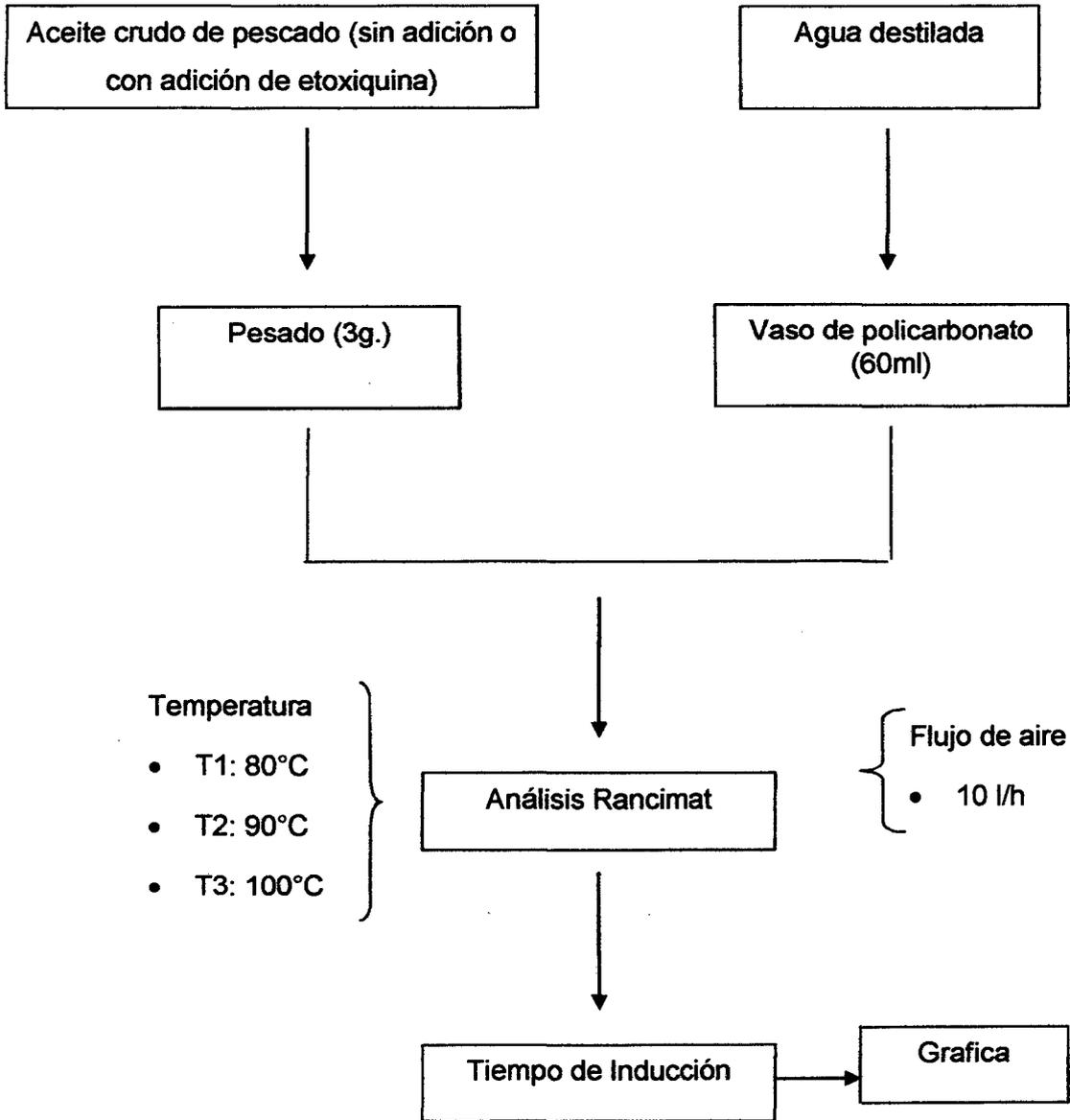


3.2.3.2. Preparación de aceite de pescado a 200 ppm



3.2.3.3. Análisis en el Rancimat de Aceite de Pescado

Diagrama de flujo para Análisis en el Rancimat del aceite de pescado crudo



3.3. Procedimiento

3.3.1. Recepción de la Materia Prima

La muestra de aceite de pescado crudo industrial y antioxidantes fueron almacenados en recipientes de vidrio ambar, bajo atmosfera de nitrógeno en refrigeración a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.3.2. Homogenización

La muestra se homogenizo, agitando fuertemente el envase por 5 minutos.

3.3.3. Dilución 1

Se procedió a preparar la muestra de aceite de pescado con antioxidante al 1%. Se agito durante 10 minutos a 2500 rpm haciendo uso del vortex.

3.3.4. Dilución 2

Se diluyó cinco veces, puesto que, en la primera dilución se obtuvo el aceite a 1000ppm de antioxidante. Se preparó 12 ml de aceite de pescado a 200 ppm según la formula ($C_1V_1=C_2V_2$), teniendo en cuenta la densidad del aceite de pescado crudo ($\rho=0.937 \text{ g/ml}$) y la concentración exacta de la primera dilución.

3.3.5. Pesado

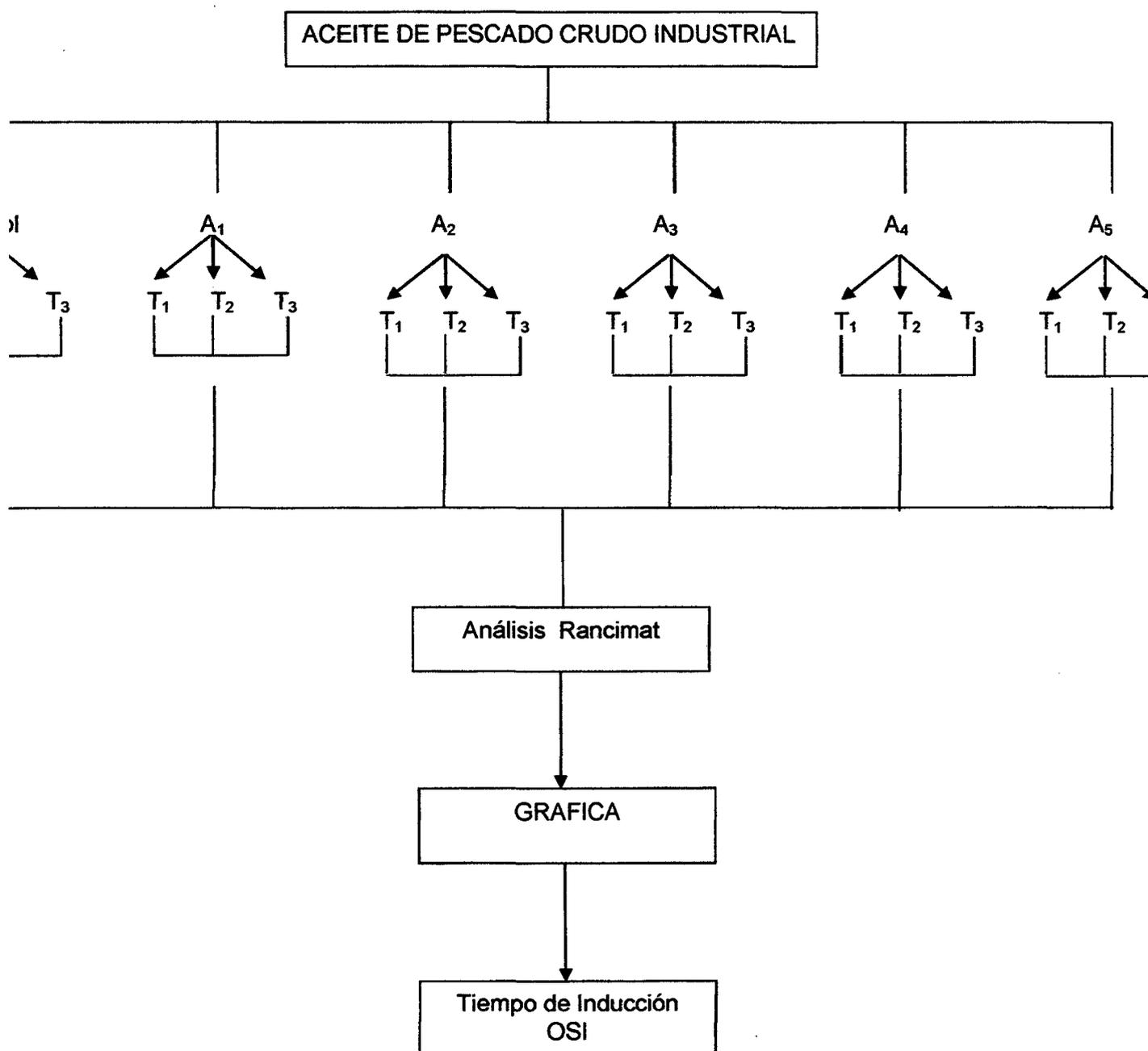
Se procedió a pesar $3 \pm 0.5\text{g}$. de aceite de pescado a 200 ppm para cada tubo de reacción.

3.3.6. Análisis Rancimat

El análisis se realizó en el Metrohm Rancimat 743, a temperaturas de 80°, 90° y 100°C y flujo de aire de 10 l/h.

3.4. Diseño Experimental

3.4.1. Flujo del diseño experimental del aceite de pescado crudo

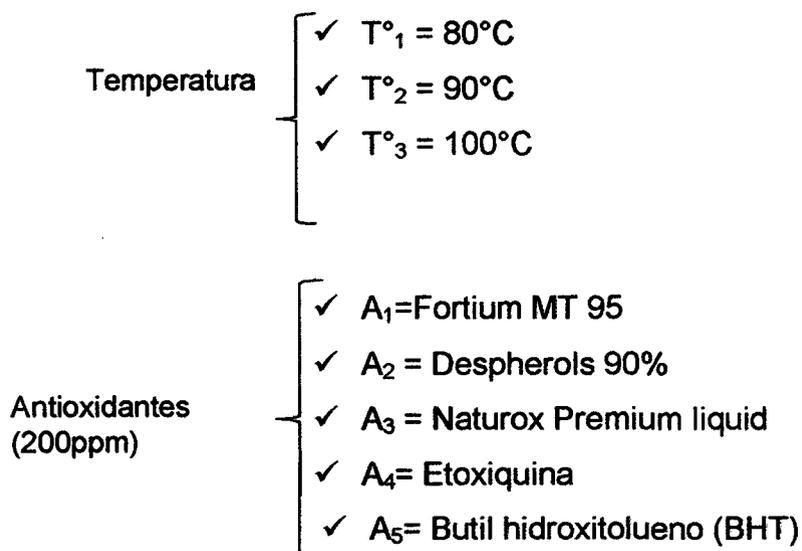


- Control: 0 ppm
- A: antioxidante 200 ppm
- T: temperatura

3.4.2. Variables Dependientes:

- Índice de estabilidad oxidativa (OSI).

3.4.3. Variables Independientes:



El diseño estadístico empleado será un “diseño de bloque completamente al azar (DBCA)” con arreglo factorial de 6x3 con 3 repeticiones, es decir 54 experiencias, cuyos resultados se evaluarán con el método estadístico que permitirá evaluar las variables de respuesta en función a las variables independientes.

Los resultados obtenidos según el diseño y esquema experimental serán controladas estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANVA)

para determinar si existe diferencias significativas entre los tratamientos la cual se realizara mediante prueba de significación de DUNCAN (prueba de comparación de medias) utilizando un nivel de significación del 5% dando un rango de seguridad del 95%.

DISEÑO DE BLOQUE COMPLETAMENTE AL AZAR CON ARREGLO FACTORIAL 6x3CON 3 REPETICIONES

Antioxidante Temperatura	Control	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
	T° ₁					
T° ₂						
T° ₃						

3.5. Diseño Estadístico

MODELO ADITIVO LINEAL:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ijk} : es el Índice de estabilidad oxidativa (OSI) obtenido con el i-antioxidante, j-ésima temperatura.

μ : es el efecto de la media general

α_i : es el efecto del i-ésimo antioxidante

β_j : es el efecto de la j-ésima temperatura.

$(\alpha\beta)_{ij}$: es el efecto de la interacción en el i-ésimo antioxidante, j-ésima temperatura.

ε_{ij} : es el efecto del error experimental en el i-ésimo antioxidante, j-ésima temperatura.

$p = 5$, antioxidante.

$q = 3$, temperatura.

$r = 2$, repetición

Cuadro ANVA para el Diseño de Bloques Completamente al Azar con arreglo factorial 3x4 con 2 repeticiones

Fuente de Variación	Grados de Libertad (gl)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios (CM)	F _c
Antioxidante	$p - 1$	SC(A)	$\frac{SC(A)}{gl(A)}$	$\frac{CM(A)}{CM(Error)}$
Temperatura	$q - 1$	SC(B)	$\frac{SC(B)}{gl(B)}$	$\frac{CM(B)}{CM(Error)}$
Efecto antioxidante y temperatura	$(p - 1)(q - 1)$	SC(AB)	$\frac{SC(AB)}{gl(AB)}$	$\frac{CM(AB)}{CM(Error)}$
Error Experimental	$(pq - 1)(b - 1)$	SC(Error)	$\frac{SC(Error)}{gl(Error)}$	
Total	$pqr - 1$	SC(Total)		

Para este modelo las hipótesis serán:

- Para el efecto principal del antioxidante :

$$H_0 : \alpha_i = 0 \quad i = 1,2,3$$

$$H_1 : \alpha_i \neq 0 \quad \text{para al menos algún } i$$

- Para el efecto principal de la temperatura :

$$H_0 : \beta_j = 0 \quad j = 1,2,3$$

$$H_1 : \beta_j \neq 0 \quad \text{para al menos algún } j$$

- Para el efecto principal del efecto del antioxidante y temperatura:

$$H_0 : (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad i = 1,2,3 ; j = 1,2,3$$

$$H_1 : (\alpha\beta)_{ij} \neq 0 \quad \text{para al menos algún } i , j$$

Estadístico de Prueba:

Para el efecto principal del antioxidante:

$$F_c = \frac{CM(A)}{CM(Error)} \approx F_{(gl(A), gl(Error))}$$

Para el efecto principal de la temperatura:

$$0 F_c = \frac{CM(B)}{CM(Error)} \approx F_{(gl(B), gl(Error))}$$

Para el efecto principal del antioxidante y temperatura:

$$F_c = \frac{CM(AB)}{CM(Error)} \approx F_{(g(AB), g(Error))}$$

Asimismo, de acuerdo a la conclusión y decisión del cuadro anterior, se procederá a realizar pruebas de significancia haciendo uso para ello, según sea conveniente, de la prueba de Duncan o Tukey.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

La muestra de aceite crudo de pescado analizada corresponde a obtenida de la pesca industrial (captura de varias especies marinas, principalmente anchoveta 90%), de la zona de Coishco, provincia del Santa, departamento de Ancash.

4.1. Perfil porcentual de ácidos grasos.

En el aceite de pescado, se ha encontrado relación de porcentajes %EPA-%DHA en Anchoa (*Engraulis ringens*) Chilena (10% - 11%), en pescado Arenque (*Clupea arengus*) Nórdico (8.1% - 7.8%) y túnidos Nacionales (11% - 11%) respectivamente. En general, son ricos en ácidos grasos omega-3 pero pobres en omega-6, particularmente su contenido en ácido linoleico es muy reducido <2% (FEDNA, 2014).

Valenzuela, B. et al 2012 mostraron porcentajes de EPA y DHA para aceite de jurel (14% y 11%) y aceite de anchoveta (11% y 10%) respectivamente, cuya captura, o producción (acuicultura) es común en Chile y Perú, principalmente.

IFFO, 2012 publicó las especificaciones de exportación para aceite de pescado del Perú, siendo el contenido porcentual de EPA (15-17%) y DHA (7-9%).

El aceite de pescado crudo es considerado un producto de consumo humano indirecto, es exportado a diversos países con especificaciones

de un porcentaje mínimo de 28% correspondiente a la suma de %EPA + %DHA (Ficha de Especificaciones de la empresa Hayduk S.A., 2014).

Especificaciones de exportación de aceite crudo de pescado 100% Anchoqueta (*Engraulis ringens*), muestran la suma de los porcentajes de EPA y DHA debe encontrarse entre los límites de (25-30%), y la relación de porcentajes en EPA y DHA de 18 y 12% respectivamente. (Tasa, 2014)

Del análisis cromatográfico realizado a la muestra de aceite, se encontraron los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga: ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6) y ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5), los valores se muestran en el cuadro 07.

Cuadro 7: Composición porcentual de ácidos grasos EPA y DHA en la muestra de aceite pescado crudo.

Ácido Graso	Tiempo Retención (min)	Concentración
Eicosapentanoico - EPA	53.642	11.389 %
Docosahexanoico - DHA	58.976	10.125 %
SUMA		21.514 %

Los resultados se expresan como la media aritmética (n=2)

Del cuadro 7, las concentraciones en porcentajes de EPA y DHA son de 11.389% y 10.125% respectivamente, la suma de ambos ácidos grasos es de 21.514%, valores que se ubican por debajo de las especificaciones de exportación de aceite de anchoqueta de las empresas

Hayduk y Tasa. Sin embargo, los resultados obtenidos son comparables valores encontrados en aceite de anchoveta 11% EPA y 10% DHA (Valenzuela, B. et al 2012) y según el perfil de ácidos grasos realizados al aceite de anchoveta con valores de 10.8% DHA y 10.4% EPA (FEDNA, 2014).

Por ello, ha de tenerse en cuenta en la composición de ácidos grasos de aceites industriales, el perfil depende de la época de captura, el nivel y tipo de alimentación, la especie dominante en la captura, las condiciones del proceso de extracción del aceite.

Un punto a considerar junto al perfil porcentual de los ácidos grasos presentes en la muestra en estudio es que a diferencia de los aceites vegetales, carecen de protección natural y son ricos en omega-3, mostrando gran susceptibilidad a sufrir deterioro oxidativo tanto primario como secundario. Esto se debe a la presencia de numerosos dobles enlaces de estructura metileno interrumpida (activos) distribuidos en la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos de cadena larga con 20 a 22 átomos de carbono, los cuales son blanco de ataque de especies reactivas del oxígeno (Boran et al. 2006).

Por otro lado, un bajo porcentaje de EPA y DHA representaría estados de deterioro normal y aceptable para este tipo de aceite considerando que son muy inestables debido a la presencia de sus dobles enlaces.

4.2. Características Fisicoquímicas del aceite pescado crudo de superficie.

En el cuadro 8 se presentan los valores de los análisis fisicoquímicos realizados al aceite de pescado en estudio. La acidez libre referida como ácido oleico (3.2%) se ubicó dentro de los límites para estándares de calidad de aceites crudos de pescado (1-7%), señalados por Bimbo (1999), menor a 4% según especificaciones de exportación de aceite de pescado (TASA S.A, 2014).

El índice de peróxidos es un indicativo del avance de la oxidación lipídica y de acuerdo a las consideraciones indicadas por Aquerreta-Apesteguía (2000), en el aceite en estudio se encontró 3.6 meq O₂/kg, valor que se encuentra dentro de los límites establecidos (< 5 meq/kg) por Valenzuela, B. et al (2012), de igual manera para las especificaciones de exportación (< 5 meq/kg) por la empresa Tasa S.A. (2014), sin embargo se encuentra por debajo de las especificaciones (5-7%) de aceite de pescado para la exportación según la empresa Hayduk S.A. (2014). De los resultados %acidez y índice de peróxido obtenidos en el aceite de pescado, se podría predecir que la muestra aparentemente no ha iniciado su proceso de oxidación, considerando que sus valores se encuentran dentro de lo establecido.

Cuadro 8. Calidad Inicial del aceite pescado crudo de superficie.

Parámetro	Valor
Densidad (g/mL)	0.927±0.01
Humedad (%)	0.63 ± 0.05
Índice de Acidez (%) **	3.167 ±0.05
Índice de Refracción	1.479 ± 0.01
Índice de Peróxido (Meq O ₂ / Kg)	3.58 ± 0.02
Índice de yodo (cg I ₂ /g)	145.8 ± 0.62
Índice de Anisidina	20.6 ± 0.26
TOTOX(Meq O ₂ / Kg)	27.760 ± 0.24

*Valores promedios de tres repeticiones ± desviación estándar

** Referido a g de ácido oleico/100g aceite

Los resultados se expresan como la media aritmética ± su desviación estándar (n=3)

Con respecto al valor de p-anisidina y TOTOX, en algunos países se establecieron valores máximos para estos dos parámetros. La "International Fish Oil Standards" (IFOS, 2009) con sede en Canadá, indica para aceite de pescado de consumo humano un valor máximo de p-anisidina y TOTOX de 15 y 19.5 respectivamente. El "Council for Responsible Nutrition" (CNR, 2009), con sede en Estados Unidos, señala un valor máximo de p-anisidina y TOTOX de 20 y 26 respectivamente. La "Marine ingredients organization" (IFFO, 2009) y (Hayduk, 2014) indican especificaciones de TOTOX (20-35%), Índice de Anisidina (<25), para aceites crudo de pescado provenientes del Perú.

La muestra en estudio, representa al aceite de pescado crudo de consumo humano indirecto, cuyos resultados obtenidos en TOTOX (27.76 meq O₂/ Kg) y Índice de Anisidina (20.6) son comparables con las especificaciones de la IFFO, (2009) y Hayduk,(2014). Sin embargo, según las especificaciones de exportación del aceite por la CNR. (2009), ambos valores se encuentran ligeramente por encima de los valores máximos permitidos, indicando estados de deterioro normal y aceptable para este tipo de aceite. Por otro lado, los valores obtenidos para Totox y Índice de Anisidina en la muestra en estudio, no son comparables con las especificaciones de la IFOS, (2009), debido a que corresponden a diferentes tipos de aceites, el aceite de pescado de consumo humano directo tiene valores inferiores al aceite de pescado de consumo indirecto.

El índice de refracción para el aceite pescado en estudio fue de 1.479 a 25°C, medido en el refractómetro (ABBE), dicho valor se encuentra ligeramente por encima de los límites (1,3- 1,4) a 25°C para aceite de pescado (Paucar, 2014). Se han encontrado a 25°C, índices de refracción de 1.481 y densidad (0.925 g/ml) en aceite de Bacalo (Bailey, 1961).

La "Marine ingredients organization" (IFFO, 2009), publicó especificaciones <1% respecto al %humedad para aceite de pescado de exportación, coincidiendo con las especificaciones de las empresas (Hayduk, 2014) y (Tasa, 2014). La muestra en estudio obtuvo 0.63% de

humedad, valor que se encuentra dentro del rango de las especificaciones por las empresas citadas anteriormente.

El índice de yodo obtenido en el aceite pescado (145.8 cg I₂/g) resultó inferior al valor mínimo indicado por Corbella (1999) para aceite de pescado (180-200 cg I₂/g); del mismo modo para las especificaciones (160-180 cg I₂/g) por la IFFO(2012), y la especificación de aceite de pescado (160-200 cg I₂/g) de exportación por la empresa Hayduk S.A (2014), sin embargo, se encuentra dentro de los límites considerados por Bimbo (1999) para el aceite de algunas especies de peces de interés comercial como el capelán (95-160 cg I₂/g), arenque (115-160 cg I₂/g) y el sábalo (120-200 cg I₂/g).

Teniendo en cuenta que, el resultado del IY obtenido (145.8 cg I₂/g) es inferior a las especificaciones antes mencionadas, se deduce que hay un bajo grado de insaturaciones presentes en la muestra, esto puede ser atribuido al deterioro normal y aceptable que ha sufrido la muestra antes de llegar a nuestro laboratorio, esta probabilidad se engrandece con el bajo perfil de ácidos EPA y DHA obtenidos, el empleo de reactivos de alta pureza para llevar a cabo los análisis y los correctos procedimientos llevados a cabo según las normas.

Tiempo de Inducción del aceite de pescado crudo de superficie

Se obtuvo tiempos de inducción empleando el método Rancimat descrito por la norma AOCS Cd 12b-92 (1993). En el presente trabajo se utilizó un flujo de aire constante de 10L/min y temperaturas de 80, 90 y 100°C, ya que a la temperatura de 110°C y flujo de 20L/h que emplea el método original, los aceites marinos se oxidan rápidamente y además no permite establecer diferencias entre el aceite control y el adicionado de antioxidantes (Mendez et. al. 2010). Los resultados obtenidos se aprecian en el cuadro 9.

Cuadro 9. Tiempo de Inducción del aceite de pescado crudo de superficie sin adición y con antioxidante al 0.02%.

N°	MUESTRA	Periodo de Inducción (horas)		
		80°C	90°C	100°C
T1	CONTROL	6.65 ± 0.06	3.29 ± 0.09	1.61 ± 0.05
T2	ACEITE + Etoxiquina	13.83 ± 0.11	6.15 ± 0.12	3.13 ± 0.06
T3	ACEITE + Tocoferoles mixtos	9.97 ± 0.06	4.78 ± 0.18	2.45 ± 0.16
	ACEITE + aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero.			
T4	ACEITE + Alfa, Delta, Beta y Gama tocoferol.	7.35 ± 0.09	3.56 ± 0.03	1.85 ± 0.09
T5	ACEITE + BHT	7.04 ± 0.03	3.47 ± 0.08	1.77 ± 0.03
T6		7.74 ± 0.08	3.81 ± 0.07	1.89 ± 0.08

(*) Rancimat 743, Flujo de aire 10L/h, 3g muestra, 200ppm antioxidante.

Se cuenta con datos referenciales en ensayos realizados al aceite del hígado de bacalao a flujo de aire de 10L/h y temperaturas de 80 y 90°C cuyos tiempos de inducción fueron 4.22 y 1.97h respectivamente (García et. al 2013), asimismo se determinó el Tiempo de inducción (5.4h) al aceite de hígado de merluza en condiciones de 8.3L/h y 70°C (Rodríguez et. al 1993). Tiempos de inducción para aceite de salmón

(36.4 h) y aceites de pescado procedentes de la pesca industrial (18.9 h y 11.7 h) determinados a 60°C y 20L/h (Méndez et. al 2010), se explicaría las diferencia en la estabilidad al tipo de materias primas empleadas en la dieta de engorde que reciben los salmones en cautiverio (Watanabe et. al 1981) y la alimentación natural de los peces, basada en algas y placton, fuentes importantes de tocoferoles (Abd El-Baky et. al 2004). Del cuadro 9, el tiempo de inducción para el aceite de pescado control-sin adición de antioxidante fue de (6.65h a 80°C, 3.29h a 90°C y 1.61h a 100°C), valores que indican una alta estabilidad frente al proceso oxidativo, puesto que no poseemos referencias en las mismas condiciones realizadas en este trabajo, se asume que, de realizarse a temperaturas de 60°C se obtendrían TI comparables con la las muestras de aceites procedentes de la pesca industrial anteriormente citadas por Méndez et. al 2010.

Del cuadro 9 se encontró que la adición de etoxiquina (componentes, etoxiquin, dímero y trímeros de etoxiquina, parafenetidina) fue la que produjo la mejor protección al aceite, con tiempos de inducción de (13.83, 6.15, 3.13h para 80, 90 y 100°C respectivamente). El antioxidante natural del T3 mostró tiempos de inducción elevados de (9.97, 4.78, 2.45h para 80, 90 y 100°C respectivamente) en comparación con los otros antioxidantes naturales(T3 y T4) , pero definitivamente tiempos de inducción menores a los ensayados con el antioxidante sintético Etoxiquina. Los muestras con antioxidantes naturales(T4 y T5) y la muestra con antioxidante BHT (T6), dieron tiempos de inducción

bastantes bajos, estadísticamente diferentes a los ensayados en las muestras(T2 y T3), pero absolutamente parecidos entre ellos. De estos resultados presentados se puede concluir que se obtuvo una buena protección al deterioro oxidativo del aceite de pescado, al emplearse el antioxidante sintético Etoxiquina(T2) y el antioxidante natural basado en tocoferoles mixtos.

Resultados encontrados en estudios que adicionaron extracto de romero (1000ppm) a aceite de sardina a 40°C mostraron una efectividad mayor con respecto al uso de BHT(Pizzocaro et al. 1985), y este comportamiento se presentó cuando se adicionó extracto de té verde sin clorofila a aceites marinos a 65°C, observándose un importante efecto frente al deterioro oxidativo (Wanasundara et al. 1998), con ello se corrobora la baja efectividad del Bht, causando por su volatilización, siendo en muchos casos preparados naturales utilizados en altas concentraciones quienes muestran mayor eficiencia antioxidante a altas temperaturas.

Se observó que la adición de cinco antioxidantes al aceite en estudio, presentaron diferencias significativas en el TI ($p < 0,05$) en relación al aceite control, lo cual indicó que, efectivamente se logró una protección importante en la estabilidad oxidativa del aceite y demostró que los antioxidantes sintéticos siempre son más eficientes que los naturales a bajas concentraciones.

cuando se agregaron los compuestos puros a la misma concentración (Rodríguez et al. 1993). Dicha mezcla no se consideró en el proyecto de trabajo, pero se realizó independientemente a ello, corroborando los resultados obtenidos para el aceite de merluza, esto es posible a la volatilización de los antioxidantes diluidos en alcohol al ser sometidos a altas temperaturas del Rancimat(80, 90 y 100°C).

Generalmente la constante de velocidad de reacción acrecienta con un incremento de la temperatura. (Labuza T., 2000 citado por Villanueva et al. 2003). La temperatura, aparte de afectar fuertemente a las constantes de velocidad de las reacciones, es el único factor que, la mayoría de las veces, le es impuesto externamente al alimento y no puede ser controlado por un envase apropiado (Villanueva et al. 2003), en mención a lo citado se observa en el Grafico 01, como el tiempo de inducción se ve a la mitad cuando pasa de 80 a 90°C para todos los tratamientos.

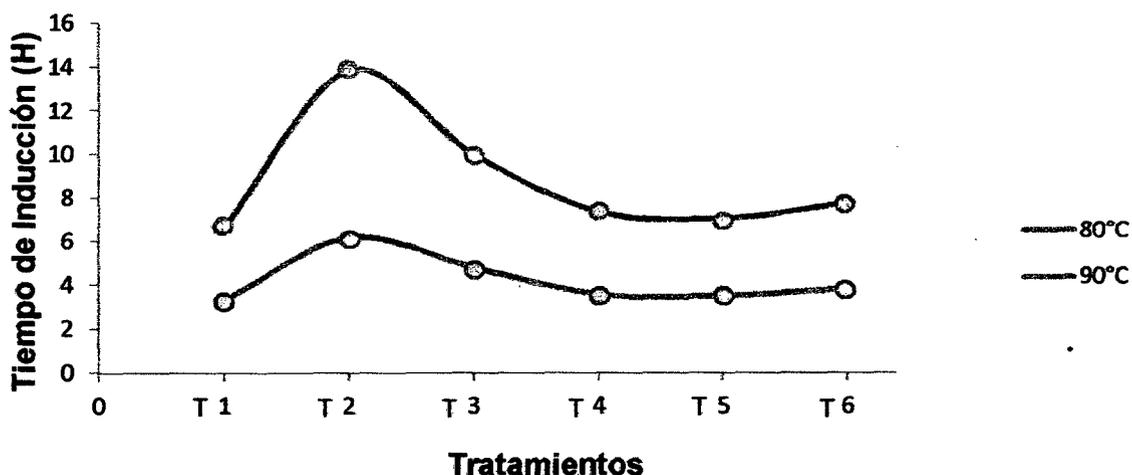


Grafico 01. Tiempos de Inducción de todos los tratamientos a 80°C y 90°C.

Del grafido 01, se evidencia que la temperatura ejerció el efecto más importante sobre los tiempos de Inducción en el aceite de pescado, lo cual era de esperarse ya que es conocido que la velocidad de las reacciones químicas tiende a duplicarse por cada 10 °C de aumento de la temperatura a la cual ellas ocurren(Navas P., 2010), este comportamiento podría atribuirse a la aceleración producida en la descomposición de hidroperóxidos de lípidos (Frankel, 2005). Además del grafico 2 se puede observar que la muestra control presenta el menor tiempo de inducción (6.65h y 3.29h) a temperaturas de 80 y 90°C respectivamente, de forma contraria resulta para la muestra con etoxiquina quien muestra la mayor protección oxidativa al aceite, con tiempos de inducción(13.83 y 6.15h) muy elevados con respecto al control.

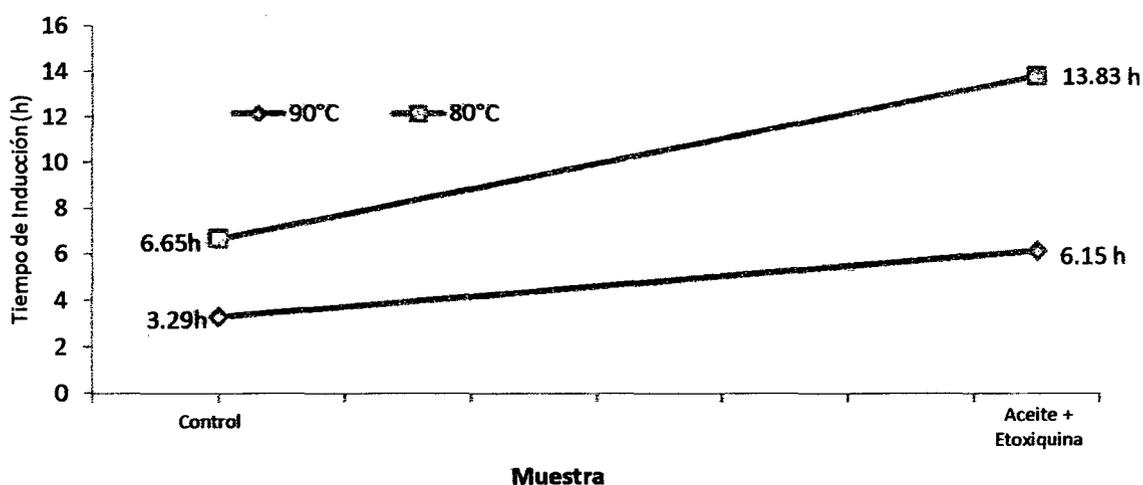


Grafico 02. Tiempos de Inducción del aceite pescado sin antioxidante (CONTROL) y con antioxidante Etoxiquina, a 80°C y 90°C.

Del gráfico 02 se corrobora el efecto protector del antioxidante Etoxiquina a temperaturas de 80 y 90°C con tiempos de inducción que se duplican respecto al aceite control. Se ha demostrado la alta susceptibilidad del aceite de pescado al deterioro oxidativo. Los procesos autooxidativos ocasionan la destrucción de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) principalmente EPA y DHA con la subsecuente reducción del valor nutricional de las materias primas.(Landines, M. et al 2009). La temperatura es un factor que favorece los procesos autooxidativos de los ácidos grasos en materias primas lipídicas. La temperatura de almacenamiento del aceite de pescado es un factor crítico (Boran et al. 2002). Sin embargo, el empleo de antioxidantes, ayuda a retardar estos procesos, generando una protección ante la oxidación, de tal forma que según los resultados obtenidos en este trabajo el antioxidante etoxiquina con una concentración de 200ppm prolonga la vida útil del aceite de pescado el doble de tiempo.

4.4. Antioxidantes y su mecanismo de acción.

La acción antioxidante del BHT es similar a la de la vitamina E: dona eficientemente un átomo de hidrógeno a un radical peroxi o alcohoxi, interfiriendo con la propagación de la peroxidación lipídica (López, 1996), sin embargo en este estudio la eficiencia del antioxidante en mención no fue relevante puesto que al realizar la mezcla de antioxidante con aceite es necesario diluir el BHT en alcohol, posteriormente sometido a la

termoxidación (condiciones del Rancimat) la alta temperatura favorece la volatilización del BHT produciendo su baja eficiencia antioxidante.

Rajalakshmi y Narasimhan, (1996) mencionan que la actividad de un antioxidante se incrementa con la sustitución con grupos dadores de electrones, dentro de ellos, los tocoferoles, BHT, BHA. Es importante resaltar que, por muy alta que sea la eficiencia del antioxidante como dador de electrones (p.e. BHT) al ser sometido a la termoxidación en el Rancimat, este se volatilizará produciendo una baja efectividad como se demostró en este estudio.

El antioxidante cede átomos de hidrógeno o electrones a radicales libres(-R), peróxidos(ROO-), o alguna especie oxidante (aquellos producidos durante la primera etapa de oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en el aceite de pescado) convirtiéndolos en productos más estables. (Rojano et al. 2008). Los antioxidantes se convierten en radicales mucho menos reactivos debido a su capacidad de estabilizar por deslocalización el electrón desapareado sobre su estructura (Yanishlieva y Marinova, 2001). De las referencias citadas, se explica como llevaron a cabo el mecanismo de protección los cinco antioxidantes a la muestra aceite en estudio. Sin embargo, la muestra en estudio antes de llegar al laboratorio, se encontraba almacenada en la empresa Hayduk, esto explicaría el ligero deterioro oxidativo que demuestran los análisis fisicoquímicos, sin embargo los antioxidantes fueron efectivos debido a que se adicionaron en las primeras etapas de

iniciación de la oxidación, cuando todavía la etapa de propagación no era significativa.

4.5. Efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo de superficie.

El método Rancimat, aplicado en aceites marinos, emplea un flujo de aire de 20L/h y una temperatura de 110°C para aceites marinos recién extraídos sin haber iniciado su proceso de oxidación(Méndez, C. et al 2010). Sin embargo la muestra de aceite de pescado crudo de superficie, extraída de la pesca industrial fue añeja, es decir estuvo alrededor de 6 meses en el tanque de almacenamiento a temperatura ambiente antes de llegar al laboratorio, oxidándose rápidamente a elevada temperatura y flujo de aire.

En el presente trabajo, consideró evaluar el tiempo de inducción con parámetros por debajo de lo establecido, con temperaturas de 80, 90 y 100°C y un flujo de aire de 10L/h, con el fin de conocer y establecer una diferencia entre el aceite control(sin antioxidante) y el aceite con antioxidantes. La eficiencia de los antioxidantes se muestran en la tabla 10.

Cuadro 10. Eficiencia de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado.

N°	MUESTRA	Eficiencia del Antioxidante			Promedio eficiencia
		80°C	90°C	100°C	
T1	ACEITE	1.0	1.0	1.0	1.00
T2	ACEITE + Etoxiquina	2.1	1.8	1.9	1.93
T3	ACEITE + Tocoferoles mixtos	1.5	1.5	1.5	1.49
T4	ACEITE + aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero.	1.11	1.08	1.15	1.11
T5	ACEITE + Alfa, Delta, Beta y Gama tocoferol.	1.06	1.05	1.10	1.07
T6	ACEITE + BHT	1.16	1.16	1.17	1.16

(*) 200ppm antioxidante, Flujo de aire 10L/h, 3g muestra.

Se decidió ensayar la muestra de aceite de pescado con cinco antioxidantes comerciales a la misma concentración (200ppm). Los tratamientos 2 y 6 corresponden a antioxidantes sintéticos y los Tratamientos 3, 4 y 5 a antioxidantes naturales. De los resultados, el

orden de eficiencia fue ETOXIQIINA > Tocoferoles mixtos > BHT > mix de tocoferoles, lecitina y extracto romero > δ , γ , β y α tocoferol.

La Etoxiquina aumentó 2.1 veces el periodo de inducción del aceite de pescado crudo de superficie a 80°C y aproximadamente 1.93 veces en promedio de las tres temperaturas (80, 90 y 100°C), mostrando mayor eficiencia de antioxidante.

La actividad antioxidante de los homólogos del tocoferol en grasas y aceites a menudo se presentan en el orden de delta tocoferol > gamma tocoferol > beta tocoferol > alfa tocoferol (Mukai et al., 2005; Wagner et al., 2004; Isnardy et al., 2003; Kulas y Ackman, 2001; Wagner et al., 2001). De los resultados del T3(tocoferoles mixtos), logró una protección importante en la estabilidad oxidativa del aceite con una eficiencia de 1.49 veces, valor que es significativamente diferente de los otros T4 y T5 que también corresponden a antioxidantes naturales. Las diferencias de eficiencia en antioxidantes naturales, es causado a los tipos de tocoferoles que conforman dicha mezcla, tal es el caso del T3, conformada por tocoferoles mixtos, que posiblemente en su mayoría son delta y gamma tocoferol. Los tratamientos (T4 y T5) empleando tocoferoles naturales mostraron valores de eficiencia de antioxidante muy bajos 1.11 y 1.04 veces respectivamente, valores significativamente no diferentes entre ellos pero significativamente diferente del tratamiento(T2), esto se explica en la mayor proporción de tocoferoles alfa y beta (tocoferoles de baja actividad antioxidante) y extracto de

romero presentes en las mezclas, además la eficacia antioxidante de homólogos de tocoferol no es consistente en todos los alimentos desde su actividad, depende de las condiciones experimentales, antioxidante, concentraciones, los métodos utilizados para evaluar la oxidación, y la naturaleza física del aceite (Burton y Ingold, 1981; Kulas et al., 2003; Frankel, 1998).

El gama tocoferol, a concentración de 200ppm es más efectivo que el BHA y BHT. En un ensayo realizado con mezcla de tocoferoles, ésta era tan eficaz como el TBHQ o el Galato de Propilo, y superior al BHT (Aoyama et al 1986). Al calentar el sustrato lipídico, la estabilidad de los tocoferoles es mayor que la de otros antioxidantes naturales o sintéticos, no son volátiles (como el BHA y BHT), no alteran el flavor (como el TBHQ) y no producen decoloraciones (como las lecitinas) cuando se calientan a altas temperaturas (Pongracz, 1988). Esto explica porque la eficiencia del antioxidante del T3 sobre el T6 (aceite + BHT), considerando que las muestras fueron calentadas a elevadas temperaturas (80, 90 y 100°C).

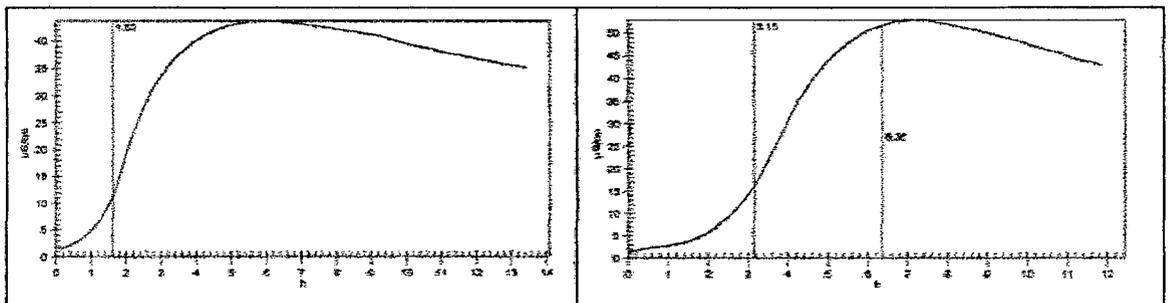
Es importante enfatizar el empleo de un antioxidante sintético puede ser más económico que uno natural, por ser tan efectivo a bajas concentraciones, sin embargo teniendo en cuenta el creciente uso de antioxidantes para estabilizar aceites de pescado en alimentos y productos farmacéuticos destinados a grupos humanos y animales, es

recomendable el empleo de antioxidantes naturales por no mostrar efectos secundarios a largo plazo (Méndez, C. et al 2010).

4.6. Curvas De Inducción

Liston et al. (1968) Explican que la curva de inducción para la oxidación de la mayoría de los aceites de pescado crudos resulta considerablemente aplanada, sin el pronunciado descenso que se aprecia al final del periodo de Inducción, aún con el empleo de antioxidantes, ya que la adición de estos después de terminado este periodo tiende a ser ineficaz en retardar el desarrollo de la Rancidez (Gordon, 2001).

Cuadro 11. Curvas de Inducción del Aceite de Pescado Crudo de Superficie, sin adición y con adición de antioxidante.



Metodo Rancimat, 100°C , 10 l/h, 3g muestra. Curvas de Inducción, muestra sin adición de antioxidante (izquierda), muestra con adición de etoxiquina 200ppm (derecha)

Esto ayuda a la suposición de que la muestra de aceite de pescado antes de llegar al laboratorio del Instituto de Investigación tecnológica Agroindustrial de la UNS se encontraba en la etapa de iniciación de la

oxidación, donde la etapa de propagación era insignificante. El valor del tiempo de inducción no toma en cuenta la historia de los productos, al igual que los índices de peróxidos: un bajo tiempo de inducción y/o un alto valor de peróxidos, puede deberse tanto al uso de materia prima añeja, como a un inadecuado almacenaje del mismo (Galleguillos, 1994).

4.7. Análisis de Varianza (ANOVA)

El cuadro 12, muestra los resultados en cuanto al índice de estabilidad oxidativa, donde los factores temperatura y antioxidante tienen diferencias altamente significativa a un nivel de significancia del 5%, ya que los valores P, resultaron ser menores a 0.05 ($p < 0.05$) y también menores a 0.01 ($p < 0.01$) estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el OSI con un 95,0% de nivel de confianza.

Cuadro 12. Análisis de Varianza (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Antioxidante	92,042	5	18,4084	20,66	0,0000
B:Temperatura	418,465	2	209,232	234,82	0,0000
RESIDUOS	40,988	46	0,891043		
TOTAL	551,495	53			
(CORREGIDO)					

García et al., (2013), estudiaron la influencia de los parámetros del Test Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de hígado de bacalao, utilizando como parámetros flujos de aire de (10, 15, 20 y 25 L/h), temperaturas de (60, 70, 80 y 90°C) y pesos de la muestra (3, 5, 7 y 9 g) , concluyendo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) que el valor de OSI es altamente dependiente de los efectos lineales de temperatura y flujo de aire, con probabilidades $p < 0,001$ y $p = 0,001$, respectivamente. Para el peso de muestra se obtuvo un valor $p=0.4338$, valor que se encuentra por encima de la probabilidad, interpretándose como no significativa la cantidad de muestra empleada.

4.7. Determinación de la energía de activación

En el cuadro 12 muestra los resultados de la energía de activación para diferentes tratamientos, situados entre (75.46 kJ/mol y 81.28 kJ/mol).

Cuadro 13: Determinación de la energía de activación

Tratamientos	Pendiente	R ²	Ea (kJ/mol)
Aceite +Control	9345.9	0.9996	75.46
Aceite +Etoxiquina	9793.8	0.9987	81.28
Aceite +Tocoferoles Mixtos	9255.7	0.9999	77.57
Aceite + Mix de tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero	9106.1	0.9999	76.82
Aceite +Alfa tocoferol, beta y gamma tocoferol, delta tocoferol	9092	1	75.58
Aceite + BHT	9287.2	0.9998	77.08

Resultados semejantes para valores de energía de activación han sido obtenidos en diferentes materiales oleaginosos, por ejemplo, aceite de girasol ($E_a = 90 \text{ kJmol}^{-1}$), aceite esencial de coco atomizado en un intervalo ($108.27 - 113.51 \text{ kJ mol}^{-1}$), aceite de semilla de uva fue el más inestable ante la oxidación acelerada es justificable desde un punto de vista termodinámico ya que la E_a de este aceite fue la más baja ($84,5$ a 86 kJmol^{-1}). (Navas P, 2010).

Energía de activación (73.2 kJ mol^{-1}) obtenida en aceite de hígado de bacalao (Garcia et al, 2013), comparable con la E_a obtenida en el aceite de pescado en estudio ($75.46 \text{ kJ/mol}^{-1}$), dichos valores muestran una baja E_a , denotando que, los aceites marinos son más inestables ante la oxidación acelera. Sin embargo, del cuadro 13 se observa que, la mayor E_a ($81.28 \text{ kJ/mol}^{-1}$) corresponde a muestra con antioxidante Etoxiquina, que en primera instancia, su actividad antioxidante mostró una barrera energética que retardó la difusión del oxígeno, lográndose una mejor estabilidad.

5. CONCLUSIONES

- Se evaluó las características fisicoquímicas del aceite de pescado: %Acidez, %Humedad, Densidad, Índice de Peróxido, Índice de Refracción, Índice de Iodo, Índice de Anisidina, Totox, valores que mostraron estados de deterioro normal y aceptable para este tipo de aceite considerando un ligero inicio del proceso de oxidación.
- Se determinó el perfil porcentual de ácidos grasos, encontrándose porcentajes de EPA y DHA por debajo de las especificaciones de exportación de aceite por las empresas Hayduk y Tasa (2014), se atribuiría la pérdida de estos ácidos grasos a la posible iniciación del proceso de oxidación.
- Se determinó los tiempos de inducción (6.65, 3.29 y 1.61h) a las temperaturas de 80°, 90° y 100°C respectivamente para el aceite control, con flujo de aire de 10L/h y concentración de antioxidante 200ppm, corroborando que
- Se comparó la eficacia de los antioxidantes comerciales: A1 (Etoxiquina), A2 (tocoferoles mixtos), A3 (mix de tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero), A4 (alfa, delta, beta y gamma tocoferol), A5 (Butilhidroxitolueno BHT), encontrándose el siguiente

orden: ETOXIQUINA > Tocoferoles mixtos > BHT > aceite vegetal, tocoferoles, lecitina y extracto romero > δ , γ , β y α tocoferol.

- Se determinó el efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado, del cual se concluye que el uso del antioxidante etoxiquina protegió al aceite mejorando su estabilidad oxidativa al doble de tiempo de inducción.
- Se determinó la energía de activación ($E_a=75.46$ KJ/mol) para aceite de pescado crudo industrial, concluyéndose que el uso de antioxidante aumenta la E_a , caso del tratamiento con etoxiquina ($E_a=81.28$ KJ/mol).

VIII. RECOMENDACIONES

El presente trabajo es base para nuevas investigaciones:

- Determinación de la estabilidad oxidativa según Método Rancimat de los aceites de pescado refinado, pama y fondo.
- Eficiencia de antioxidantes TBHQ, proxil, ácido ascórbico, eritorbato de sodio, palmitato y estearato de ascórbilo, galatos de propilo, y otros tocoferoles naturales y sintéticos en la estabilidad oxidativa de los aceites marinos.
- Eficiencia de los antioxidantes naturales y artificiales en la estabilidad oxidativa de la harina de pescado según Método Rancimat .
- Estabilidad oxidativa de aceites microencapsulados con antioxidantes mediante secado por atomización y liofilización.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aquerreta-Apestequia Y. (2000). *Pescados. Alimentos, composición y propiedades*. 2da edición. Mc Graw-Hill-Interamericana, Madrid. 29-52.
- Aoyama, M., Maruyama. T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Matsumoto. T.(1986) . *Studies of the improvement of antioxidant effect of tocopherols. XI. Antioxidant efficiencies and effective tests on margarine*. Yukagaku 35, 449-453.
- Badui, S. (1996). *Química de los alimentos*. Longman de Mexico editores, Mexico.
- Barrera D., Block J. (1993). *Ácidos grasos trans en aceites hidrogenadas: implicaciones técnicas y nutricionales*. Grasas y Aceites. 44(4-5). 286 -291.
- Bermúdez A. (2003). *Lípidos diseñados para consume humano y estabilidad*. Lípidos y Salud. 4(2). 1-4.
- Bernal I. (1994). *Análisis de alimentos*. Guadalupe 2da ed. Colombia. 158-161.
- Bimbo A. (1999). *Pautas para la clasificación del aceite de pescado comestible*. A & G. 36, 410-421.
- Boran G., Kara C. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. En Mendez C., Masson L., Jimenez P.(2010). *Estabilización de aceites de pescado por medio de antioxidantes naturales*. 3(2). Chile. 270- 278.
- Burton G., Ingold, K. (1981). *Autoxidation of biological molecules. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro*. J. Am. Oil Chem. Soc., 103:6472–6477.

- Castillo J. (2007). *Evaluación de la estabilidad Oxidativa de grasas interesterificadas enzimáticamente*. Bucaramanga.
- Castillo L. (2012). *Influencia de los antioxidantes naturales y artificiales en el deterioro oxidativo del aceite semirrefinado de pescado*. Lima. Perú.
- Cocha G., Vivanco J. (2006). *Evolución de la Rancidez Oxidativa y la frescura del músculo de Salmon Coho (OncorhynchusKisutch) alimentado con dietas adicionadas de antioxidantes naturales y conservado al estado congelado(-18°C)*. Santiago de Chile. 22
- Corbella J. (1999). Producción de aceite y harina de pescado, estado del arte y criterios de calidad. *A & G*. 36, 393-405.
- Daniels R., Kim H., David M. (2006). *Hydrogenation and interesterificacion effects on the oxidative stability and melting point of soybean oil*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54. 60111- 6015.
- Dobarganes M., Ríos J., y Pérez M. (1995). *Relaciones entre la composición de aceites vegetales y los componentes volátiles producidos durante la termoxidación*. *Grasas y Aceites*, 37(29), 61 -67.
- Douglas R. (2006). *Composición proximal, ácidos grasos y características fisicoquímicas de aceite de harina artesanal de caribe (SerrasalmusrhombeusPisces: Characidae) proveniente de Caicara del Orinoco-Venezuela*. *Grasas y aceites*, 57 (4). 382-386.
- FAO/OMS (1997). *Grasas y aceites en la nutrición humana*. Estudios de FAO Alimentación y Nutrición, 57. Roma

- Frankel N., Satue M., Huang S., (1995). *Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil*. Journal of the American Oils Chemists Society 72(10). 131-1137.
- Galleguillos M. (1994). *Aminas Biogénicas: Nuevos Indicadores Químicos Utilizados como criterios de Calidad en Harina de pescado*. Chile.
- Gordon L. (2002). *Ferric Ions Reduce the Antioxidant Activity of the Phenolic Fraction of Virgin Olive Oil*. Journal of Food Science. 67. 943–947.
- Grompone M. (1992). *Propiedades de los aceites vegetales modificados por hidrogenación, interestificación y fraccionamiento*. Grasas y Aceites. 43(6), 330-334.
- Herrera E. y Zambrano J. (2005). *Efecto de la inclusión de lípidos con diferentes grados de oxidación sobre los parámetros productivos de Oreochromis niloticus variedad chitralada*. Trabajo de grado (Zootecnia). Universidad Nacional de Colombia. Bogota. 32.
- Hidalgo F., Nielsen N., Xu X., Charlotte J. (1999). *Oxidative of structured lipids containing C18:0, C18:1, C 18:2, C 18:3 or CLA in sn2- position-as bulk lipids and in milk drinks*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 42(5). 379-386.
- Hotchkiss P. (1997). Food Science. 5th ed. London. New York. 359 -375.
- ICONTEC. (2001). NTC (Norma Técnica Colombiana) 4197: *Grasas y aceites vegetales y animales*. Determinación del índice de anisidina. Bogotá, Colombia.
- IFFO, 2009. *The marine ingredients organization*, sede Inglaterra. The international Fishmeal and Fish oil organization.

- Isnardy B., Wagner K., Elmadfa I. (2003). *Effects of alpha, gamma, and delta-tocopherols on the autoxidation of purified rapeseed oil triacylglycerols in a system containing low oxygen*. J. Agric. Food Chem. 51.7775–7780.
- Jaime A. (1993). *Utilización del Análisis por Cromatografía para la Determinación de los Lípidos de los Organismos (Placton) Alimento del Camarón en sus Primeros estadios de Desarrollo*. Guayaquil. Ecuador.
- Jebe T., Matlock M., Sleeter R. (1993) *Collaborative study of the oil stability index analysis*. Journal of American Oil Chemists' Society, 70, 1055-1061.
- Kulas E., Ackman R. (2001). *Properties of alpha-, gamma-, and deltatocopherol in purified fish oil triacylglycerols*. J. Am. Oil Chem. Soc. 78(4).361–367.
- Kulas E., Olsen E., and Ackman R. (2003). *Oxidation of fish lipids and its inhibition with tocopherols*. Kamal-Eldin, A. Lipid Oxidation Pathways. AOCS Press, Illinois.
- Liston J., Stansby M. (1968) *Bases Químicas y Bacteriológicas de las alteraciones del Pescado*.
- Man J., Tie F., Man L. (1987) *Formation of short chain volatile organic acids in the automated AOM method*. Journal of American Oil Chemists' Society. 64. 993-996.
- Mataix J. (2002). *Libro Blanco de los Omega 3: Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid, España.
- Méndez R., Masson L., Jiménez P. (2010). *Estabilización de aceite de pescado por medio de antioxidantes naturales*. Facultad de Ciencias Químicas y

Farmacéuticas. Centro de Investigación y Desarrollo en Grasas y Aceites
Universidad de Chile.

Méndez E., Sanhueza J., Speisky H., Valenzuela A., (1996). *Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils*. Journal of American Oil Chemists' Society. 73. 1033-1037.

Millar. (2001). *Química de los alimentos*, manual de laboratorio, ed. Limusa Wiley. 72-75.

Moure A., Cruz JM., Franco D, Dominguez M., Sineiro J., Nunez A y Parajo J. (2001). *Natural antioxidants from residual sources*. Food Chem. 72: 145-171.

Montaño M. (1998). *Estado de tecnología para la determinación de ácidos grasos en la industria de aceites comestibles en el Ecuador*. ESPOL-SEL. Ecuador.

Moreno C., Larrauri J., (1998). *Principales métodos para determinación de la oxidación lipídica*. Food Sci tech int. 4(6). 391-399.

Mukai K., Nagai S., Ohara K. (2005). *Kinetic study of the quenching reaction of singlet oxygen by tea catechins in ethanol solution*. Free Radic. Biol. Med. 39(6). 753-761

Navas P. (2010). *Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales*. Ciudad Real, España.

Naz S. (2004). *Oxidative stability olive, corn and soybean oil under different conditions*. Food Chemistry, 88, 253-259.

- Nieblas M., Burgueño M., Moreno L. (2000). *Evaluación oxidativa de las mezclas de los aceites de leguminosas del Desierto de Sonora con aceites de maíz y soja durante su almacenamiento*. *Grasas y Aceites*. 52 (6). 355-362.
- NRC. (1993). *Requerimiento Nutricional de pescado*. Prensa Nacional Académica. 5ta edición. 128.
- Pizzocaro F., Caffa F., Gasparoli A., Fideli E. (1985). Antioxidative properties of some aromatic herbs on Sardine muscle and oil. *Revista Italiana Delle Sostanze Grasse*. 62 351-356.
- Primo E. (1998). *Química de los alimentos*. Editorial Síntesis, España. 192-226.
- Pongracz. G. (1988). *Heat stability of the tocopherols*. *Fette Wiss. Technol.* 90, 247-251.
- Rajalakshmi D., Narasimhan S. (1996). *Food antioxidants: Sources and methods of evaluation*. Food Antioxidants, Marcel Dekker, New York
- Reische D., Lillard, Eitenmiller R. (2002). *Antioxidants*. Role of Physical Structures in Bulk Oils on Lipid Oxidation.
- Robalino J (2009). *Aprovechamiento de Residuos Pesqueros Para la Obtención de Ácidos Grasos Omega 3 en el Procesamiento de Productos Alimenticios*. Guayaquil. Ecuador.
- Rojano B., Gaviria C., Gil M., Saez J., Schinella G., Tournier H. (2008). *Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios*. *Vitae: Revista de la facultad de química farmacéutica*, 15: 173-181

- Romero, N., Robert P., Masson L., Luck C. (1996). *Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural*. Arch. Latinoamericanos de nutrición. 46(1). 75-7
- SALFresh VSO – 68 (2010). *Omega 3 Extra Virgen ¡El aceite más fresco del mundo!*. Folleto Técnico Acacia Soluciones. Noruega.
- Sanhueza, C. (2012). *El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, Hoy un alto valor nutricional*. Revista Chil Nutr., 39(2), 201-207.
- Sang W., Z Jin. (2004). *Lipid oxidation of fish liver oil as affected by light, antioxidants and temperature*. Journal of Food Processing Preservation 28. 1-10
- Stoker S. y Walker E. (1991). *Fundamentos de química general, orgánica y biológica*. Allyn and Bacon, Boston. Segunda edición.
- Suja, K., Jayalekshmy A., Arumughan C. (2005). *Antioxidant activity of sesame seed extract*. Food Chemistry 91. 213-219
- Tian K., y Pumendu D. (1999). *Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites y grasas*. Anal Chem. 71 (9). 1692-1698.
- Valenzuela, A. (2009). *Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos*. Revista Chil Nutr., 36(3), 246-248.
- Vega S. (2005). *Actualidad sobre ácidos omega-3 y omega-6 en la industria y en la alimentación humana*. Recuperado el 22 de diciembre de 2014 de <http://www.alfaeditores.com/alimentaria>.

Wagner K., Wotruba F., Elmadfa, I. (2001). *Antioxidative potential of tocotrienols and tocopherols in coconut fat at different oxidation temperatures*. Eur.J. Lipid Sci.Technol. 103(11).746–751.

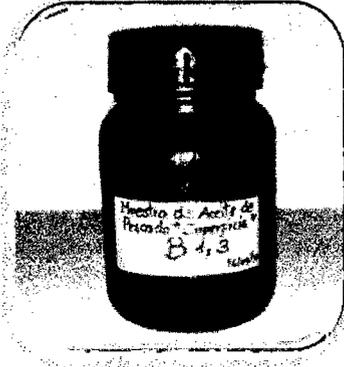
Zamora R., Hidalgo F. y Alaiz M. (1999). *Modificaciones producidas en las proteínas alimentarias por su interacción con lípidos peroxidados*. Química radicalaria de los ácidos grasos poliinsaturados en: Grasas y Aceites, 42 (5).

ANEXOS

ANEXO N 01

Procedimiento Experimental

- Recepción de la materia prima



Frasco ámbar

Atmosfera de nitrógeno

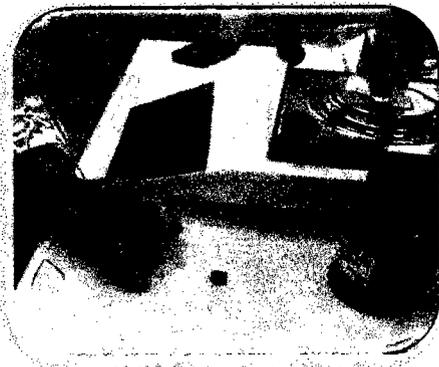
Refrigeración 4°C

- Homogenización

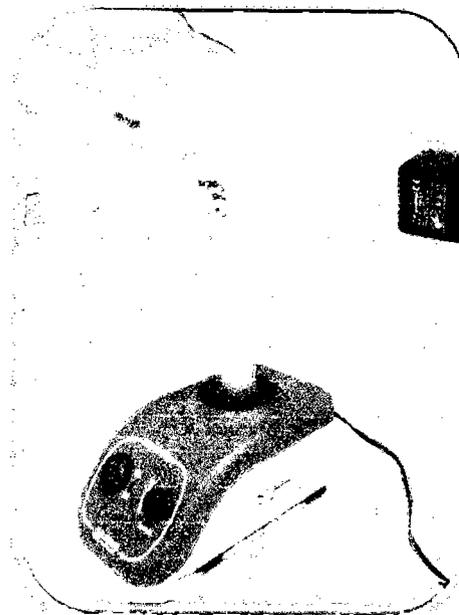
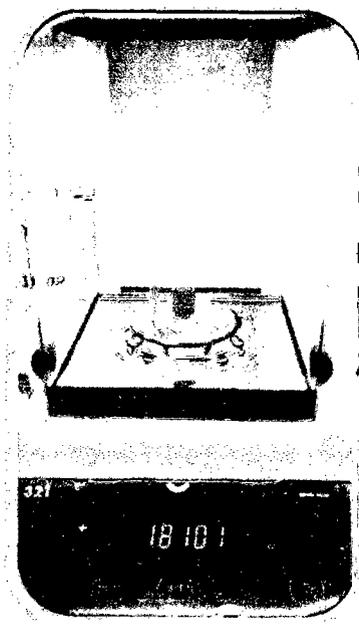


Agitación 5 minutos

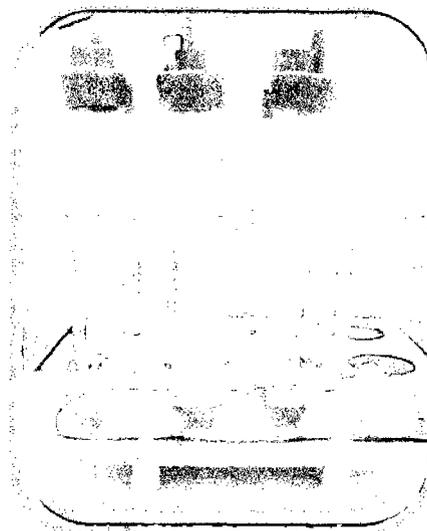
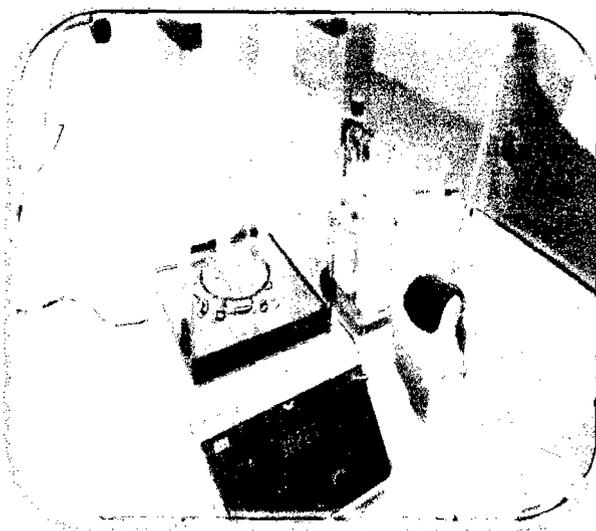
- Dilución 1 (Aceite de pescado con antioxidante al 1%)



- Dilución 2 (Aceite de pescado a 200 ppm)

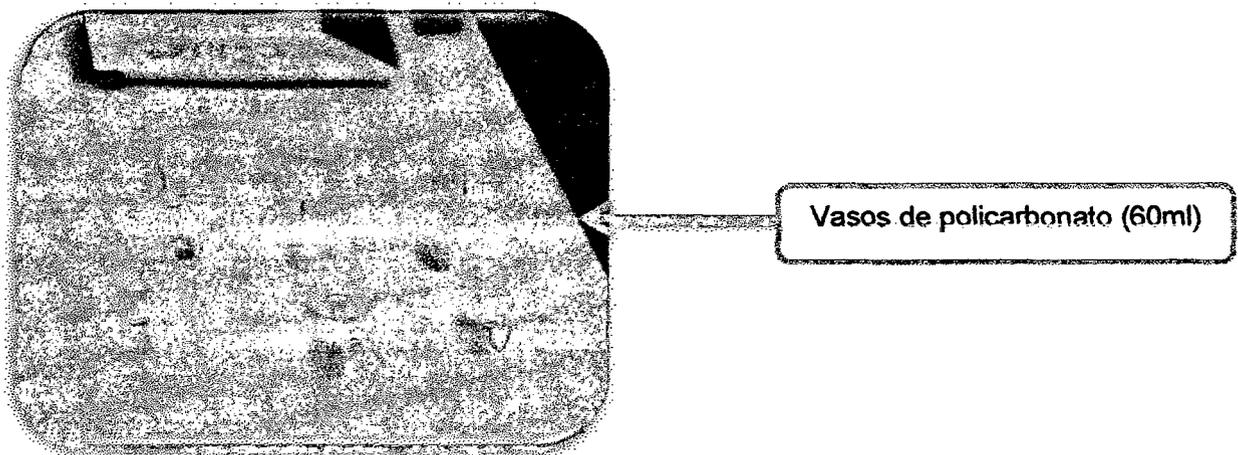
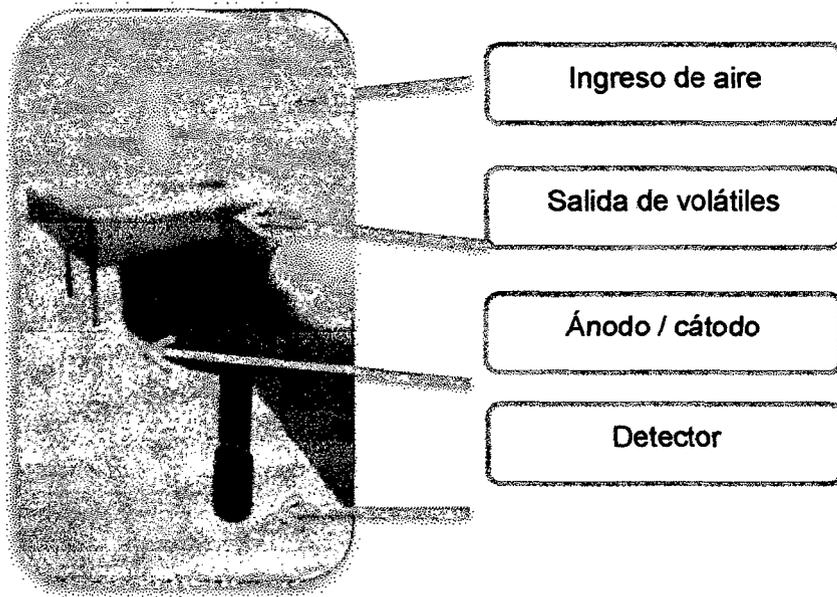


- Pesado (3 ± 0.1 g de aceite)

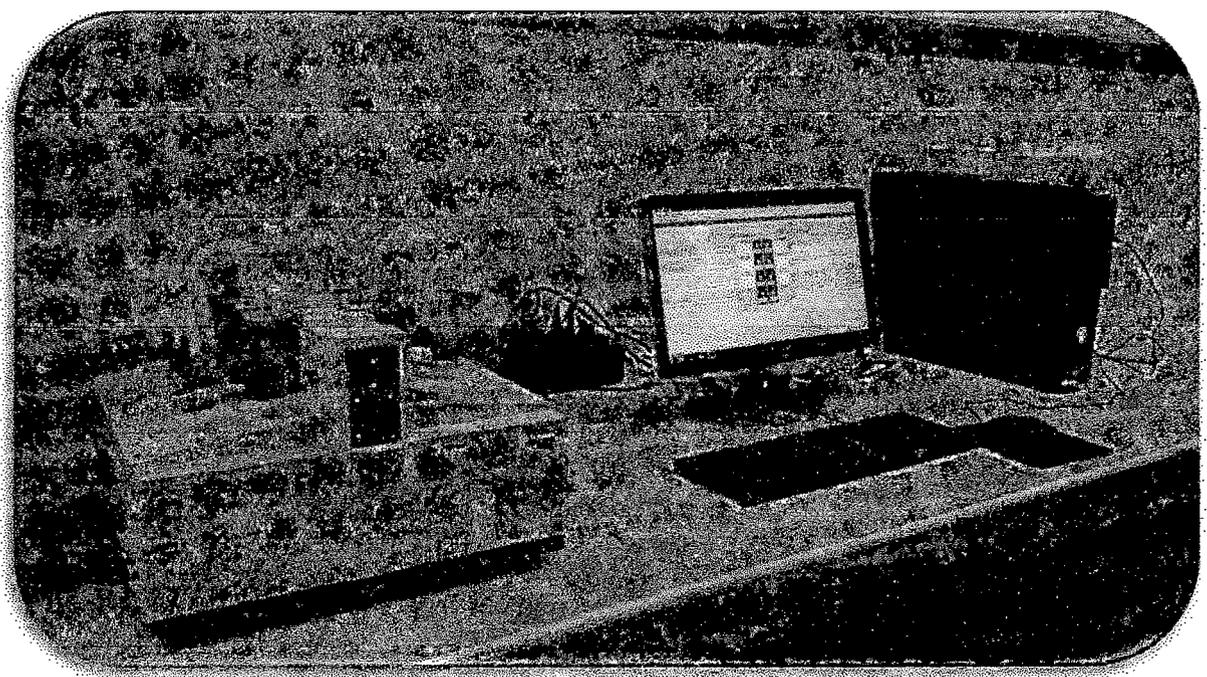
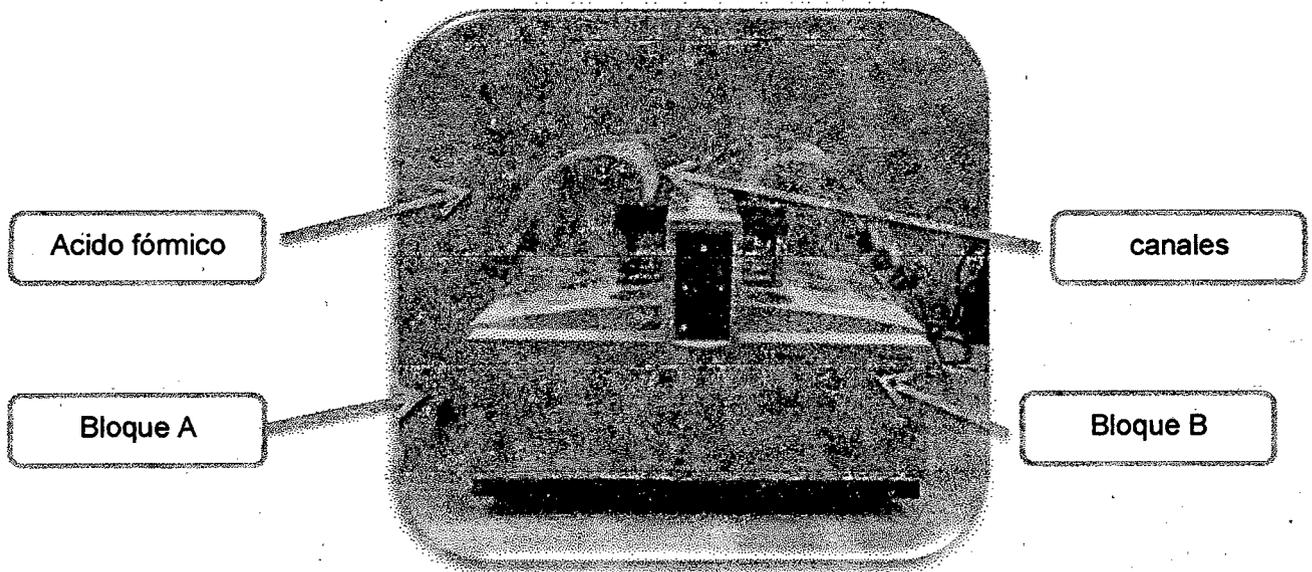


Análisis Rancimat

- Electrodo



- Rancimat 743



ANEXO N 02

Índice de Estabilidad Oxidativa en aceite de pescado crudo industrial

Los resultados del cuadro se determinaron con un flujo de aire de 10 l/h y a temperaturas de 80°C, 90°C y 100°C, utilizando como antioxidantes etoxiquina (A1); tocoferoles mixtos (A2); mix de tocoferoles naturales, lecitina, extracto de romero(A3); alfa, delta, beta, gamma tocoferol (A4); Butilhidroxitolueno BHT (A5); a una concentración de 200 ppm.

Cuadro 14: Índices de Estabilidad Oxidativa en aceite de pescado crudo industrial

N°	MUESTRAS	Periodo de inducción (horas)		
		80°C	90°C	100°C
T1	ACEITE CONTROL	6.65	3.38	1.62
		6.6	3.29	1.65
		6.71	3.2	1.56
		6.65	3.29	1.61
		<i>0.055075705</i>	<i>0.09</i>	<i>0.045825757</i>
T2	ACEITE + Etoxiquina	13.72	6.18	3.18
		13.83	6.02	3.15
		13.93	6.26	3.06
		13.83	6.15	3.13
		<i>0.105039675</i>	<i>0.122202019</i>	<i>0.06244998</i>
T3	ACEITE + Tocofeoles mixtos	10.03	4.58	2.28
		9.94	4.84	2.47
		9.93	4.93	2.59
		9.97	4.78	2.45
		<i>0.055075705</i>	<i>0.181750745</i>	<i>0.156311655</i>
T4	ACEITE + aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de	7.43	3.58	1.91
		7.25	3.53	1.74
		7.38	3.58	1.89

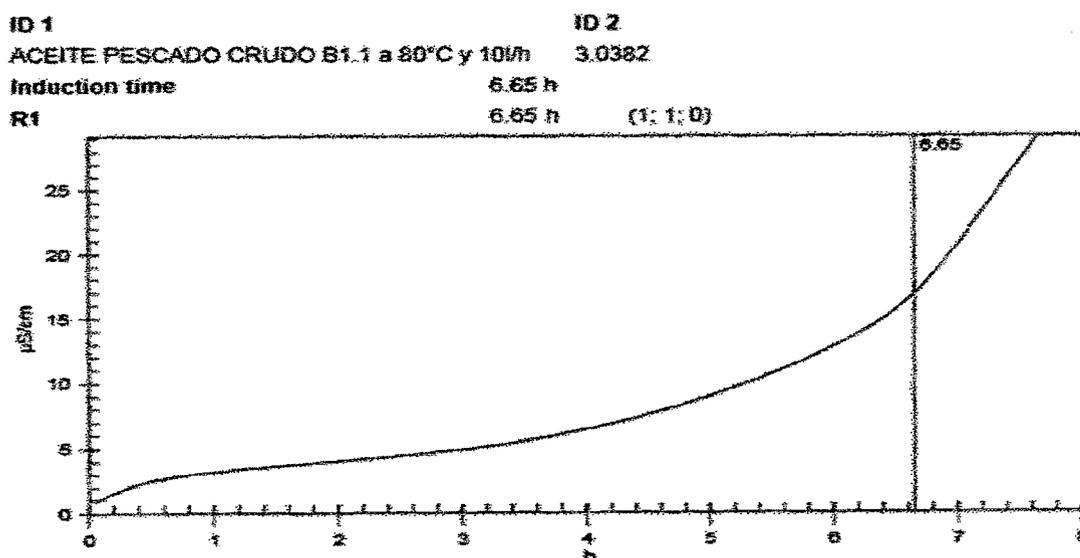
	romero.	7.35	3.56	1.85
		<i>0.092915732</i>	<i>0.028867513</i>	<i>0.092915732</i>
T5	ACEITE + Alfa, Delta, Beta y Gama tocoferol.	7.01	3.47	1.75
		7.06	3.38	1.8
		7.03	3.55	1.76
		7.04	3.47	1.77
		<i>0.035355339</i>	<i>0.085049005</i>	<i>0.026457513</i>
T6	ACEITE + BHT	7.66	3.82	1.82
		7.74	3.88	1.97
		7.82	3.74	1.88
		7.74	3.81	1.89
		<i>0.08</i>	<i>0.07</i>	<i>0.08</i>

(*)200ppm antioxidante, Flujo de aire 10 L/h, 3g muestra.

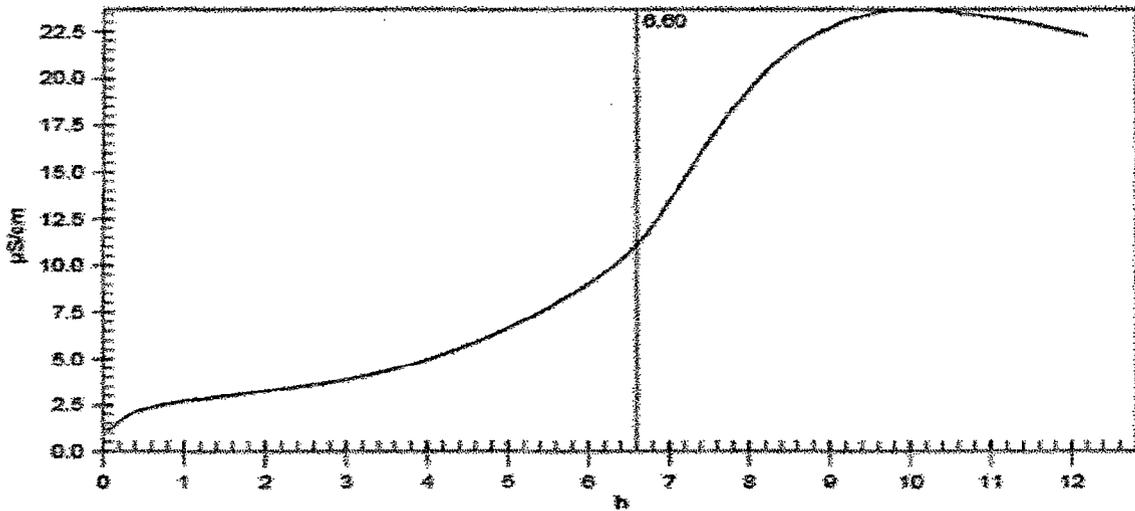
A continuación se muestran las curvas Rancimat, conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) vs tiempo (h), que evidencian el efecto de las condiciones experimentales de temperatura y antioxidantes sobre los valores de OSI para el aceite de pescado crudo industrial.

Aceite de pescado crudo industrial control (0ppm)

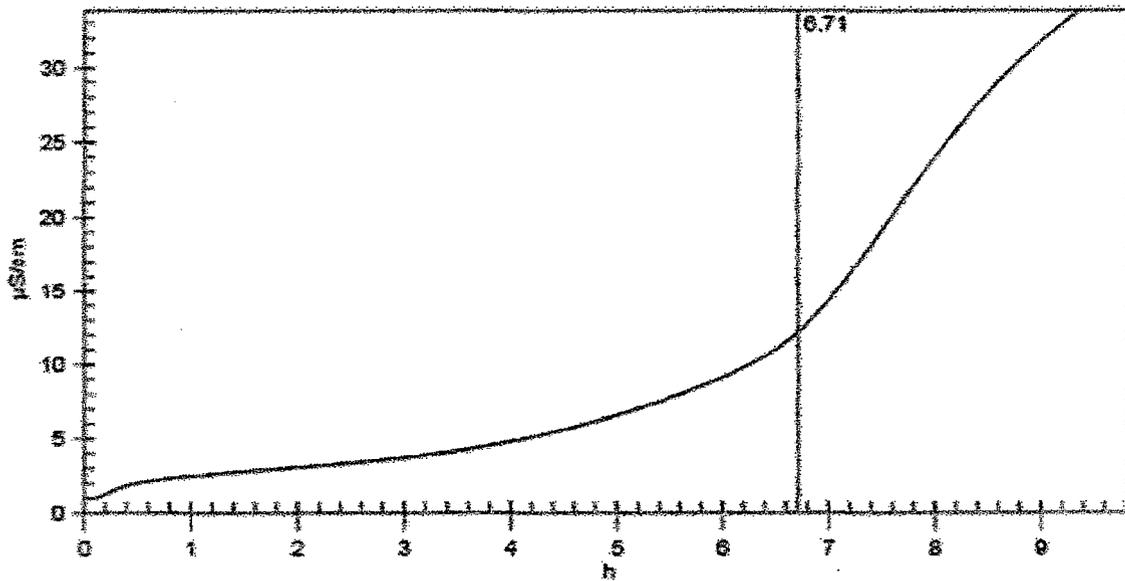
- Temperatura = 80°C y flujo de aire = 10 l/h



ID 1 ID 2
 ACEITE PESCADO CRUDO B1.1 a 80°C y 10/h 3.0133
 Induction time 6.60 h
 R1 6.60 h (1; 1; 0)

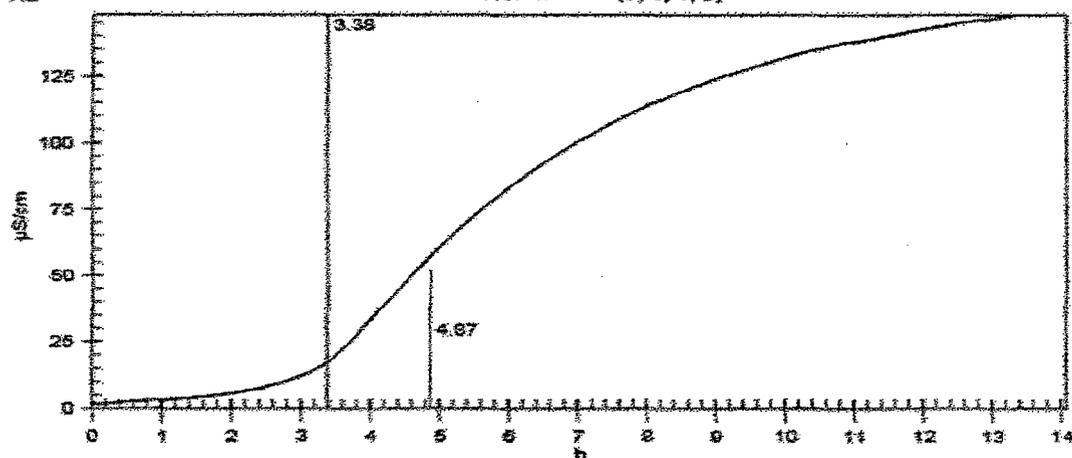


ID 1 ID 2
 ACEITE PESCADO CRUDO B1.1 a 80°C y 10/h 3.0596
 Induction time 6.71 h
 R1 6.71 h (1; 1; 0)

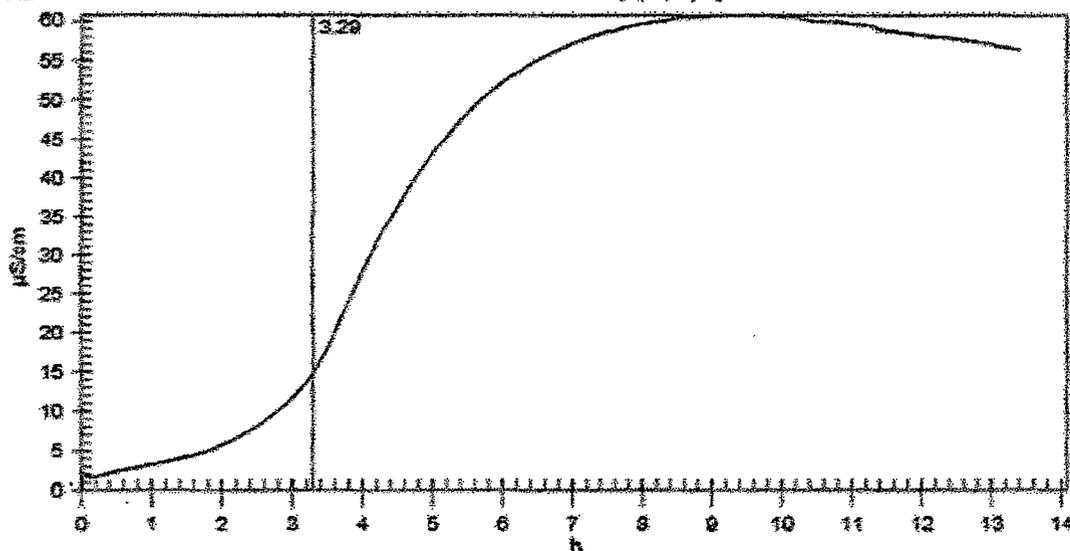


- Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

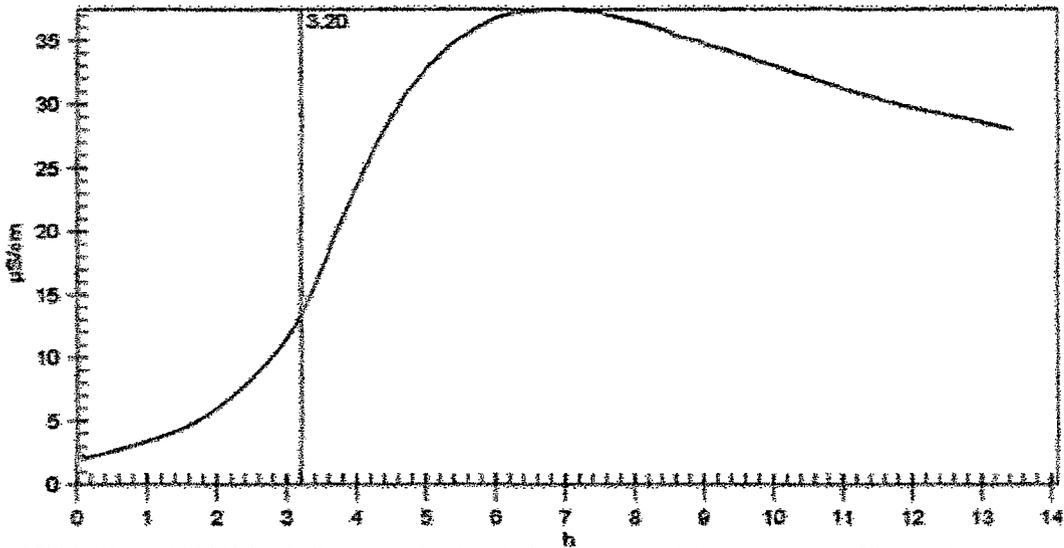
ID 1	ID 2		
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 90°C y 10L/	2.9915		
Induction time	3.38 h		
Stability time	4.87 h	Delta Kappa	50 $\mu\text{S/cm}$
R1	3.38 h	(1; 1; 0)	
R2	4.87 h	(0; 1; 1; 0)	



ID 1	ID 2		
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 90°C y 10L/	3.0609		
Induction time	3.29 h		
Stability time	-h	Delta Kappa	0 $\mu\text{S/cm}$
R1	3.29 h	(1; 1; 0)	
R2	0.00 h	(0; 1; 1; 0)	

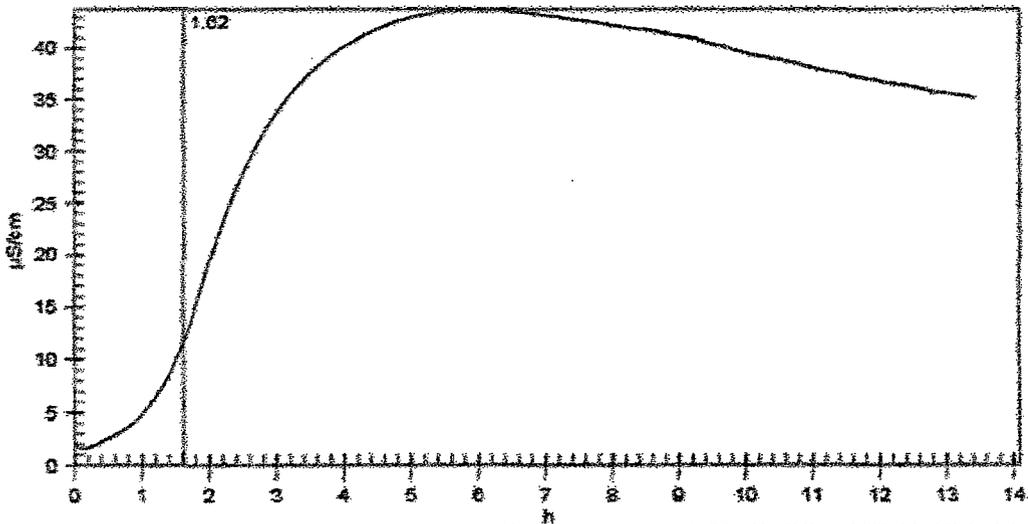


ID 1		ID 2	
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 90°C y 10L/		3.0487	
Induction time	3.20 h		
Stability time	-h	Delta Kappa	0 $\mu\text{S/cm}$
R1	3.20 h	(1; 1; 0)	
R2	0.00 h	(0; 1; 1; 0)	

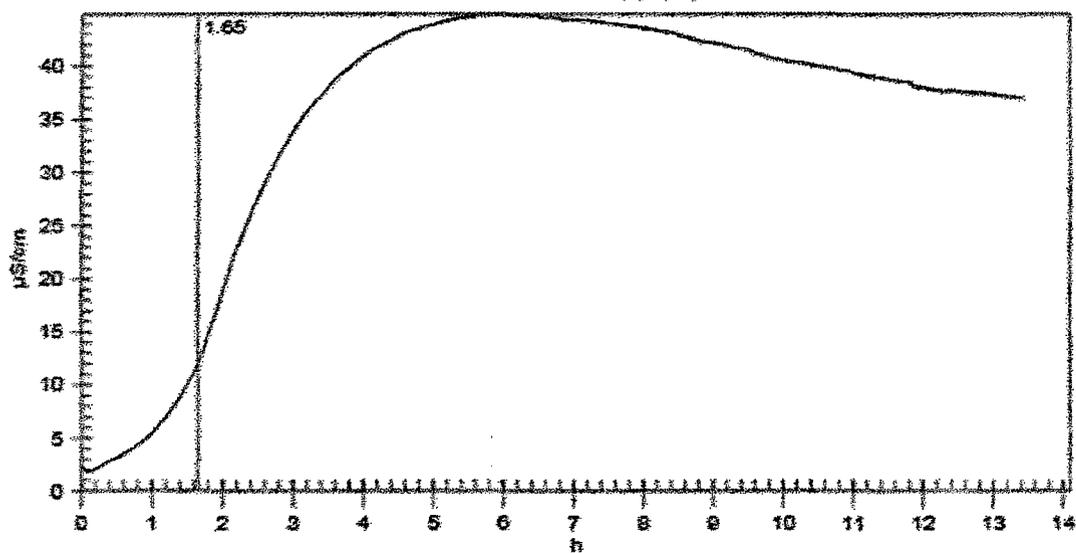


- Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

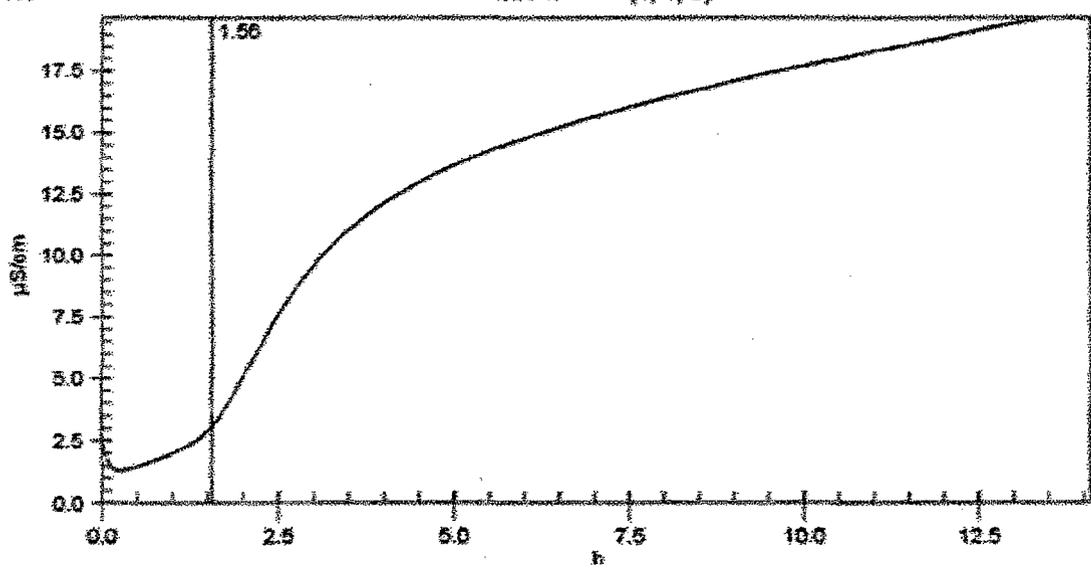
ID 1		ID 2	
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 100°C y 10L		3.0251	
Induction time	1.62 h		
Stability time	-h	Delta Kappa	0 $\mu\text{S/cm}$
R1	1.62 h	(1; 1; 0)	



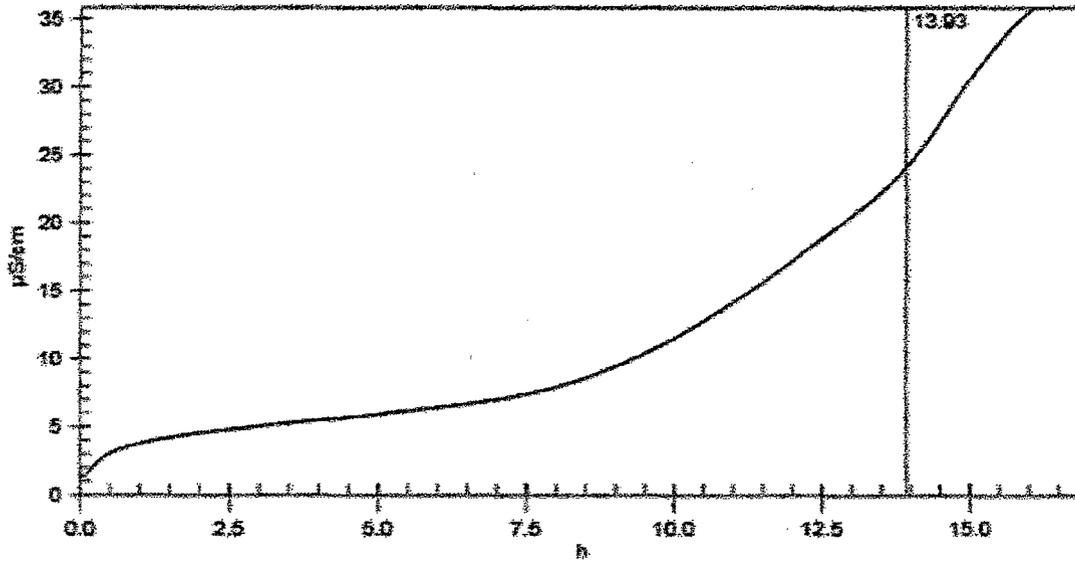
ID 1	ID 2
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 100°C y 10L	3.0095
Induction time	1.65 h
Stability time	- h
R1	1.65 h
	Delta Kappa
	(1; 1; 0)
	0 $\mu\text{S/cm}$



ID 1	ID 2
ACEITE CRUDO de PESCADO B1.1 100°C y 10L	3.0039
Induction time	1.56 h
Stability time	- h
R1	1.56 h
	Delta Kappa
	(1; 1; 0)
	0 $\mu\text{S/cm}$

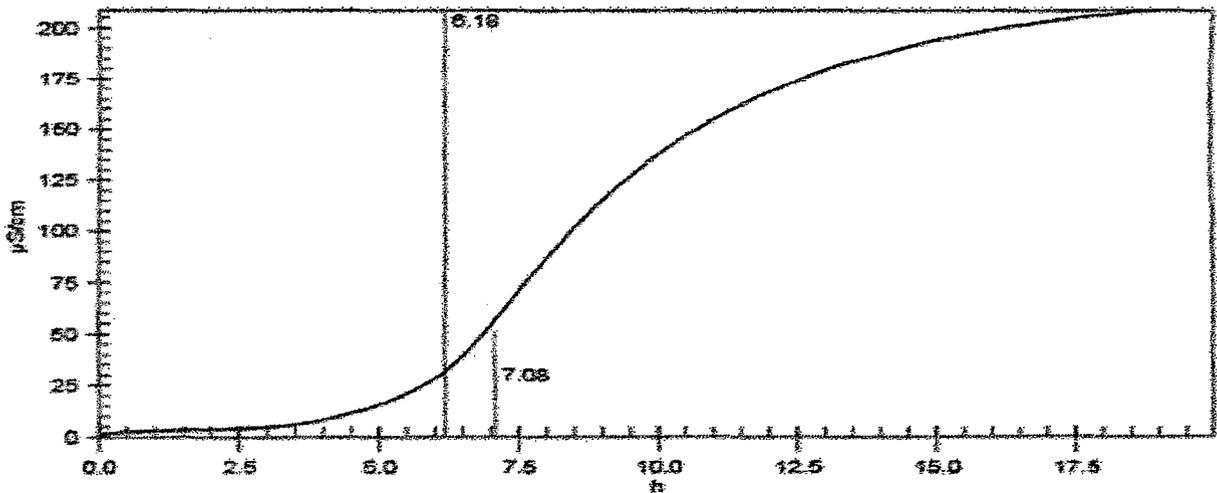


ID 1 **ID 2**
CRUDO B1.2. 200ppm ETOXQUINA 80°C y 10 l/h **3.0200**
Induction time **13.93 h**
R1 **13.93 h (1; 1; 0)**



- Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1 **ID 2**
CRUDO 200ppm ETOXQUINA-90°C **3.0537**
Induction time **6.18 h**
Stability time **7.08 h** **Delta Kappa** **50 µS/cm**
R1 **6.18 h (1; 1; 0)**
R2 **7.08 h (0; 1; 1; 0)**



ID 1
CRUDO 200ppm ETOXIUQUINA-90°C

ID 2
3.0172

Induction time

6.02 h

Stability time

7.35 h

Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

R1

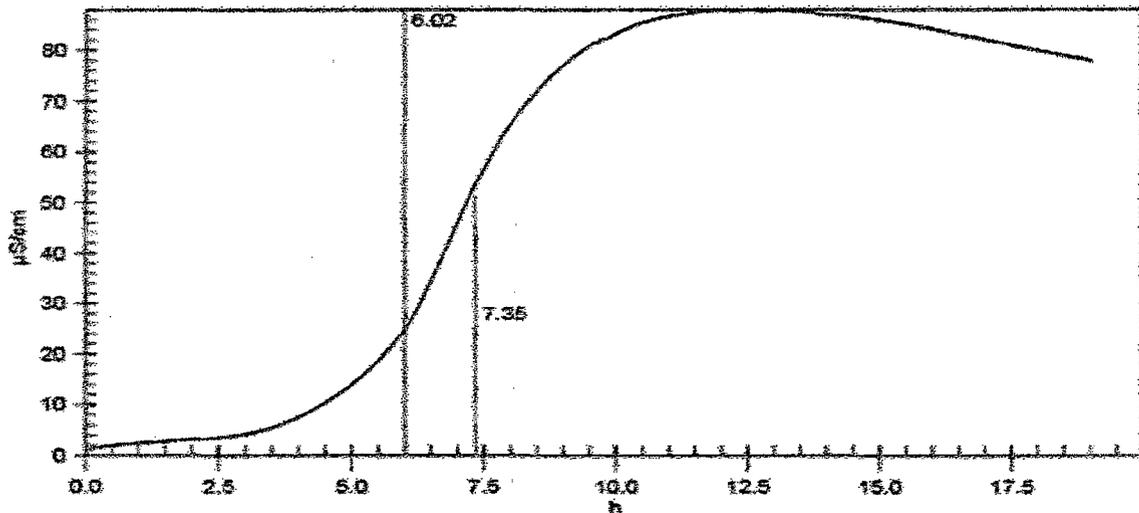
6.02 h

(1; 1; 0)

R2

7.35 h

(0; 1; 1; 0)



ID 1
CRUDO 200ppm ETOXIUQUINA-90°C

ID 2
3.0416

Induction time

6.26 h

Stability time

7.25 h

Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

R1

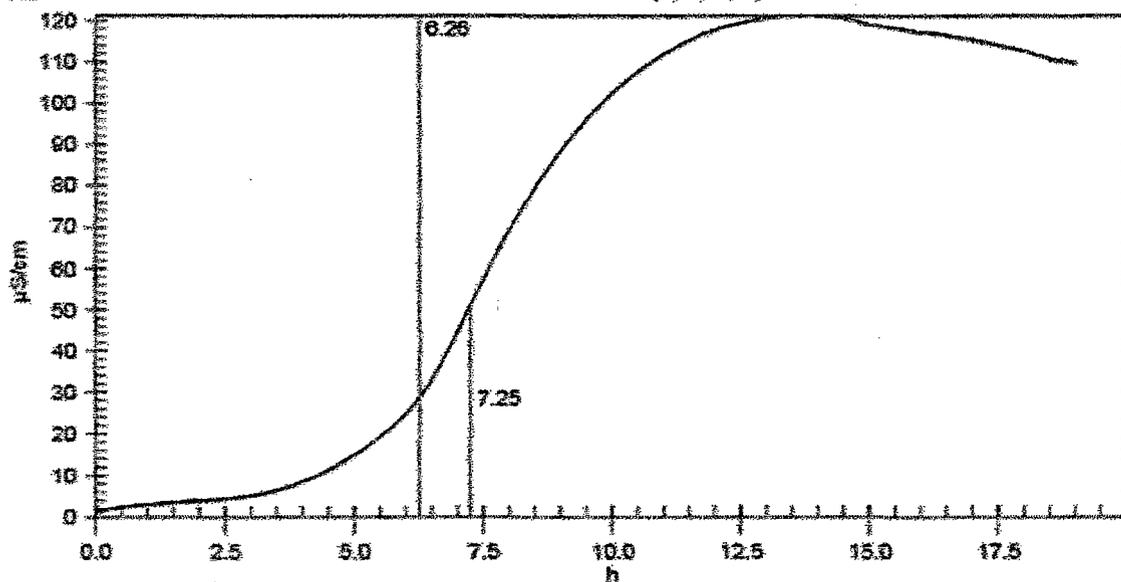
6.26 h

(1; 1; 0)

R2

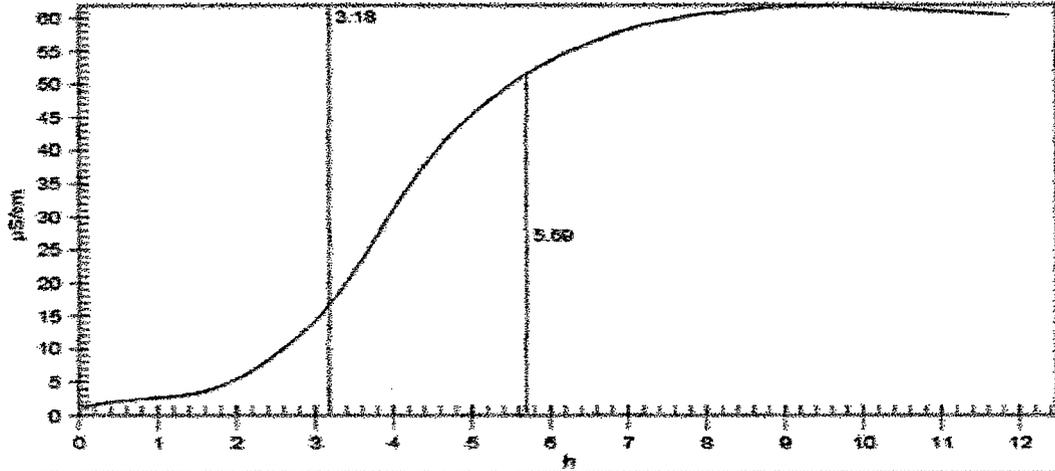
7.25 h

(0; 1; 1; 0)

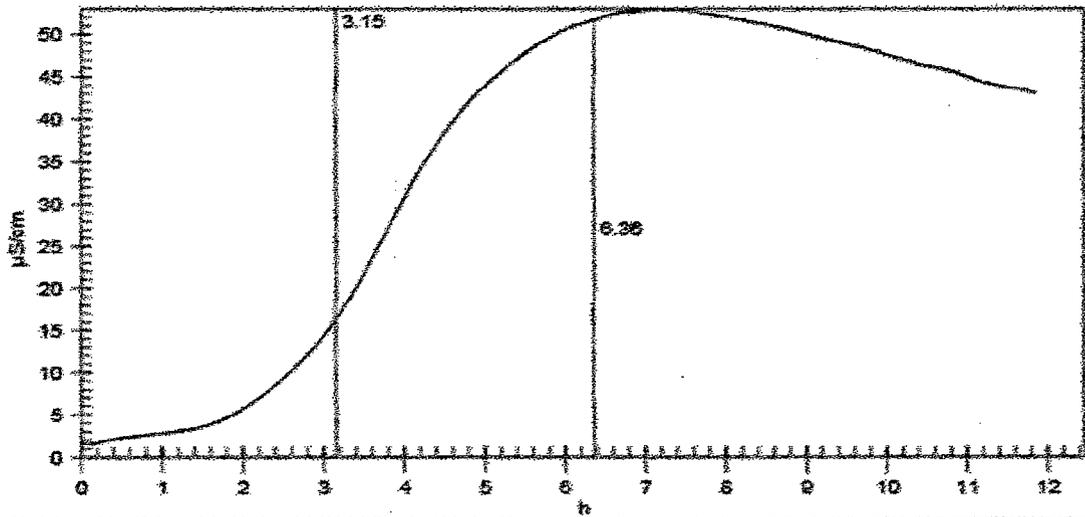


- Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

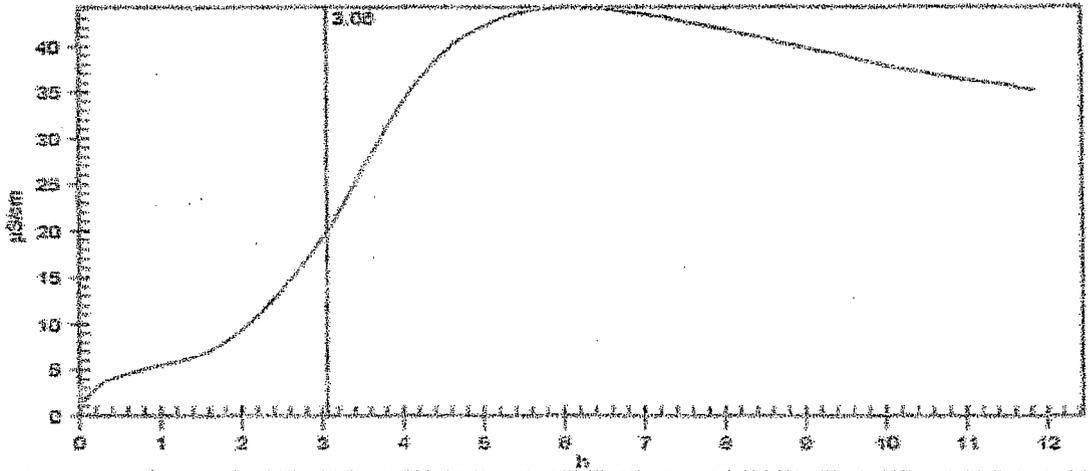
ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2 ETOXIQUINA 200ppm 100°C y 10h	3.0272		
Induction time	3.18 h		
Stability time	5.69 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.18 h	(1; 1; 0)	



ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2 ETOXIQUINA 200ppm 100°C y 10h	3.0335		
Induction time	3.15 h		
Stability time	6.36 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.15 h	(1; 1; 0)	



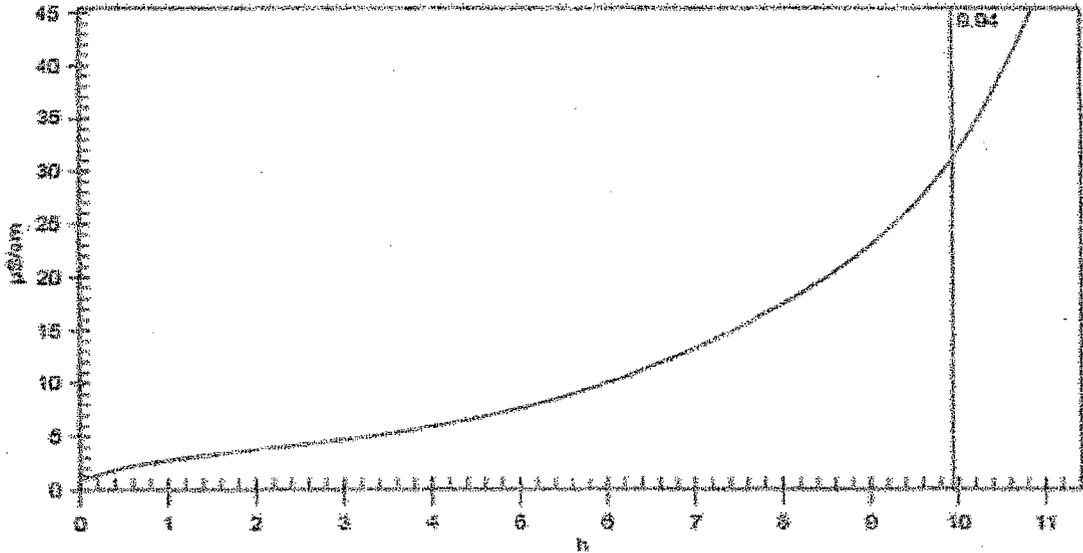
ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 ETOXIGUINA 200ppm 100°C y 10lh	3.0467
Induction time	3.06 h
Stability time	- h
R1	3.06 h
	Delta Kappa
	(1; 1; 0)
	0 µS/cm



Aceite de pescado crudo industrial+ FORTIUM MT95 (200 ppm)

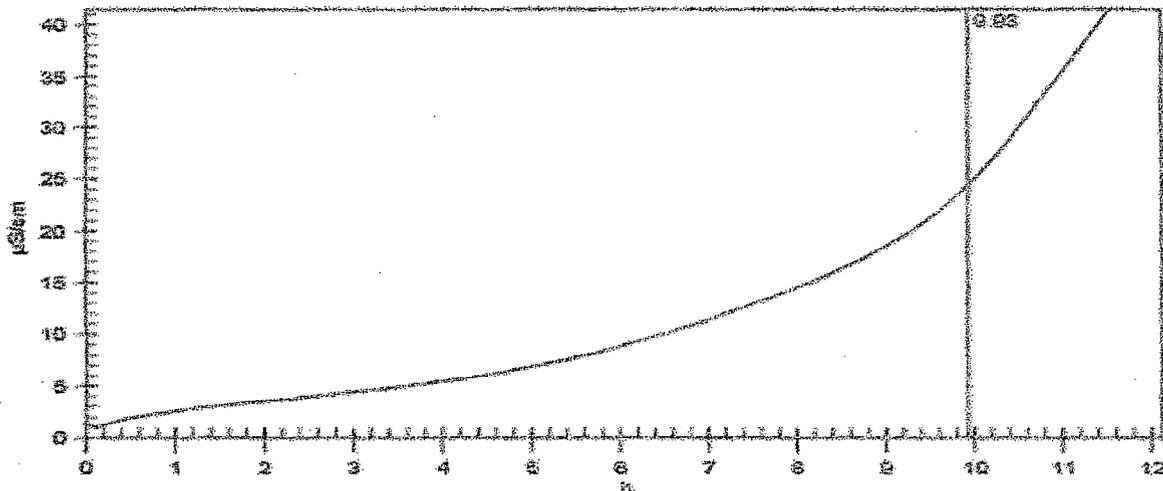
- Temperatura = 80°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1	ID 2
CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 80°C - 10LH	3.1312
Induction time	3.94 h
R1	3.94 h
	(1; 1; 0)



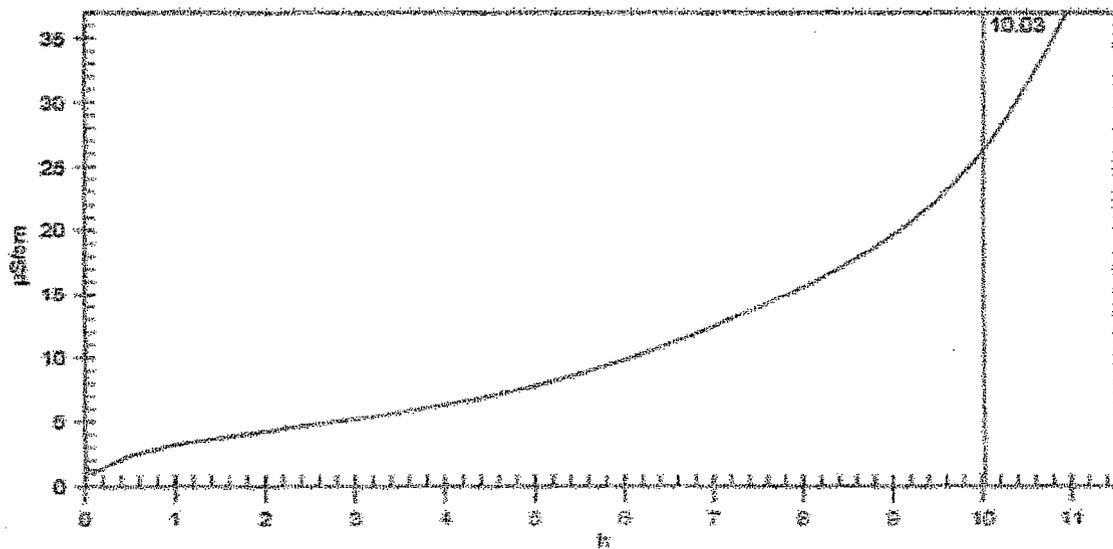
ID 1
CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 80°C - 10LH
Induction time 9.93 h
R1 9.93 h (1; 1; 0)

ID 2
3.0042



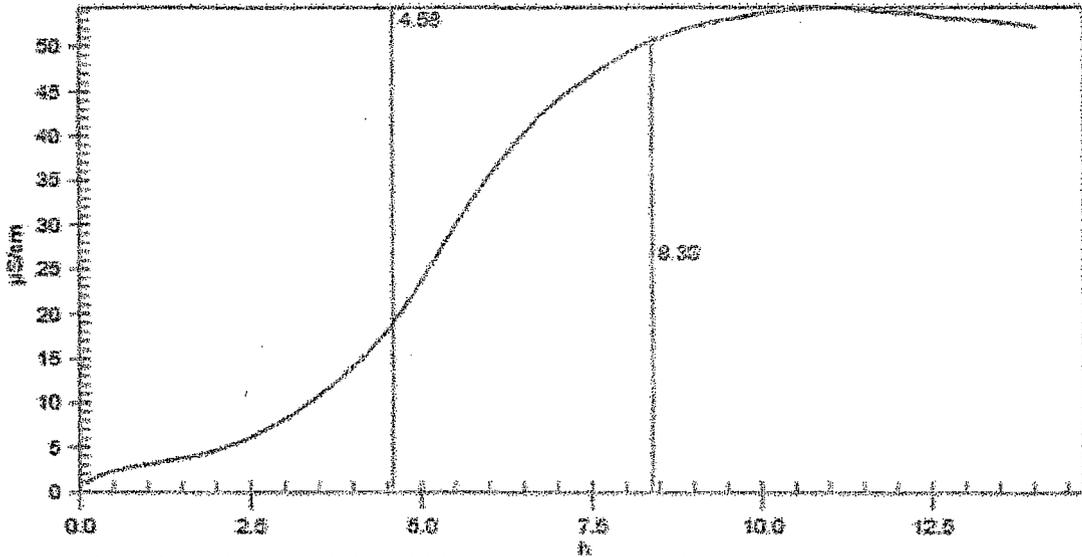
ID 1
CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 80°C - 10LH
Induction time 10.03 h
R1 10.03 h (1; 1; 0)

ID 2
3.0129

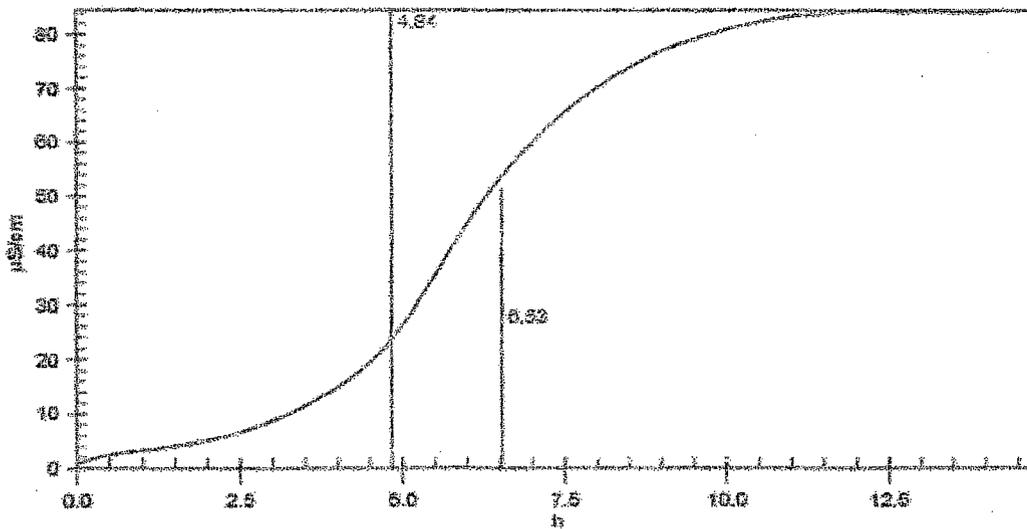


- Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

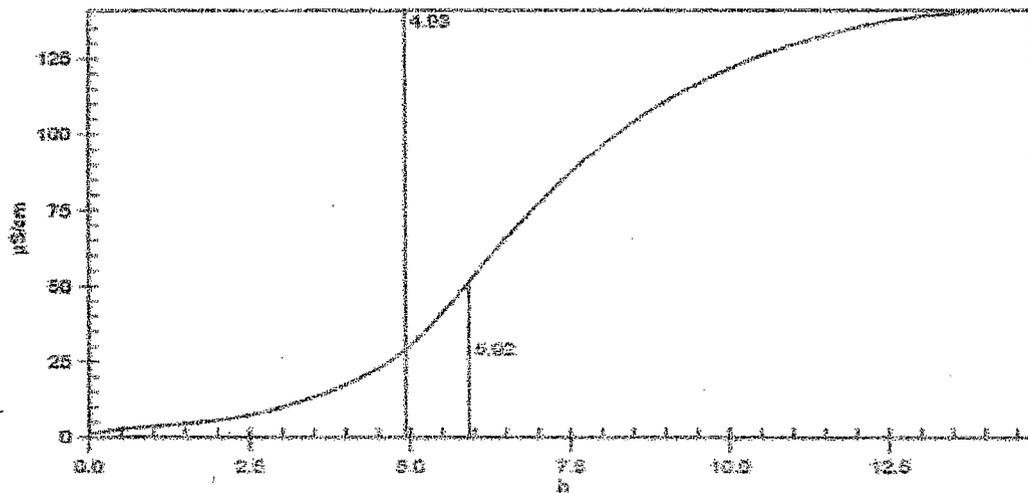
ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2 ANTIOXIDAN 200ppm 90°C y 10h	3.0102		
Induction time	4.58 h		
Stability time	8.38 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	4.58 h	(1; 1; 0)	
R2	8.38 h	(0; 1; 1; 0)	



ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2 ANTIOXIDAN 200ppm 90°C y 10h	3.0291		
Induction time	4.84 h		
Stability time	6.52 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	4.84 h	(1; 1; 0)	
R2	6.52 h	(0; 1; 1; 0)	

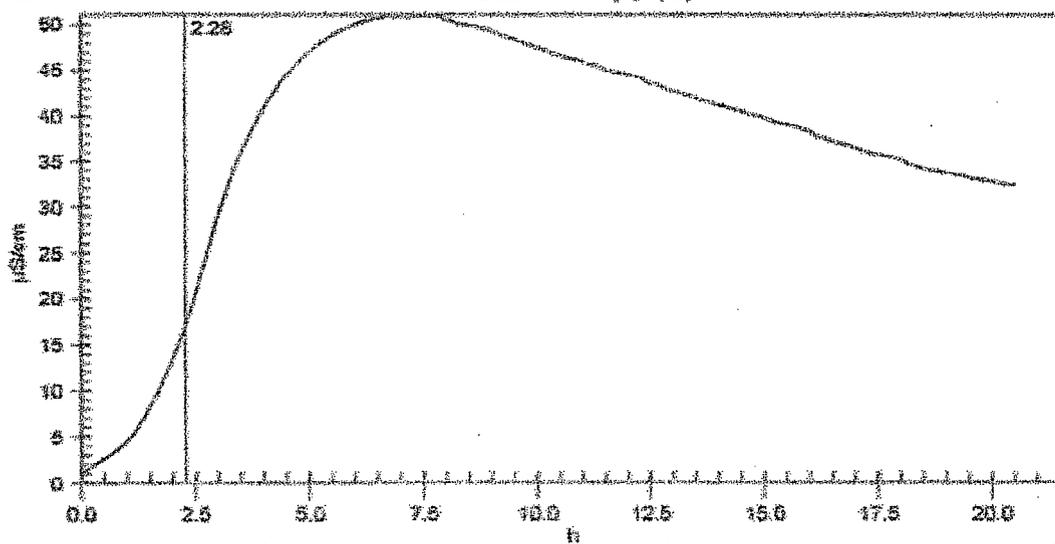


ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2 ANTIOXIDAN 200ppm 90°C y 10lh	3.0722		
Induction time	4.93 h		
Stability time	5.92 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	4.93 h	(1; 1; 0)	
R2	5.92 h	(0; 1; 1; 0)	



- Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1	ID 2		
CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 100°C - 10LH	3.0218		
Induction time	2.28 h		
Stability time	7.69 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	2.28 h	(1; 1; 0)	



ID 1

ID 2

CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 100°C - 10LH

3.0841

Induction time

2.47 h

Stability time

3.44 h

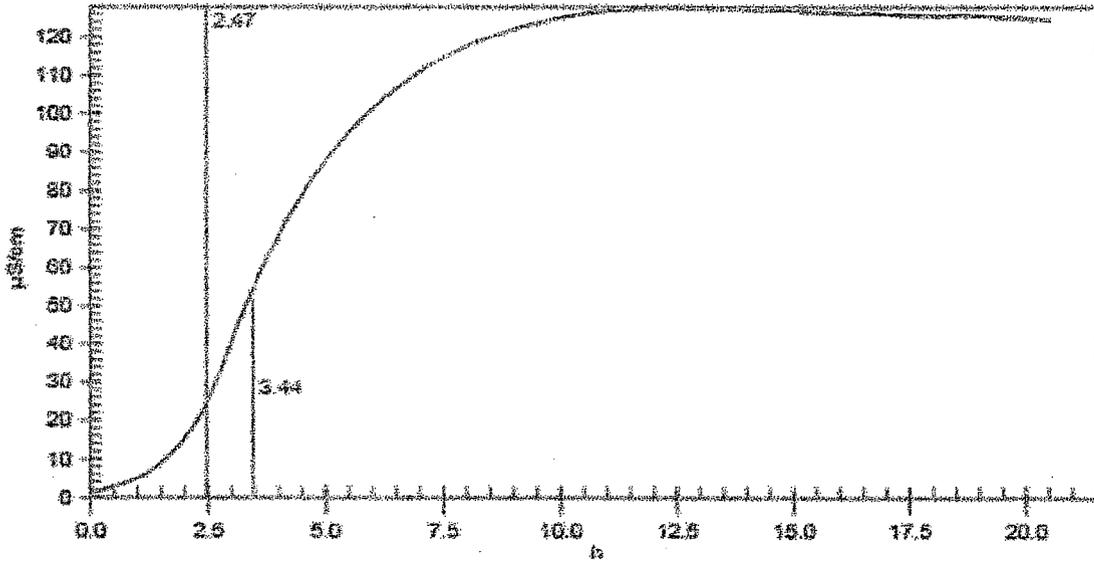
Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

R1

2.47 h

(1; 1; 0)



ID 1

ID 2

CRUDO con 200ppm ANTIOX 1- 100°C - 10LH

3.0931

Induction time

2.59 h

Stability time

3.12 h

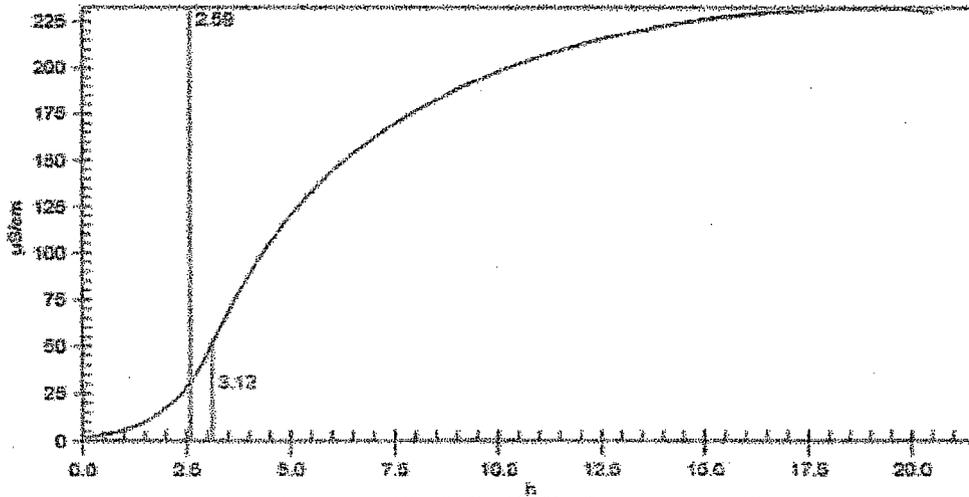
Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

R1

2.59 h

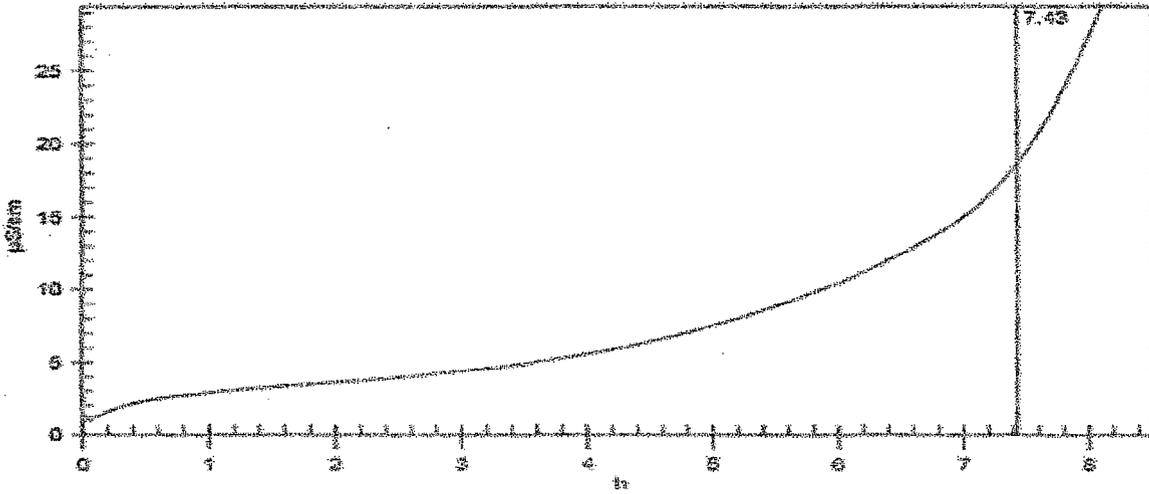
(1; 1; 0)



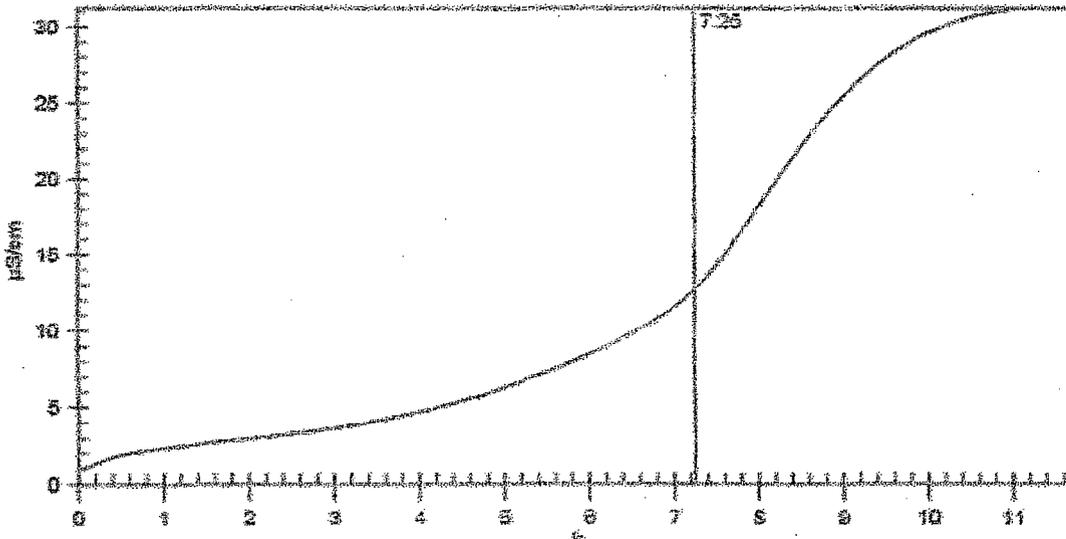
Aceite de pescado crudo industrial + NATUROX (200ppm)

- Temperatura = 80°C y flujo de aire = 10 l/h

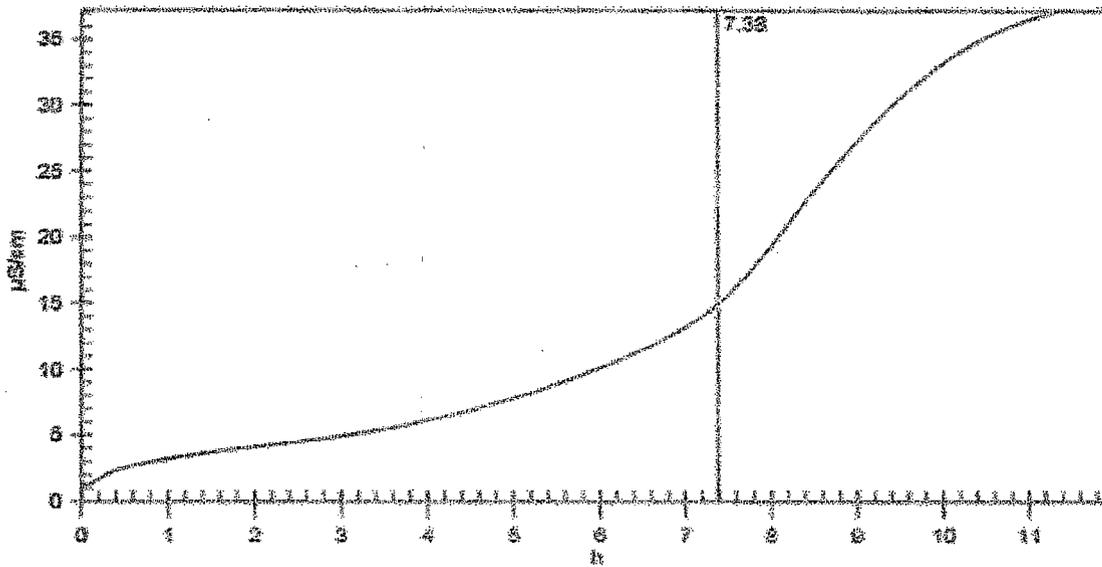
ID 1	ID 2
CRUDO B1.2. 200ppm NATUROX 80°C y 10 l/h	3.0410
Induction time	7.43 h
R1	7.43 h (1; 1; 0)



ID 1	ID 2
CRUDO B1.2. 200ppm NATUROX 80°C y 10 l/h	3.0230
Induction time	7.25 h
R1	7.25 h (1; 1; 0)

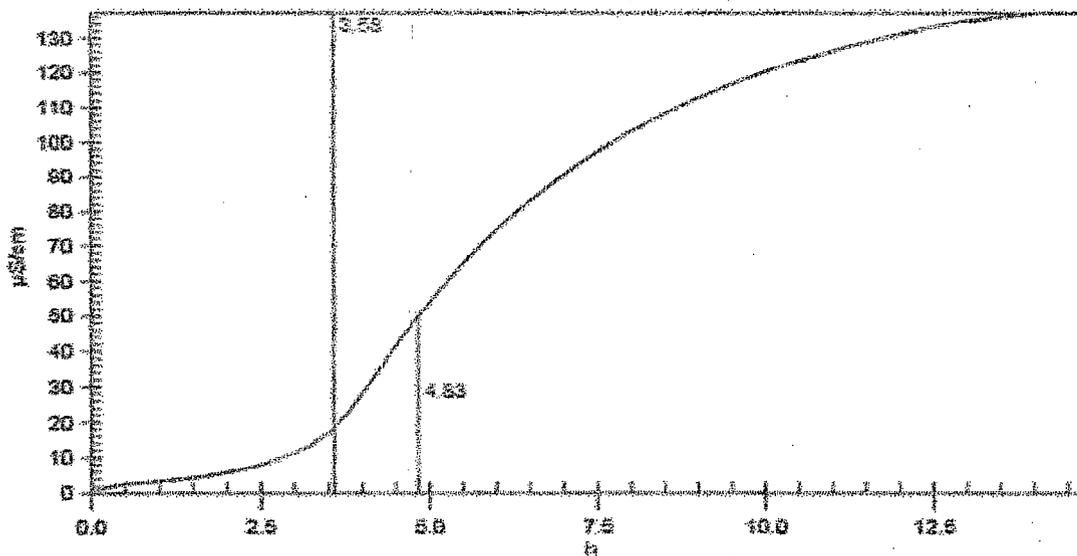


ID 1	ID 2
CRUDO B1.2. 200ppm NATUROX 80°C y 10 l/h	3.0282
Induction time	7.38 h
R1	7.38 h (1; 1; 0)

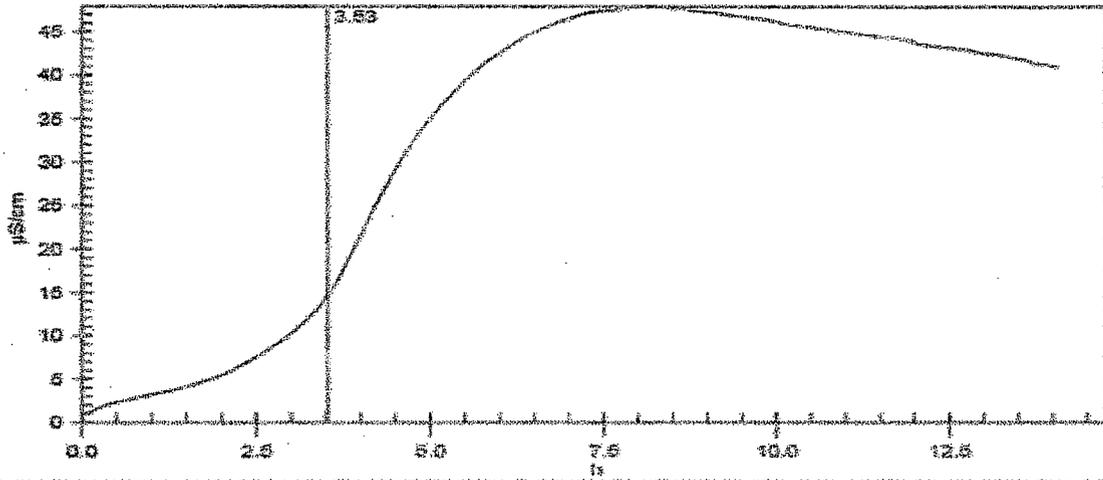


Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

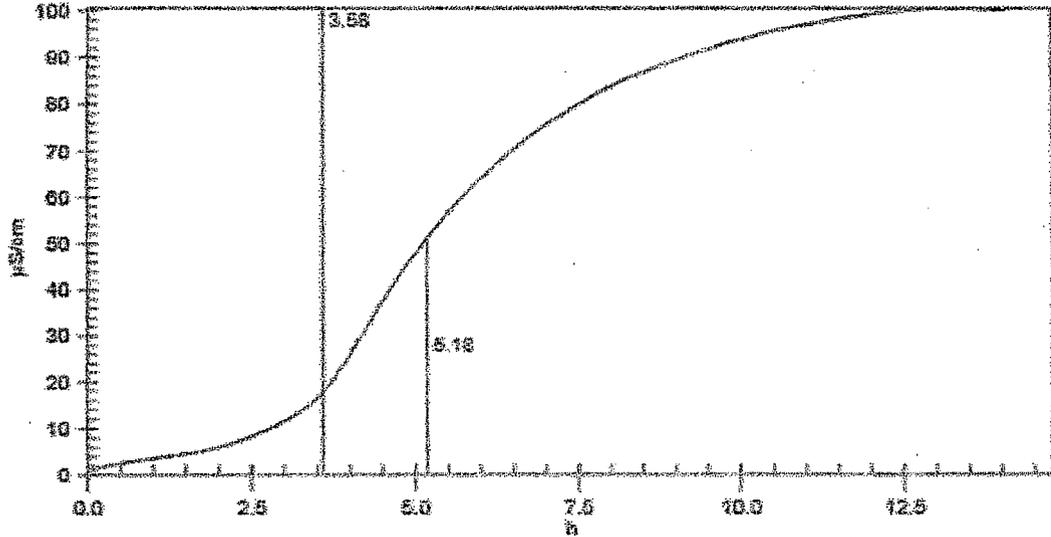
ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2. NATUROX 200ppm 90°C y 10l/h	3.0255		
Induction time	3.58 h		
Stability time	4.83 h	Delta Kappa	50 $\mu\text{S/cm}$
R1	3.58 h	(1; 1; 0)	
R2	4.83 h	(0; 1; 1; 0)	



ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 NATUROX 200ppm 90°C y 10ln	3.0829
Induction time	3.53 h
Stability time	- h
R1	Delta Kappa (1; 1; 0)
R2	(0; 1; 1; 0)

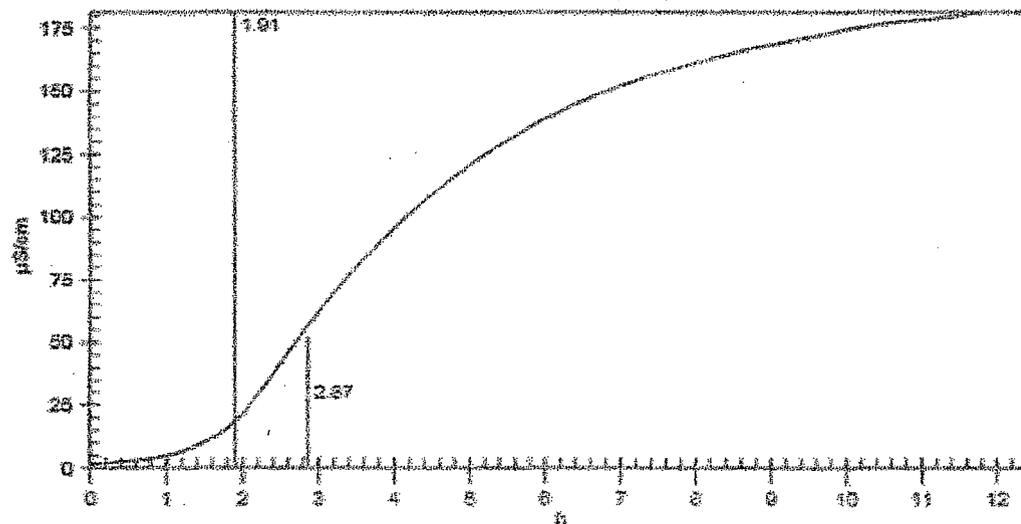


ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 NATUROX 200ppm 90°C y 10ln	3.0157
Induction time	3.58 h
Stability time	5.18 h
R1	Delta Kappa (1; 1; 0)
R2	(0; 1; 1; 0)

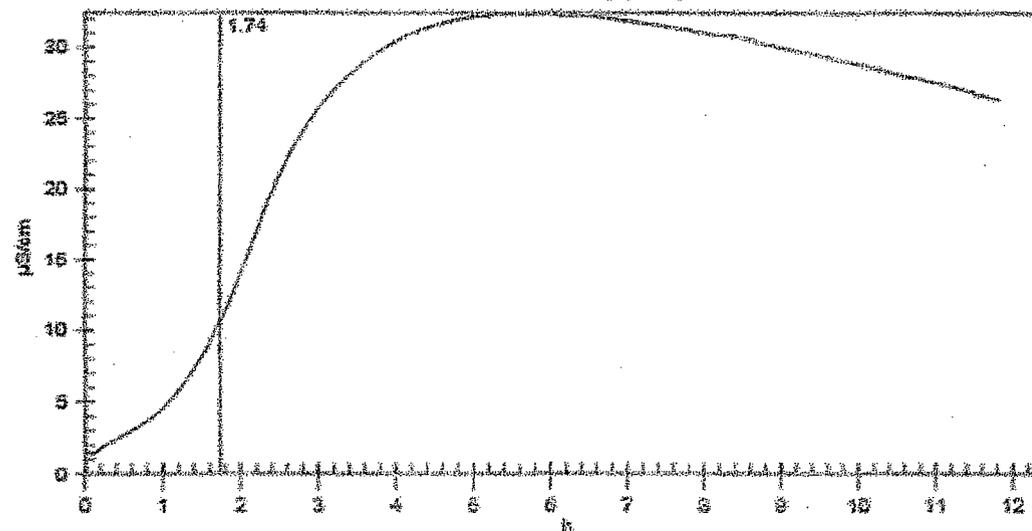


Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 NATUROX 200ppm 100°C y 10m	3.0056
Induction time	1.91 h
Stability time	2.87 h
R1	1.91 h
	Delta Kappa (1; 1; 0)
	50 μ S/cm

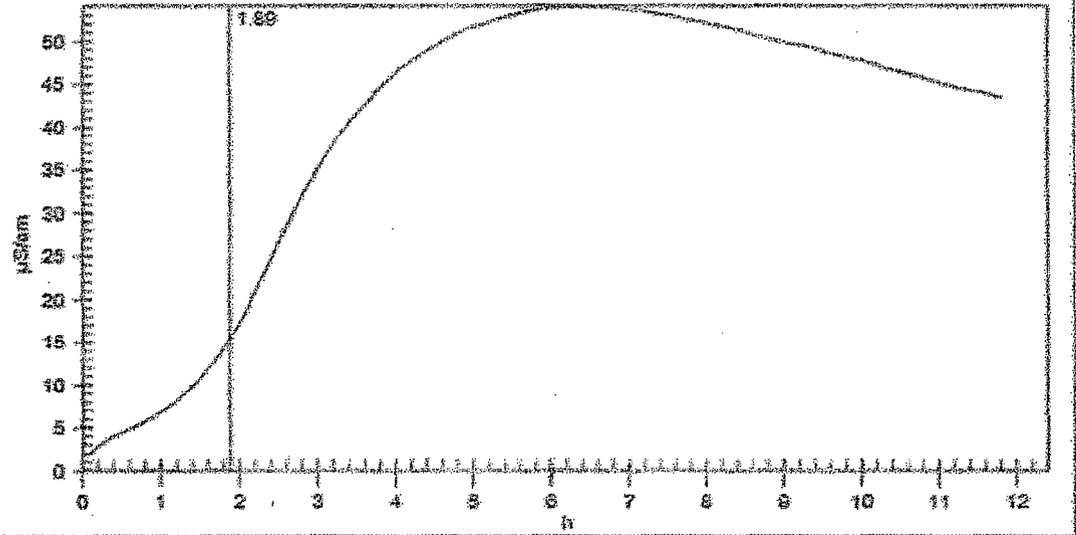


ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 NATUROX 200ppm 100°C y 10m	3.0721
Induction time	1.74 h
Stability time	- h
R1	1.74 h
	Delta Kappa (1; 1; 0)
	0 μ S/c



ID 1	ID 2
CRUDO B1.2 NATUROX 200ppm 160°C y 10h	3.0471
Induction time	1.89 h
Stability time	- h
R1	1.89 h (1; 1; 0)

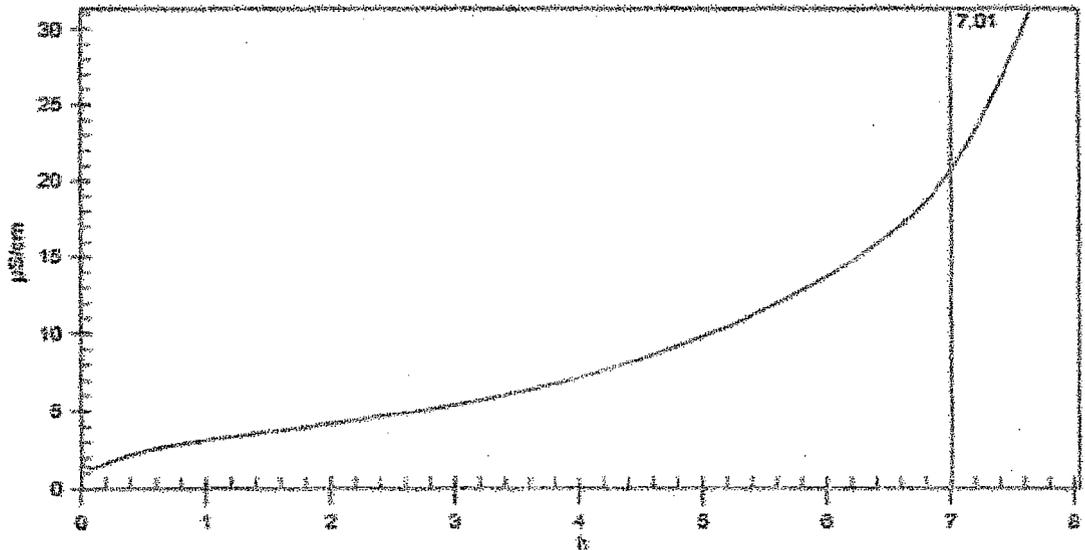
D $\mu\text{S/cm}$



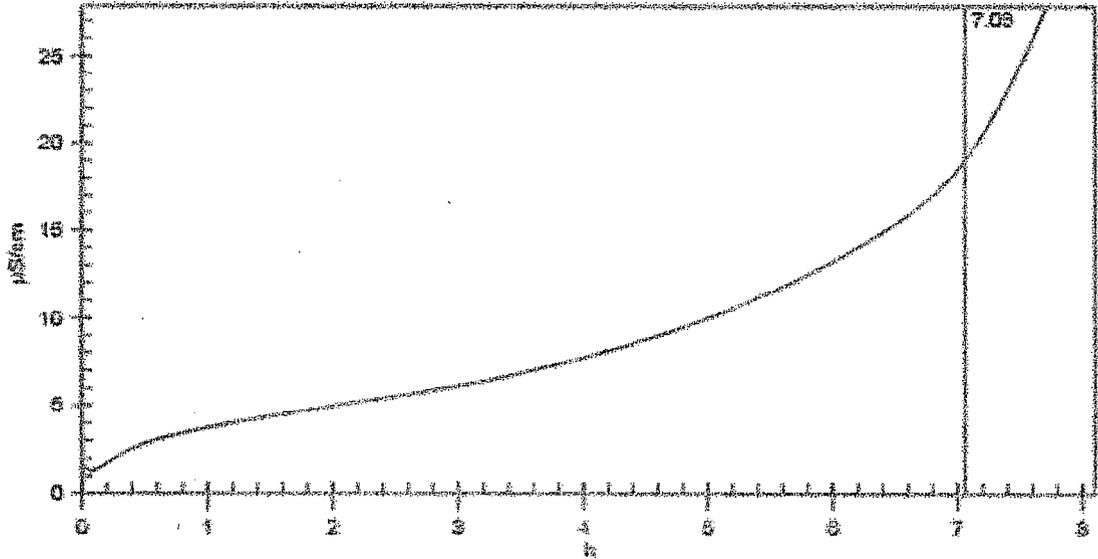
Aceite de pescado crudo industrial + DRESPHEROLS 90% (200ppm)

- Temperatura = 80°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1	ID 2
CRUDO B1.2. 200ppm DESPHEROLES 80°C - 10	3.0514
Induction time	7.01 h
R1	7.01 h (1; 1; 0)

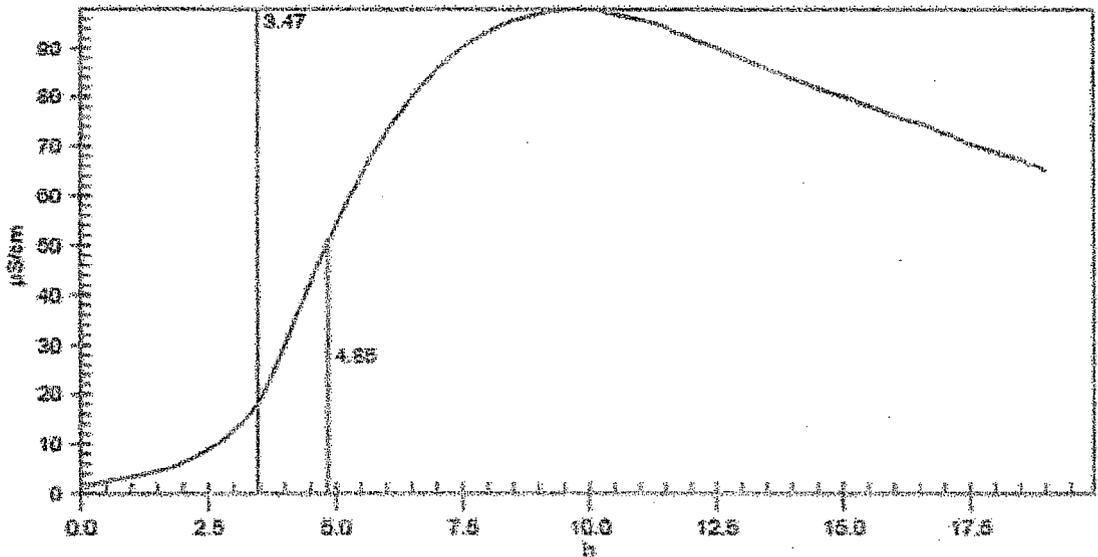


ID 1 ID 2
 CRUDO B1.2. 200ppm DESPHEROLES 80°C - 10 3.0448
 Induction time 7.06 h
 R1 7.06 h (1; 1; 0)

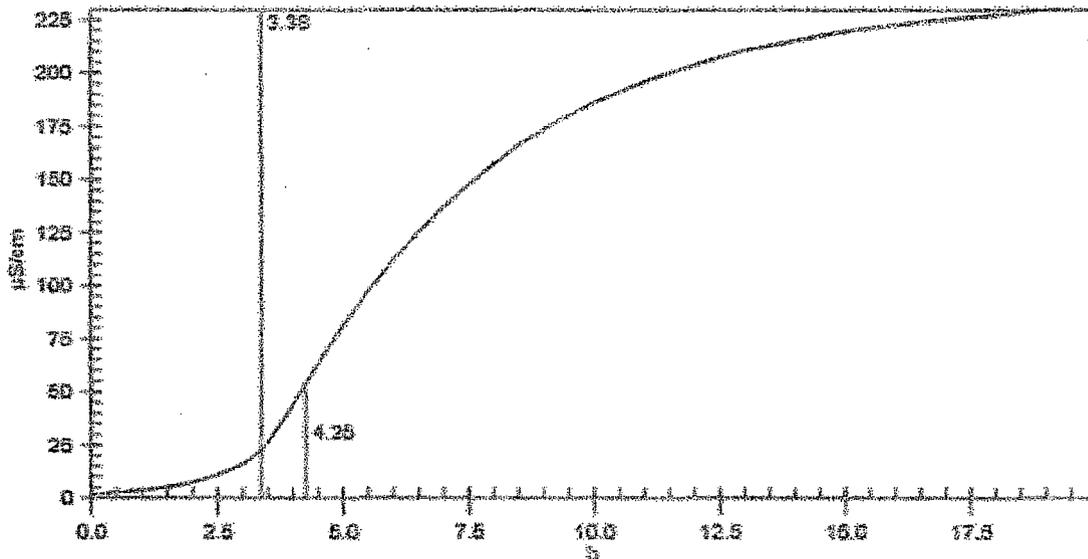


- Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

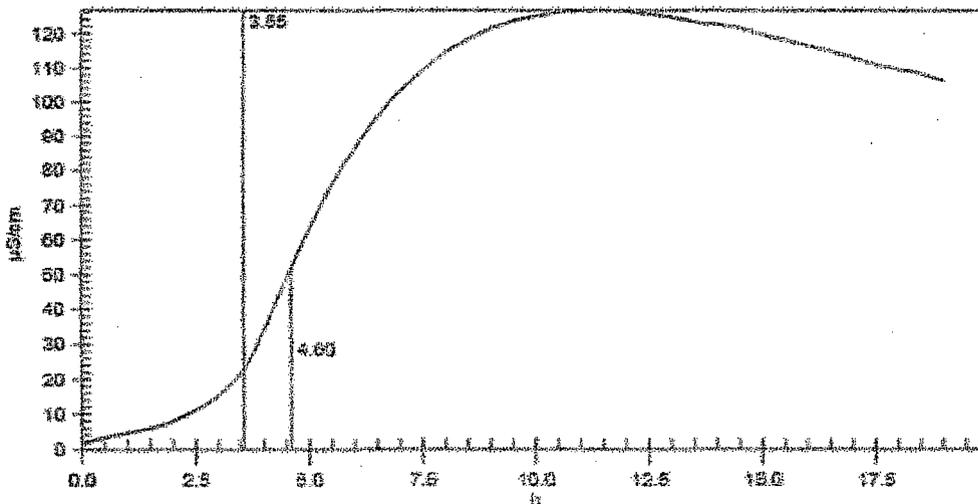
ID 1 ID 2
 CRUDO 200ppm ANTIOXIDANTE 2 -90°C 3.0573
 Induction time 3.47 h
 Stability time 4.85 h Delta Kappa 50 μS/cm
 R1 3.47 h (1; 1; 0)
 R2 4.85 h (0; 1; 1; 0)



ID 1	ID 2		
CRUDO 200ppm ANTIOXIDANTE 2 -80°C	3.0039		
Induction time	3.36 h		
Stability time	4.26 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.38 h	(1; 1; 0)	
R2	4.26 h	(0; 1; 1; 0)	

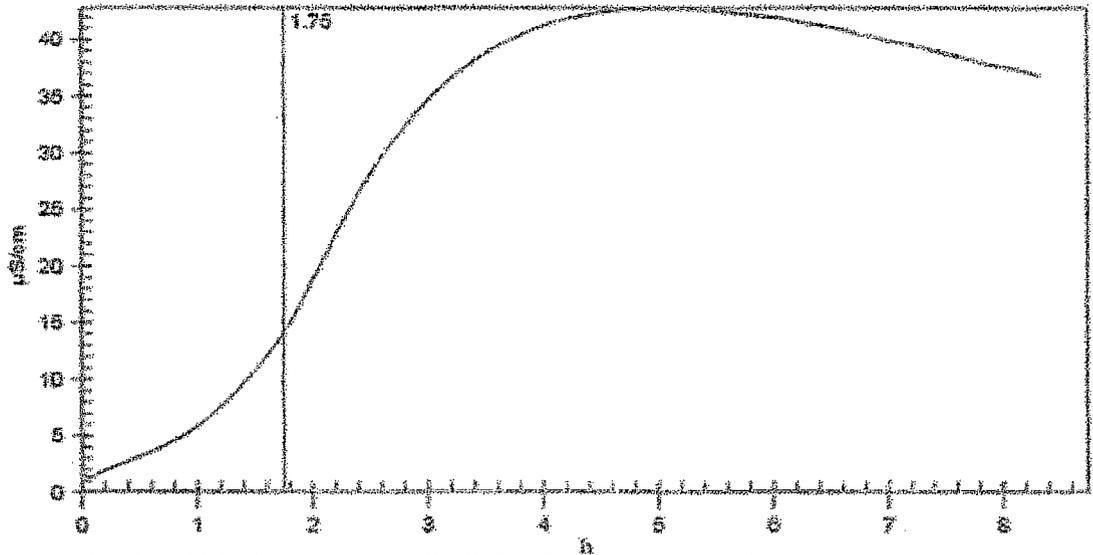


ID 1	ID 2		
CRUDO 200ppm ANTIOXIDANTE 2 -80°C	3.0242		
Induction time	3.55 h		
Stability time	4.60 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.55 h	(1; 1; 0)	
R2	4.60 h	(0; 1; 1; 0)	

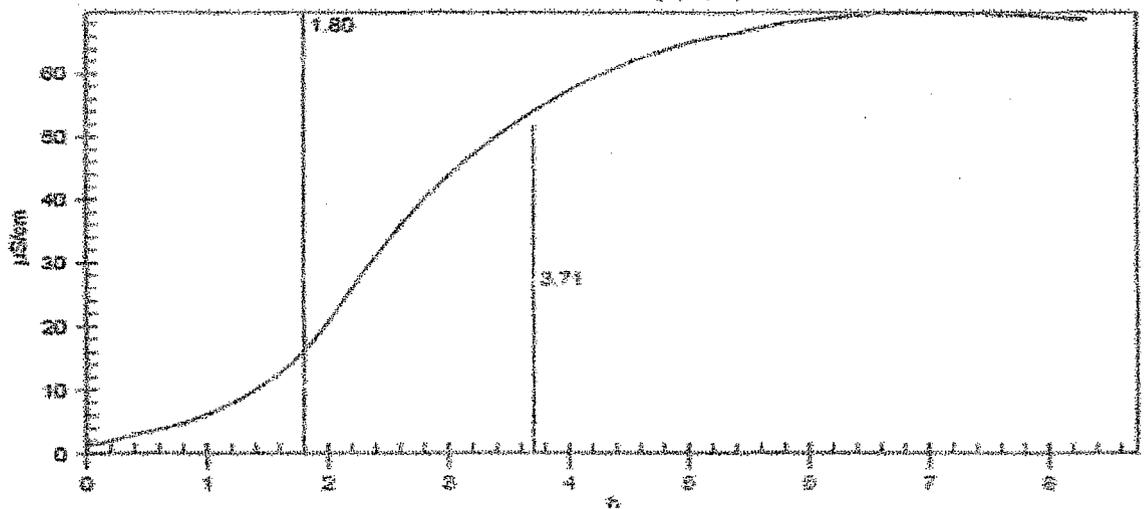


- Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

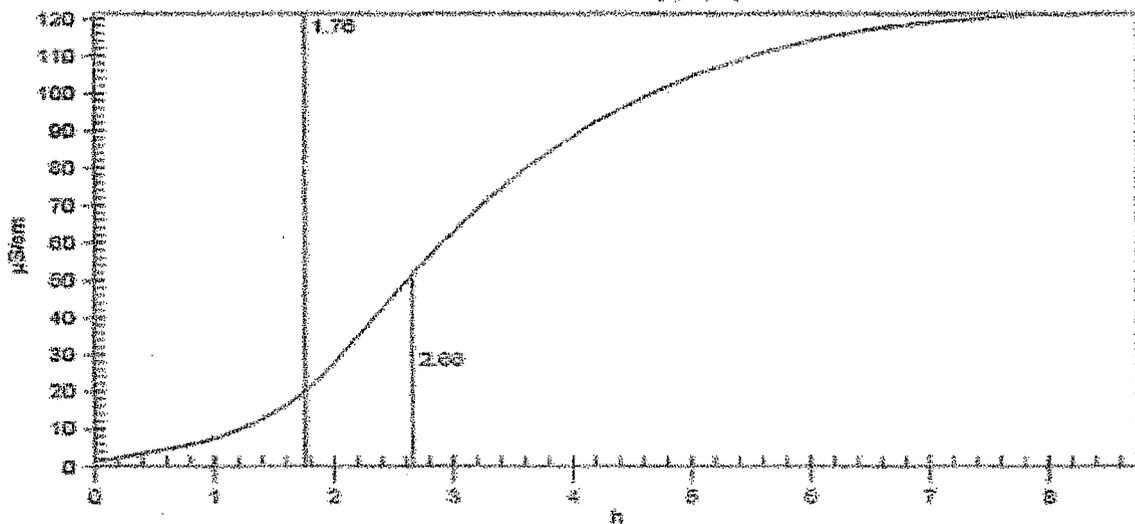
ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2. 200ppm DESPHEROLES 100°C - 1	3.0544		
Induction time	1.75 h		
Stability time	- h	Delta Kappa	0 $\mu\text{S/cm}$
R1	1.75 h	(1; 1; 0)	



ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2. 200ppm DESPHEROLES 100°C - 1	3.0480		
Induction time	1.80 h		
Stability time	3.71 h	Delta Kappa	50 $\mu\text{S/cm}$
R1	1.80 h	(1; 1; 0)	



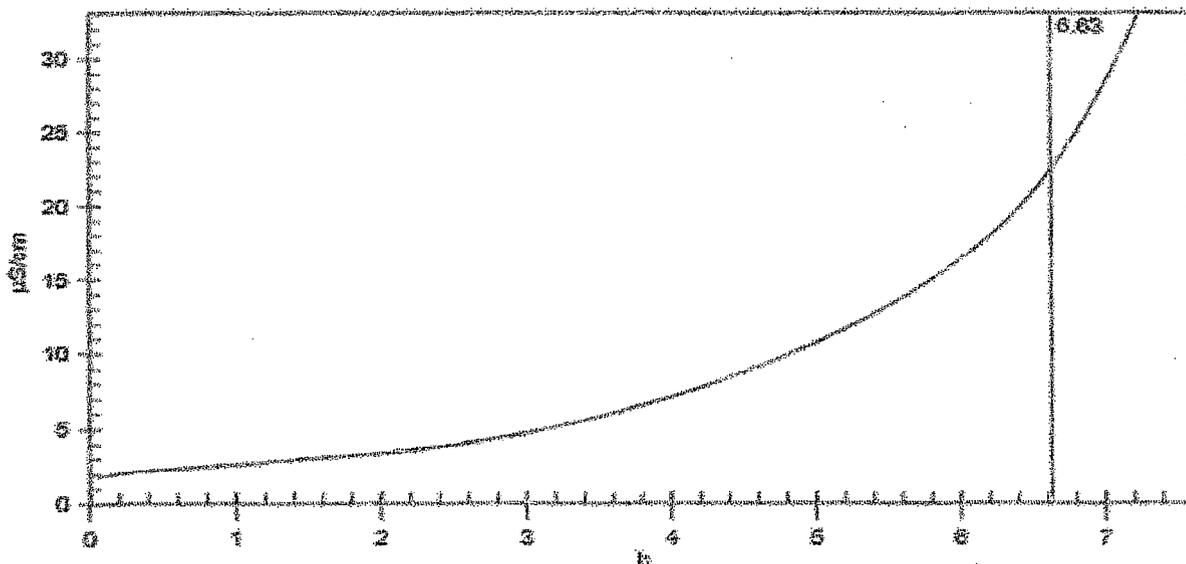
ID 1	ID 2		
CRUDO B1.2. 200ppm DESPHEROLES 100°C - 1	3.0438		
Induction time	1.76 h		
Stability time	2.66 h	Delta Kappa	50 $\mu\text{S}/\text{cm}$
R1	1.76 h	(1; 1; 0)	



Aceite de pescado crudo industrial + BHT (200ppm)

- Temperatura = 80°C y flujo de aire = 10 l/h

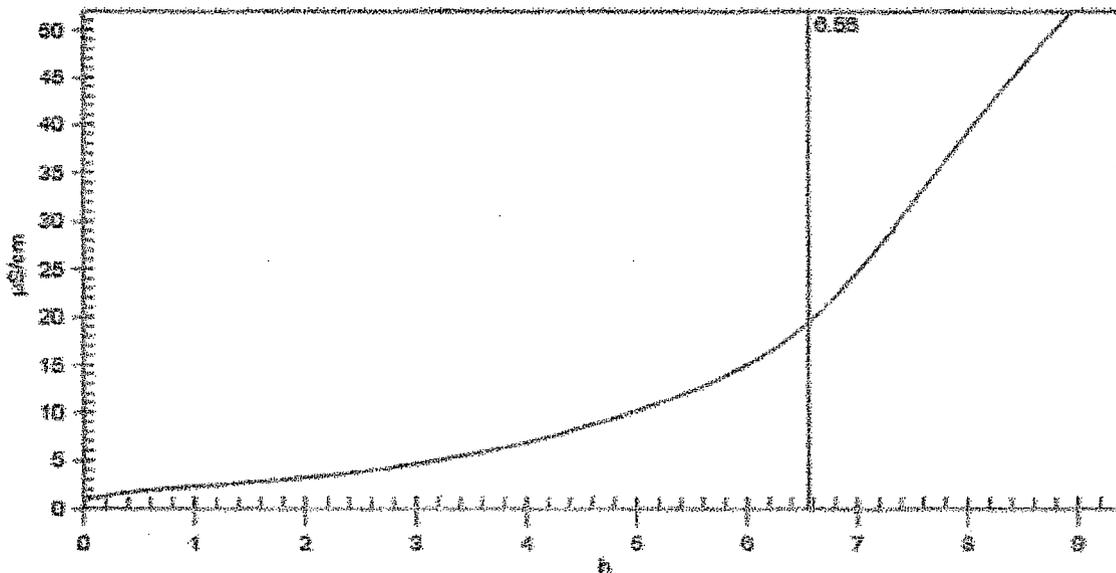
ID 1	ID 2	
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 80°	3.0497	
Induction time	6.63 h	
R1	6.63 h	(1; 1; 0)



ID 1 ID 2
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 80° 3.0104

Induction time 6.56 h

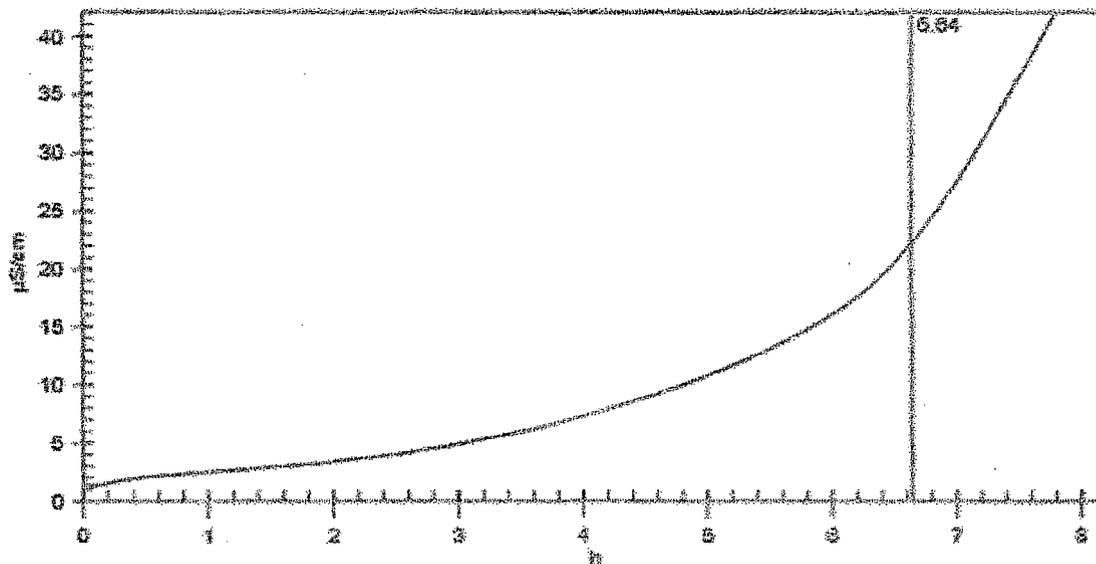
R1 6.56 h (1; 1; 0)



ID 1 ID 2
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 90° 3.0465

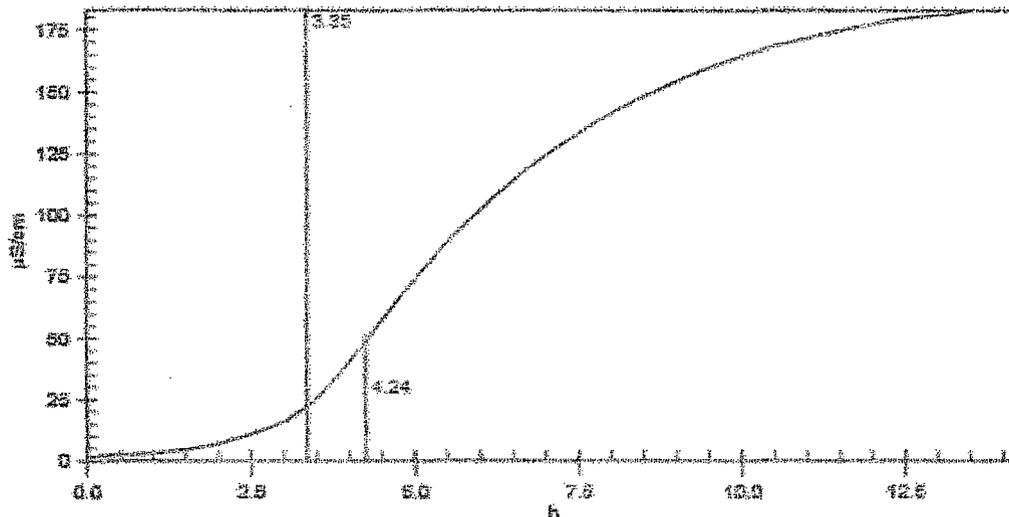
Induction time 6.64 h

R1 6.64 h (1; 1; 0)

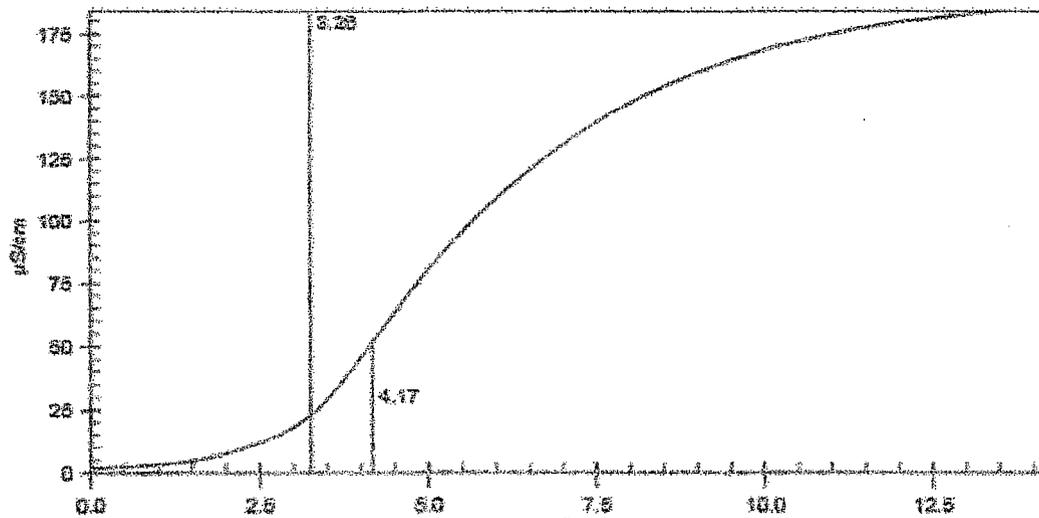


- Temperatura = 90°C y flujo de aire = 10 l/h

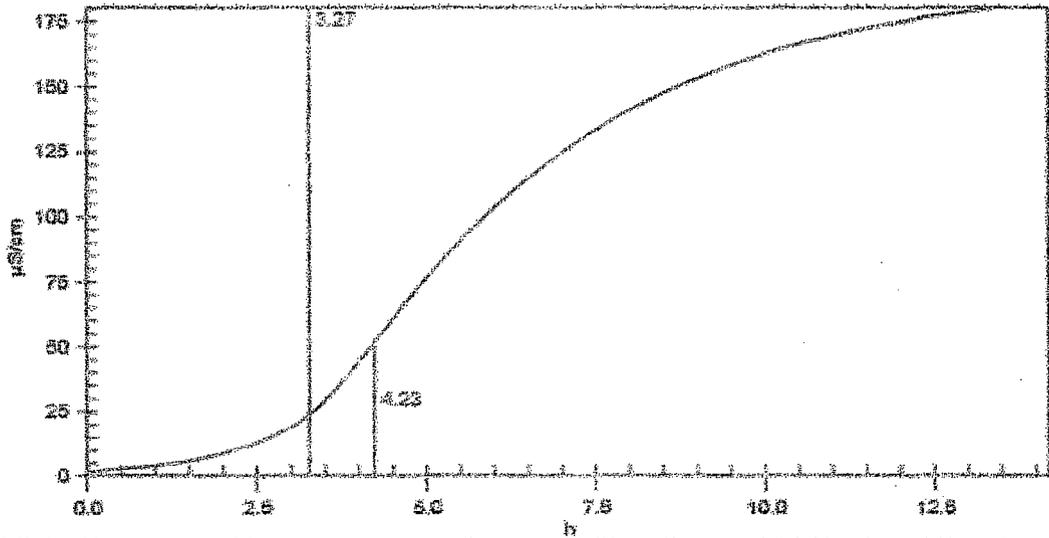
ID 1		ID 2	
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 90°	3.0195	ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 90°	3.0195
Induction time	3.35 h		
Stability time	4.24 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.35 h	(1; 1; 0)	
R2	4.24 h	(0; 1; 1; 0)	



ID 1		ID 2	
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 90°	3.0212	ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 90°	3.0212
Induction time	3.26 h		
Stability time	4.17 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.26 h	(1; 1; 0)	
R2	4.17 h	(0; 1; 1; 0)	

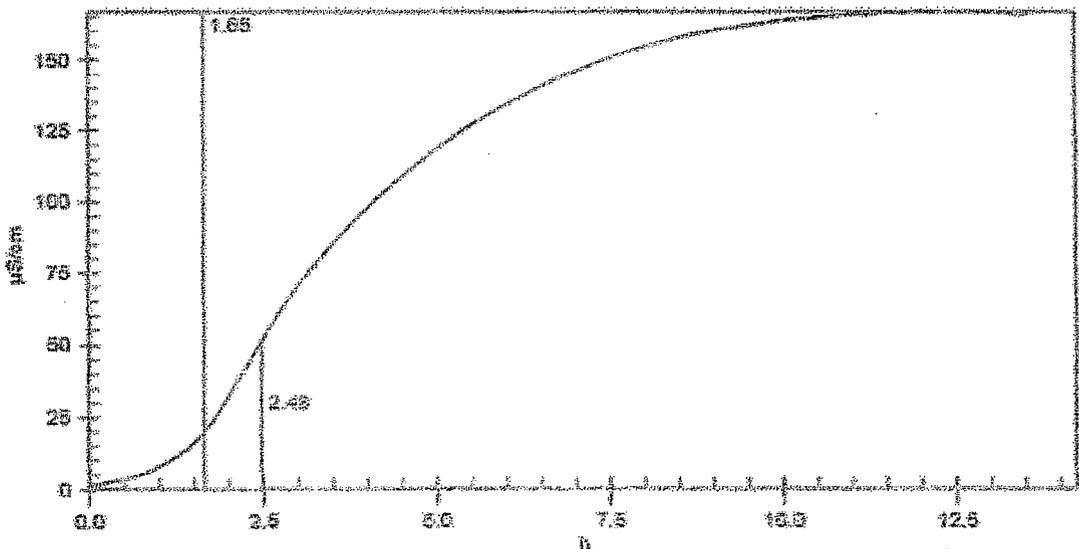


ID 1	ID 2		
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 50°	3.0449		
Induction time	3.27 h		
Stability time	4.23 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	3.27 h	(1; 1; 0)	
R2	4.23 h	(0; 1; 1; 0)	



- Temperatura = 100°C y flujo de aire = 10 l/h

ID 1	ID 2		
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 100	3.0094		
Induction time	1.65 h		
Stability time	2.46 h	Delta Kappa	50 μ S/cm
R1	1.65 h	(1; 1; 0)	



ID 1

ID 2

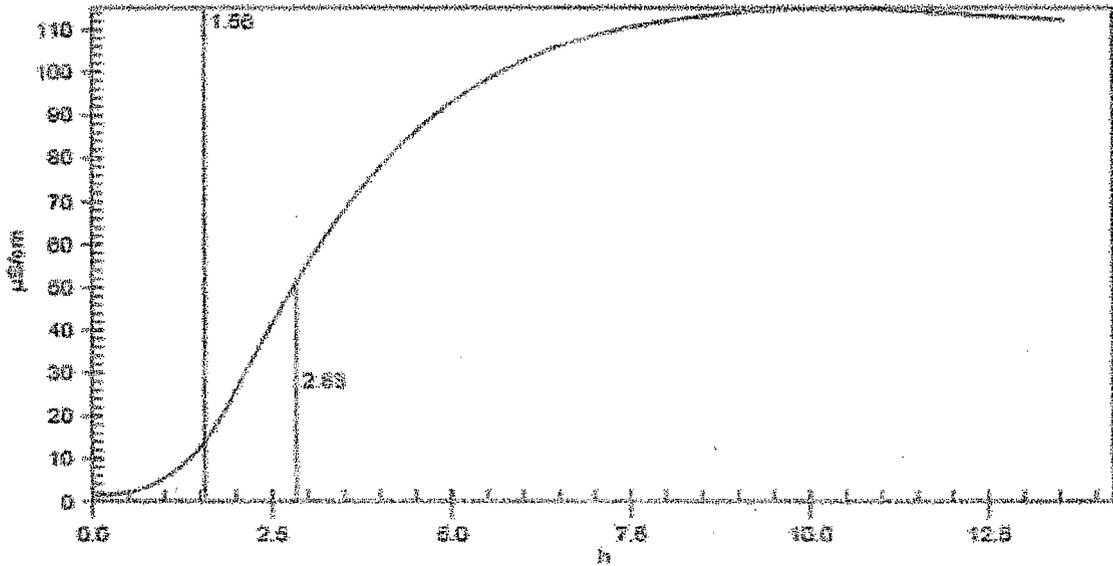
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 100 3.0166

Induction time 1.56 h

Stability time 2.83 h Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

Rf 1.56 h (1; 1; 0)



ID 1

ID 2

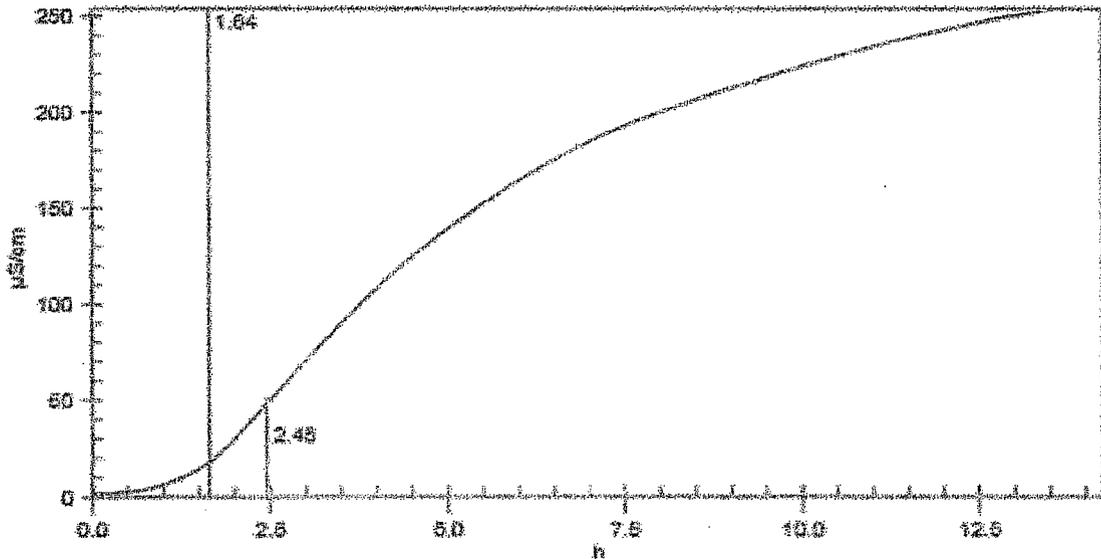
ACEITE CRUDO SUPERFICIE 200PPM BHT 100 3.0857

Induction time 1.64 h

Stability time 2.45 h Delta Kappa

50 $\mu\text{S/cm}$

Rf 1.64 h (1; 1; 0)



ANEXO 3

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL ACEITE DE PESCADO CRUDO INDUSTRIAL

Los resultados del cuadro 13 presentan las características físicoquímicas de la evaluación del aceite de pescado crudo industrial, se determinó el promedio de tres repeticiones y la desviación estándar.

Cuadro 13: Calidad inicial del aceite de pescado crudo industrial.

ANÁLISIS	REPETICIONES	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
Densidad relativa	0.9371	0.9267	0.012247857
	0.9298		
	0.9132		
humedad	0.63	0.63	0.05
	0.68		
	0.58		
Índice de acidez	3.2	3.167	0.057735027
	3.2		
	3.1		
Índice de peróxido	3.6	3.6	0
	3.6		
	3.6		
Índice de anisidina	20.9	20.6	0.264575131
	20.4		
	20.5		
Índice de yodo	145.6	145.8	0.6244998
	146.5		
	145.3		
Totox	28	27.7667	0.2081666
	27.6		
	27.7		
Índice de refracción	1.479	1.479	0.001
	1.478		
	1.48		

(*)Valores promedios de tres repeticiones, valores de desviación estándar.

ANEXO 4

FICHA TECNICA DE LOS ANTIOXIDANTES

- **Ficha técnica Etoxiquina**

USO:

Utilizado como conservante de alimentos (E324), utilizado para evitar el enranciamiento de las grasas.

COMPONENTES:

Etoxiquina es un antioxidante basado en quinolina

PROPIEDADES:

Masa Molar	217.31 g mol ⁻¹
Punto de fusión	< 25°C
Punto de ebullición	123 – 125°C

- **Ficha técnica butil hidroxitolueno (BHT)**

USO:

Utilizado como conservante de grasas y aceites.

PROPIEDADES:

Solubilidad	Metanol
Apariencia	Blanco a amarillo cristalino
Temperatura de solidificación	69.2 -70.0 °C
Punto de fusión	69.5 – 72°C

- **Ficha técnica Despherols 90%**

USO:

Antioxidante natural que protege una amplia variedad de productos cosméticos y alimenticios que están propensos a los efectos de la oxidación como: grasas

animales, productos horneados, aceites minerales, aceites vegetales y mariscos.

COMPONENTES:

Alfa tocoferol

Beta y gama tocoferol

Delta tocoferol

DOSIS:

160 – 500 ppm, dependiendo del contenido de grasa en el producto final.

PROPIEDADES:

Aspecto físico	Aspecto viscoso
Color	Café rojizo
Olor	Característico
Concentración de tocoferoles	900 mg/g total de tocoferol
Acidez	1.0 ml max. De NaOH 0.1 N
Impurezas organicas volátiles	Pasa la prueba
Rotación específica (alfa) D (food chemicals codex)	20 min.

• Ficha técnica Naturox Premium Liquid

INGREDIENTES

Tocoferoles naturales mezclados, aceite vegetal, lecitina, extracto de romero

PROPIEDADES:

Apariencia y olor	Líquido color ámbar con olor a herbal
Punto de ebullición	N/A
Viscosidad	50 – 150 cps at 25°C

Densidad del vapor	N/A
Gravedad específica	0.92 – 0.94
Índice de refracción	1.48 -1.49

- **Ficha técnica Fortium TM 95**

DESCRIPCIÓN

Un antioxidante derivado de plantas apto para consumo humano para la conservación de grasas, aceites. Vitaminas solubles, carotenoides y otros materiales sensibles al oxígeno.

INGREDIENTES

Tocoferoles mixtos

MODO DE EMPLEO

Usar 0.005 – 0.0315% dependiendo de la aplicación final. Referirse al código de regulaciones federales para más detalles: 21 CFR 182. 3890.

PROPIEDADES:

Gravedad específica	0.930 -0.9350
Índice de refracción	1.495 – 1.505
Tocoferoles mixtos	95%
Color	Café rojizo
olor	Herbal

ALMACENAMIENTO

Guardar en un lugar fresco y a la sombra arribade 40°F. No permitir que se congele.

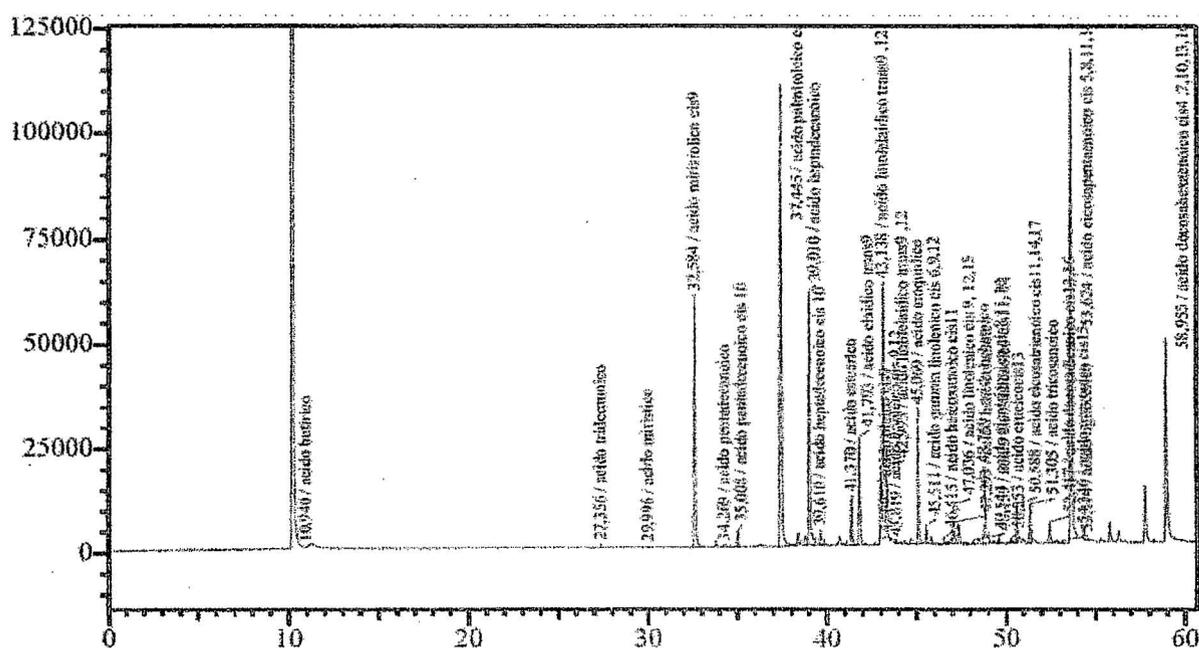
ANEXO 5

PERFIL DE ACIDOS GRASOS DEL ACEITE DE PESCADO CRUDO

Determinación del perfil de ácidos grasos del Aceite de Pescado Crudo, procedente de la pesca Industrial (captura de diferentes especies marinas, principalmente Anchoveta, Zona: Coishco-Ancash-Peru), extraído de la parte superior del tanque de almacenamiento de aceites crudos de pescado de la Empresa Hayduk S.A.

El perfil de ácidos grasos del Aceite Crudo de Pescado, se realizó empleando un Cromatógrafo de Gases Marca Shimadzu, Modelo GC-2010. Automuestreador para líquidos volátiles Marca Tekmar, Modelo HT3.

Cromatograma 1 del Aceite Crudo de Pescado.

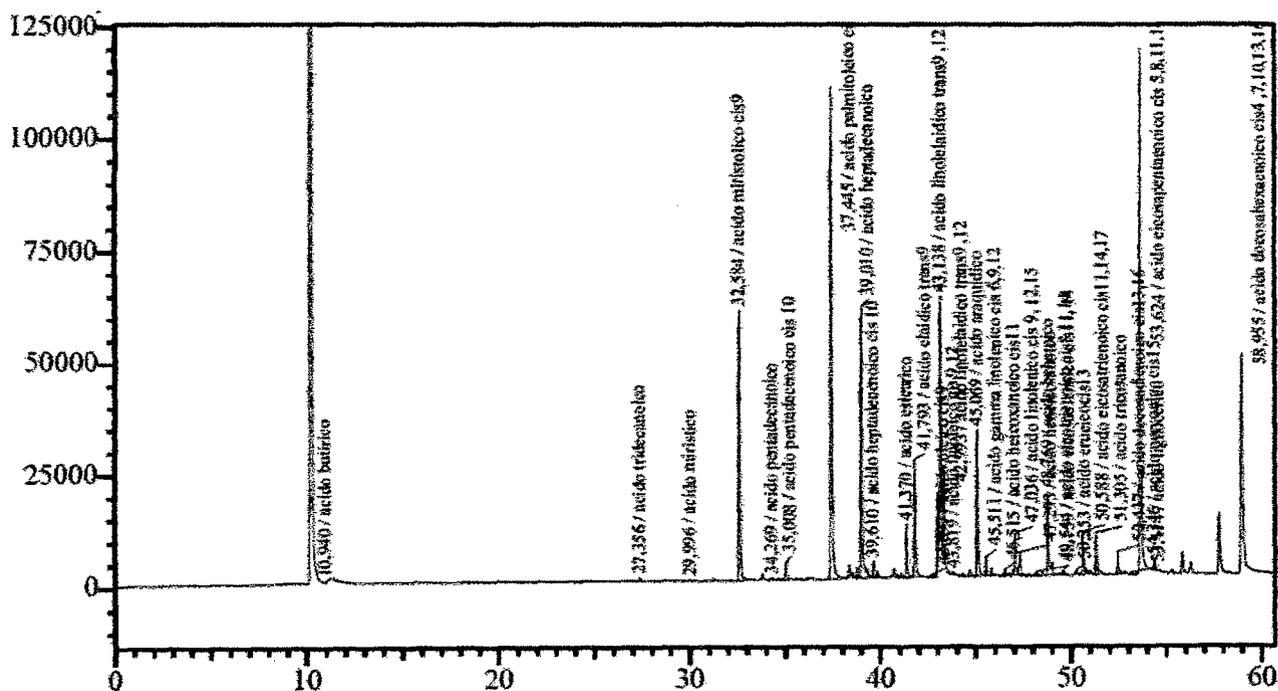


Perfil porcentual 01 del Aceite Crudo de Pescado.

Peak #	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Units	CompoundName
1	10,940	849.3	325.9	0.000	%	Acido butirico
2	27,356	3347.0	750.1	0.065	%	Acido tridecanoico
3	29,996	1056.3	238.1	0.085	%	Acido miristico
4	32,584	287557.	60377.5	5.861	%	Acido miristolico cis9
		6				
5	34,269	4503.9	419.8	0.182	%	Acido pentadecanoico
6	35,008	16243.6	3655.1	0.661	%	Acido pentadecenoicocis 10
7	37,445	647432.	109737.	8.646	%	Acido palmitoleico cis9
		5	6			
8	39,010	318938.	60591.4	13.265	%	Acido heptadecanoico
		9				
9	39,610	20884.6	3489.5	0.886	%	Acido heptadecenoicocis 10
10	41,370	57242.5	11712.7	4.922	%	Acido estearico
11	41,793	122604.	25907.5	2.581	%	Acido elaidico trans9
		6				
12	42,697	3792.5	487.8	0.324	%	acido oleico cis9
13	42,993	46945.9	14252.4	0.954	%	Acido linoleaidico trans9 ,12
14	43,138	245977.	56903.2	5.000	%	Acido linoleaidico trans9 ,12
		8				
15	43,819	3155.8	537.7	0.136	%	Acido linoleicocis 9,12
16	45,069	152139.	32358.9	13.376	%	Acido araquidico
		9				

22	48,769	99795.6	18357.4	4.452	%	Acido behemico
23	49,544	5167.0	903.4	0.227	%	Acido eicotrienoico cis8,11,14
24	50,253	3154.4	936.6	0.134	%	acido erucicocis13
25	50,588	42124.3	9501.9	1.957	%	Acido eicosatrienoico cis11,14,17
26	51,305	43517.4	9300.3	0.908	%	Acido tricosanoico
27	52,417	25986.1	4969.2	1.212	%	Acido docosadienoico cis13,16
28	53,114	1800.4	414.4	0.083	%	Acido lignocerico
29	53,624	427463.0	98701.1	11.648	%	Acido eicosapentaenoicocis 5,8,11,14,17
30	54,346	11988.9	2706.6	0.558	%	Acido nervonico cis15
31	58,955	206198.7	40825.3	10.013	%	Ácido docosahexaenoico cis4 ,7,10,13,16,19

Cromatograma2 del Aceite Crudo de Pescado.



Peak#	Ret.Time	Area	Height	Conc.	Units	CompoundName
1	10,940	849.3	325.9	0.000	%	Acido butirico
2	27,356	3347.0	750.1	0.065	%	Acido tridecanoico
3	29,996	1056.3	238.1	0.084	%	Acido miristico
4	32,584	287557.6	60377.5	5.828	%	Acido miristolico cis9
5	34,269	4503.9	419.8	0.181	%	Acido pentadecanoico
6	35,008	16243.6	3655.1	0.657	%	Acido pentadecenoicocis 10
7	37,445	647432.5	109737.6	8.597	%	Acido palmitoleico cis9
8	39,010	318938.9	60591.4	13.190	%	Acido heptadecanoico
9	39,610	20884.6	3489.5	0.881	%	Acido heptadecenoicocis 10
10	41,370	57242.5	11712.7	4.895	%	Acido estearico
11	41,793	122604.6	25907.5	2.567	%	Acido elaidico trans9
12	42,697	3792.5	487.8	0.322	%	acido oleico cis9
13	42,993	46945.9	14252.4	0.949	%	Acido linolelaidico trans9 ,12
14	43,138	245977.8	56903.2	4.972	%	Acido linolelaidico trans9 ,12
15	43,819	3155.8	537.7	0.136	%	Acido linoleicocis 9,12
16	45,069	152139.9	32358.9	13.300	%	Acido araquidico
17	45,511	24780.1	4270.8	0.540	%	acido gamma linolenicocis 6,9,12
18	46,515	9430.8	1477.1	0.396	%	Acido heicoxanoico cis11
19	47,036	43523.1	9307.0	1.963	%	Acido linolenicocis 9, 12,15
20	47,293	29467.9	5019.0	1.255	%	Acido heneicosanoico
21	48,159	5242.7	778.0	0.231	%	Acido eicosadienoico cis11, 14
22	48,769	99795.6	18357.4	4.427	%	Acido behemico
23	49,544	5167.0	903.4	0.226	%	Acido eicotrienoico cis8,11,14
24	50,253	3154.4	936.6	0.133	%	acido erucicocis13

24	50,253	3154.4	936.6	0.133 %	acido erucicocis13
25	50,588	42124.3	9501.9	1.946 %	Acido eicosatrienoico cis11,14,17
26	51,305	43517.4	9300.3	0.903 %	Acido tricosanoico
27	52,417	25986.1	4969.2	1.205 %	Acido docosadienoico cis13,16
28	53,114	1800.4	414.4	0.083 %	Acido lignocerico
					Acido eicosapentaenoicocis
29	53,624	438759.0	100033.9	11.130 %	5,8,11,14,17
30	54,346	11988.9	2706.6	0.555 %	Acido nervonico cis15
					Acido docosahexaenoico cis4
31	58,955	207819.3	40968.9	10.237 %	,7,10,13,16,19

ANEXO 6

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS REALIZADOS A LOS TIEMPOS DE INDUCCIÓN OBTENIDOS PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LOS ANTIOXIDANTES SOBRE EL ACEITE CRUDO DE PESCADO.

Tabla 01. Tiempos de Inducción (OSI) a diferentes temperaturas y aplicando antioxidantes al aceite crudo de pescado.

Tratamientos	80°C	90°C	100°C
C	6.65	3.38	1.62
	6.6	3.29	1.65
	6.71	3.2	1.56
ACEITE + A1	10.03	4.58	2.28
	9.94	4.84	2.47
	9.93	4.93	2.59
ACEITE + A2	7.01	3.47	1.75
	7.06	3.38	1.8
	7.04	3.55	1.76
ACEITE + A3	7.43	3.58	1.91
	7.25	3.53	1.74
	7.38	3.58	1.89
ACEITE + A4	13.72	6.18	3.18
	13.83	6.02	3.15
	13.93	6.26	3.06
ACEITE + A5	7.66	3.82	1.82
	7.74	3.88	1.97
	7.82	3.74	1.88

Rancimat 743, 3g aceite, Flujo de aire 10 L/h.

Antioxidantes (A1,A2,A3,A4,A5), C: Aceite Control

Antioxidantes :

- **A1:** Tocoferoles Mixtos
- **A2:** Alfa tocoferol, beta y gamma tocoferol, delta tocoferol.

- **A3:** Aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero.
- **A4:** Etoxiquina(dímero y trímeros de etoxiquina, parafenetidina).
- **A5:** BHT(Butil hidroxitolueno)

El StatAdvisor

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. En la tabla 03 el asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la tabla 02, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 02 Pruebas de Múltiple Rangos para los tiempos de inducción (OSI) por Temperatura

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Temperatura</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
100	18	2,11556	0,22249	X
			1	

90	18	4,12278	0,22249	X
			1	
80	18	8,76278	0,22249	X
			1	

Tabla 03 Estableciendo diferencias significativas por Temperatura

Contras te	Sig.	Diferenc ia	+/- Límites
80 - 90	*	4,64	0,76212 1
80 - 100	*	6,64722	0,76212 1
90 - 100	*	2,00722	0,76212 1

* indica una diferencia significativa.

De la tabla 03, se evidencia claramente que existe diferencia significativa en los tiempos de inducción respecto a las tres temperaturas.

El StatAdvisor

En la tabla 04 el asterisco que se encuentra al lado de los 8 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla 04 Pruebas de Múltiple Rangos para tiempos de induccion(OSI) por Antioxidante

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

Contras te	Sig.	Diferencia	+/- Límites

A1 - A2	*	1,64111	1,32307
A1 - A3	*	1,47778	1,32307
A1 - A4	*	-1,86	1,32307
A1 - A5		1,25111	1,32307
A1 - C	*	1,88111	1,32307
A2 - A3		-0,163333	1,32307
A2 - A4	*	-3,50111	1,32307
A2 - A5		-0,39	1,32307
A2 - C		0,24	1,32307
A3 - A4	*	-3,33778	1,32307
A3 - A5		-0,226667	1,32307
A3 - C		0,403333	1,32307
A4 - A5	*	3,11111	1,32307
A4 - C	*	3,74111	1,32307
A5 - C		0,63	1,32307

* indica una diferencia significativa.

Leyenda: Antioxidantes (A1,A2,A3,A4,A5), C: Aceite Control

De la tabla 04, se deduce que el Antioxidante 4, es diferente signitivamente de los otros antioxidantes (A1, A2, A3 Y A5), estos resultados se explican detalladamente en el capítulo de Resultados y Discusiones.

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

ANEXO 7

DETERMINACION DE LA ENERGIA DE ACTIVACION APARTIR DE LA ECUACION DE ARRHENUIS

Tratamientos

Antioxidantes :

C : control

A1: Tocoferoles Mixtos

A2: Alfa tocoferol, beta y gamma tocoferol, delta tocoferol.

A3: Aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero.

A4: Etoxiquina(dímero y trímeros de etoxiquina, parafenetidina).

A5: BHT(Butil hidroxitolueno)

Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989), se puede hacer uso de la ecuación:

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (1)$$

Reemplazamos la ecuación (1) para cada tratamiento:

Para tratamiento1: Control

$$\ln(6.65) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

$$\ln(3.29) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

$$\ln(1.61) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Para tratamiento 2: Aceite +A4

$$\text{Ln}(13.83) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

$$\text{Ln}(6.15) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

$$\text{Ln}(3.13) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Para tratamiento 3: Aceite + A1

$$\text{Ln}(9.97) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

$$\text{Ln}(4.78) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

$$\text{Ln}(2.45) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Para tratamiento 4: Aceite + A3

$$\text{Ln}(7.35) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

$$\text{Ln}(3.56) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

$$\text{Ln}(1.85) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Para tratamiento 5: Aceite + A2

$$\text{Ln}(7.04) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

$$\text{Ln}(3.47) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

$$\text{Ln}(1.77) = \text{Ln}\left(\frac{-\text{Ln}(1 - \alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Para tratamiento 6: Aceite + A6

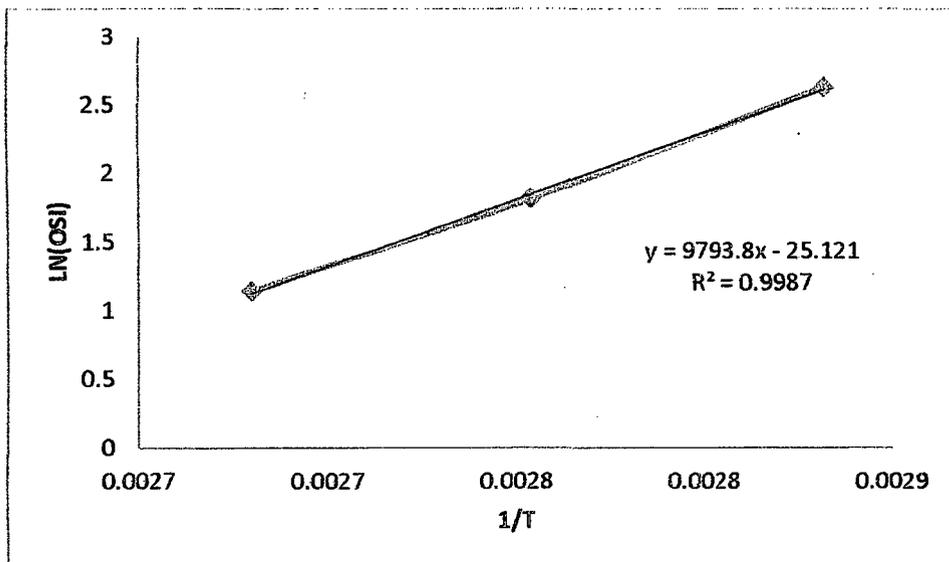
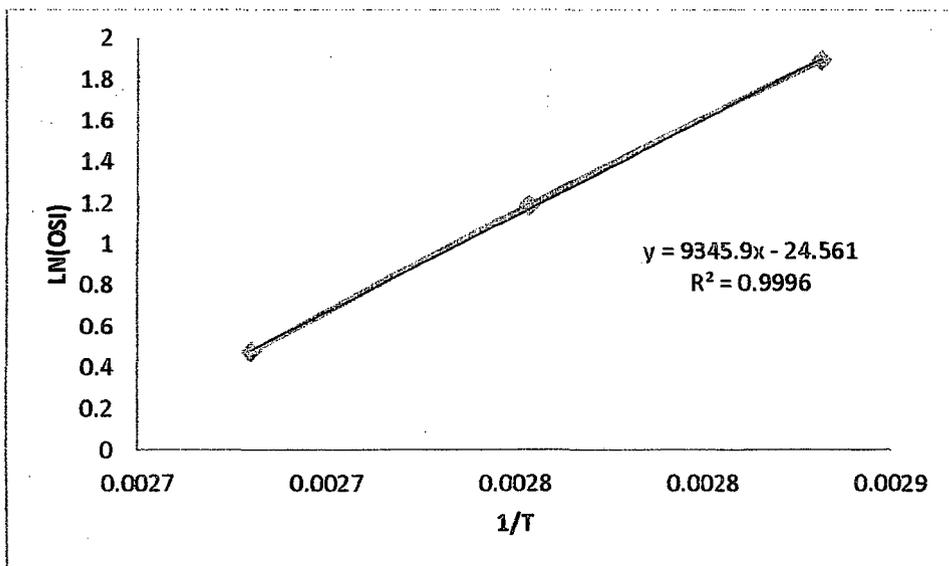
$$\ln(7.74) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{80}$$

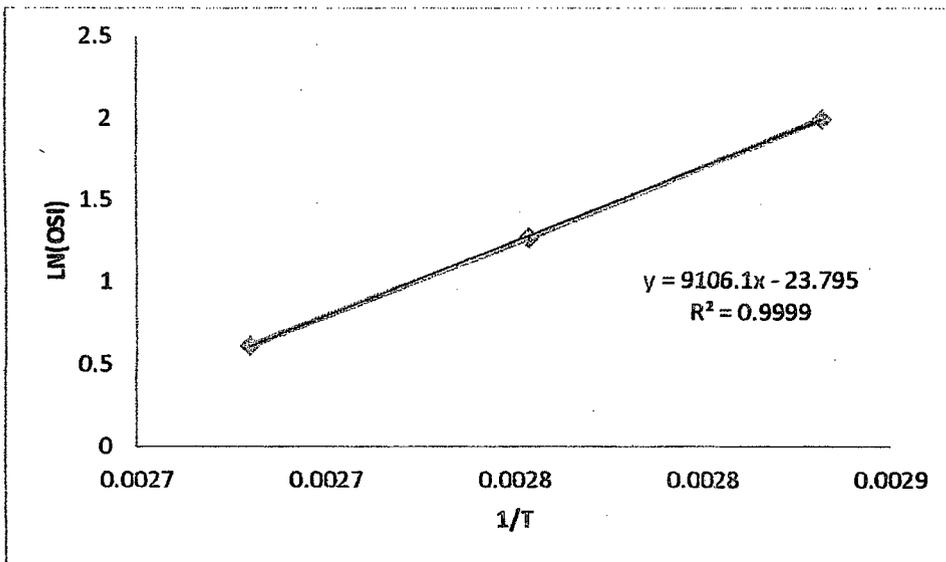
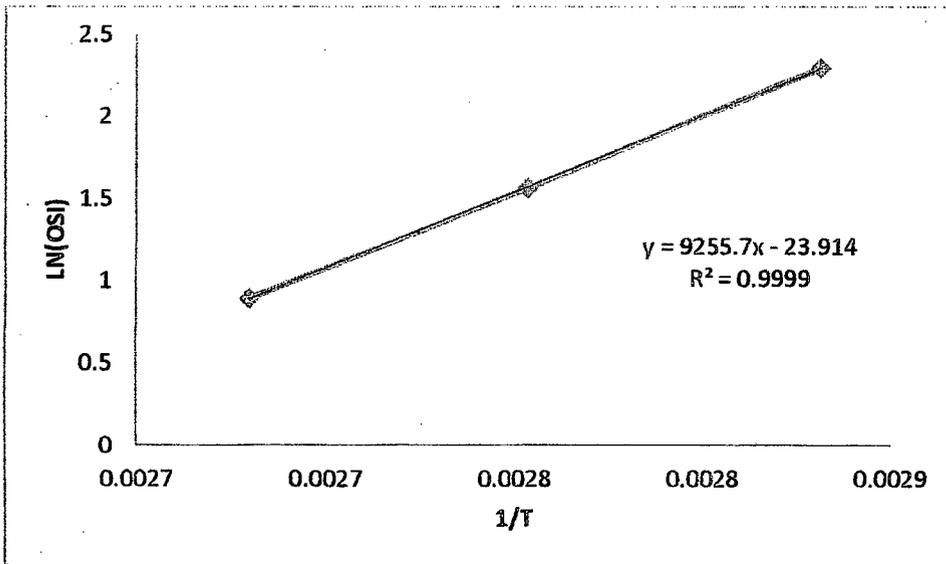
$$\ln(3.81) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{90}$$

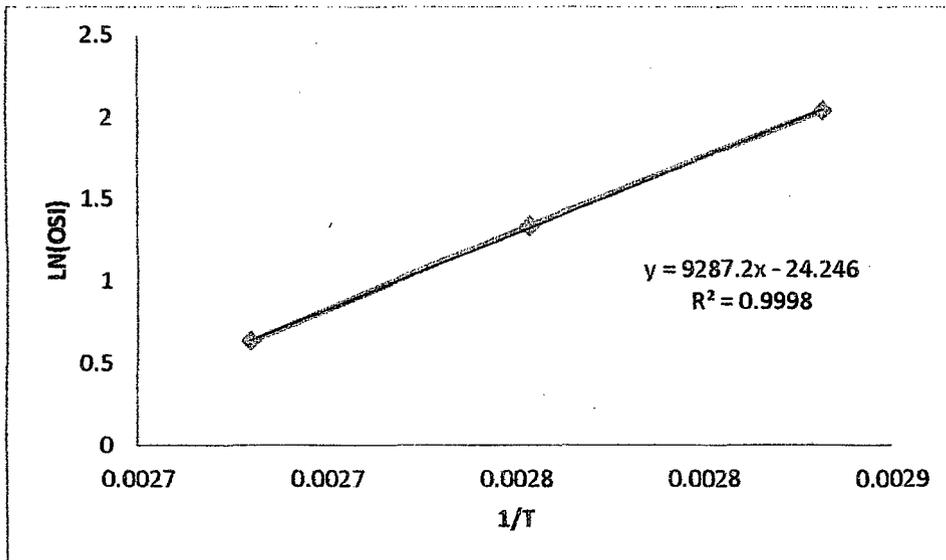
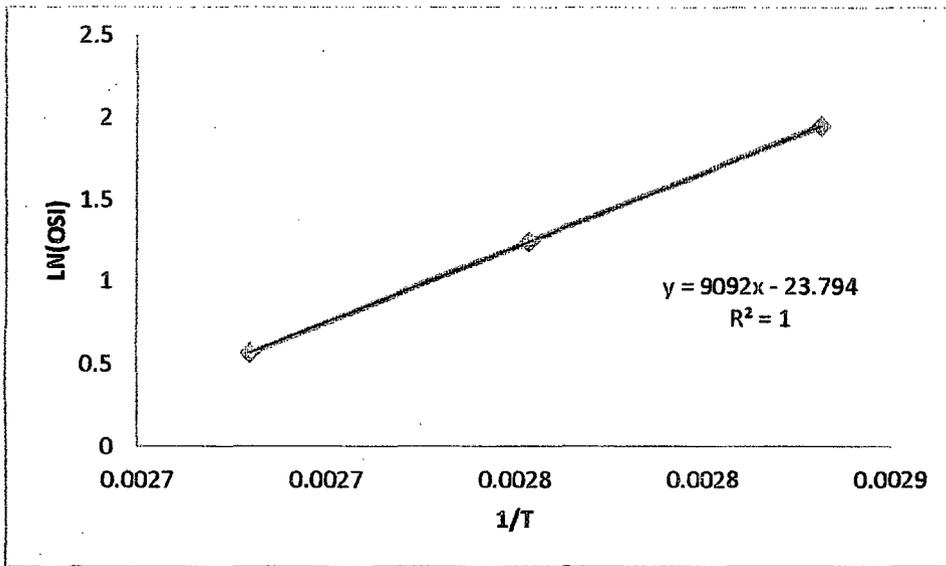
$$\ln(1.89) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{100}$$

Los valores de la pendiente para cada flujo de aire se encuentran en el siguiente cuadro

Tratamientos	Pendiente	R ²	Ea (kJ/mol)
Tratamiento 1	9345.9	0.9996	77.57
Tratamiento 2	9793.8	0.9987	81.28
Tratamiento 3	9255.7	0.9999	76.82
Tratamiento 4	9106.1	0.9999	75.58
Tratamiento 5	9092	1	75.46
Tratamiento 6	9287.2	0.9998	77.08







Reemplazando en la ecuación (1) los valores de las pendientes para cada flujo de aire:

Para tratamiento1: Control

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha)}{Z}\right) + 9345.9 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9345.9$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9345.9)$$

$$Ea = 77570.97 \text{ J/mol}$$

$$Ea = 77.57 \text{ KJ/mol}$$

Para tratamiento2: Aceite + A1

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + 9793.8 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9793.8$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9793.8)$$

$$Ea = 81288.54 \text{ J/mol}$$

$$Ea = 81.288 \text{ KJ/mol}$$

Para tratamiento3: Aceite + A2

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha)}{Z}\right) + 9255.7 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9255.7$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9255.7)$$

$$Ea = 76822.31 \text{ J/mol}$$

$$Ea = 76.822KJ/mol$$

Para tratamiento 4: Aceite + A3

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha)}{Z}\right) + 9106.1 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9106.1$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9106.1)$$

$$Ea = 75580.63J/mol$$

$$Ea = 75.580KJ/mol$$

Para tratamiento 5: Aceite + A4

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha)}{Z}\right) + 9092 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9092$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9092)$$

$$Ea = 75463.6J/mol$$

$$Ea = 75.463KJ/mol$$

Para tratamiento 6: Aceite + A5

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1 - \alpha)}{Z}\right) + 9287.2 \frac{1}{80}$$

Entonces:

$$\frac{Ea}{Rg} = 9287.2$$

$$Rg = 8.3$$

$$Ea = (8.3 \times 9287.2)$$

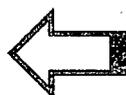
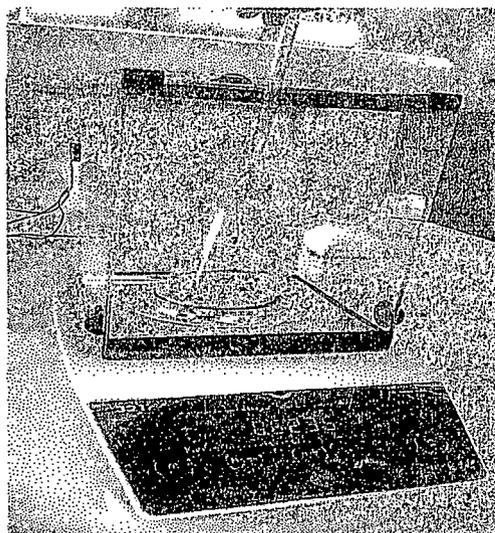
$$Ea = 77083.76 \text{ J/mol}$$

$$Ea = 77.083 \text{ KJ/mol}$$

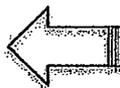
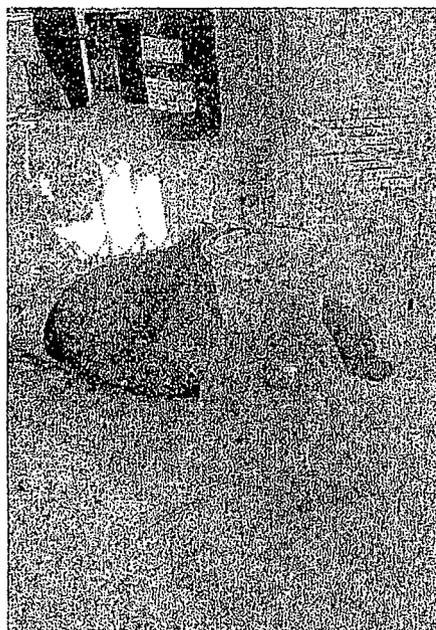
ANEXO 8

FOTOS ANALISIS FISICOQUIMICOS

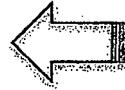
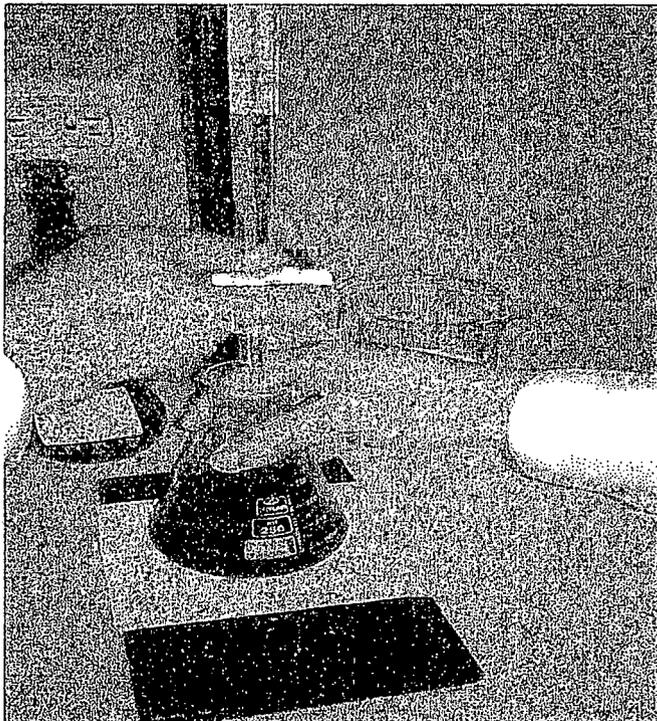
• ANALISIS DE YODO



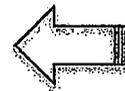
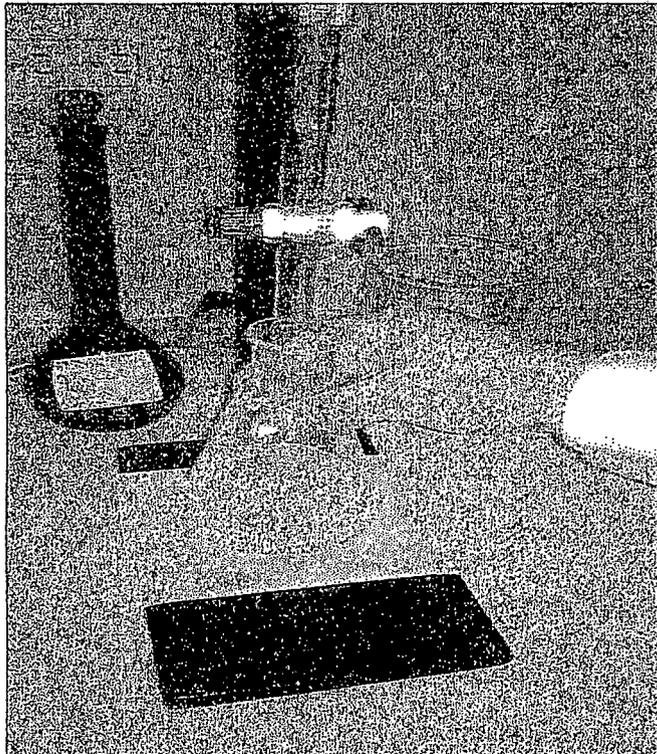
Se peso 0.2 g de aceite



Al añadir 10 ml. de cloroformo, 15 ml de WIJS, 10 ml. de KI al 15 %. Y 50 ml. de agua destilada, se tituló con tiosulfato de sodio al 0.1N (viro de marrón a amarillo)

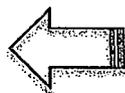


Se añadio 1 ml de almidón al 1%, viro color blanco

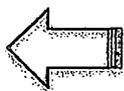
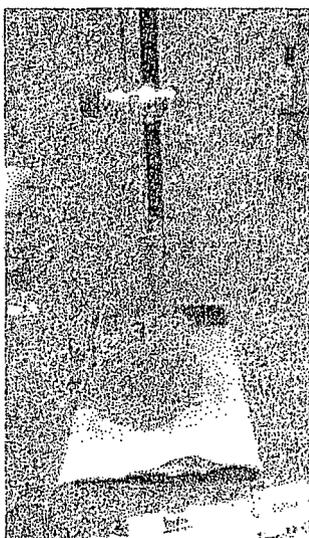


Al titular con tiosulfato de sodio al 0.1 N viro a un color blanco.

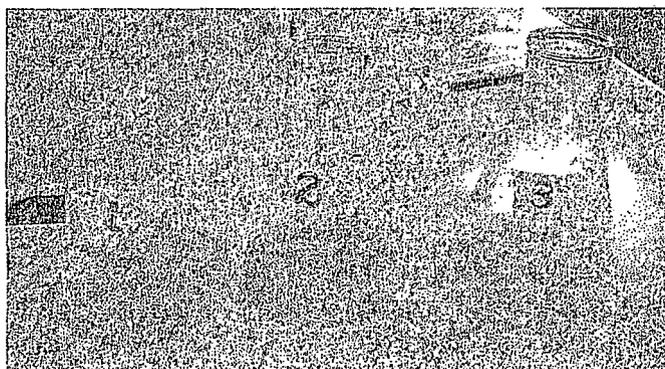
• **ANALISIS DE ACIDEZ**



Pesar la muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 50 ml de alcohol neutralizado y caliente



Titular con NaOH 0.1 N, agitando hasta la aparición de un color rosado ligero.

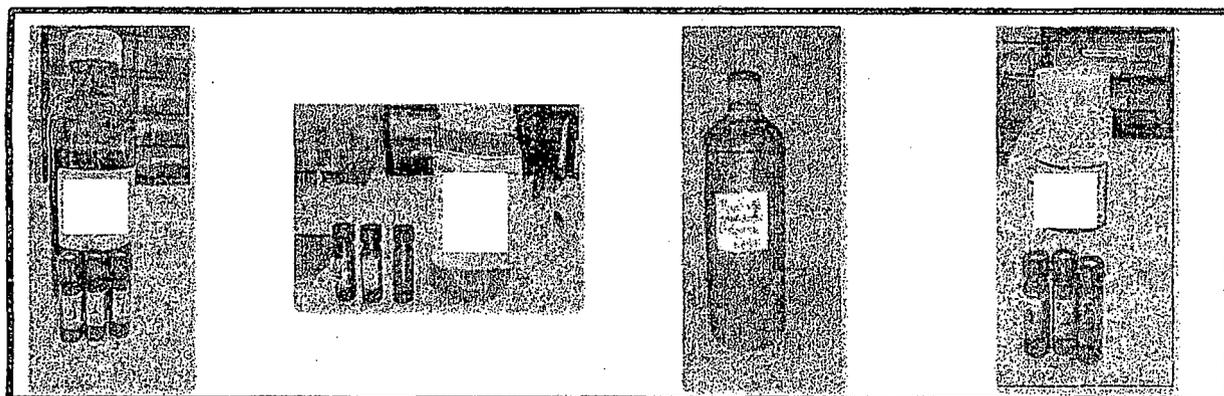


Anotar el gasto al álcali y calcular el índice de acidez.

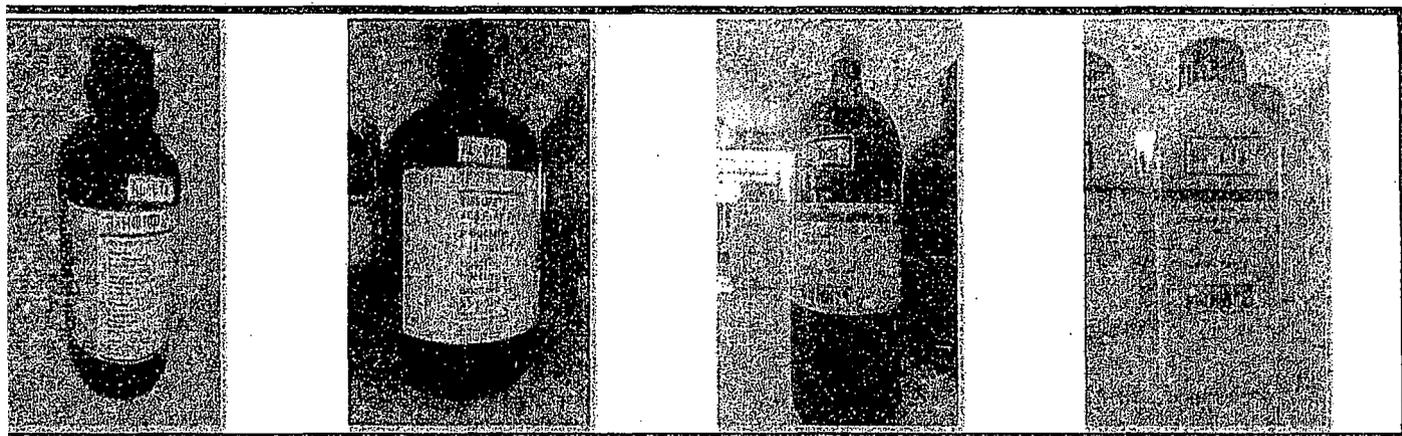
ANEXO 8

FOTOS

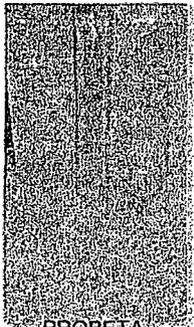
- IMAGENES DE ANTIOXIDANTES



- IMÁGENES DE REACTIVOS



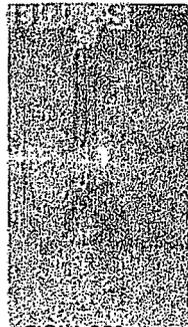
• IMÁGENES DE MATERIALES DE VIDRIO



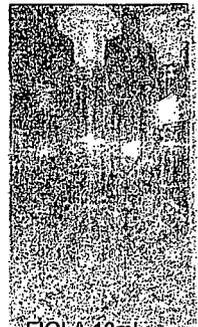
PROBETA



MATRAZ



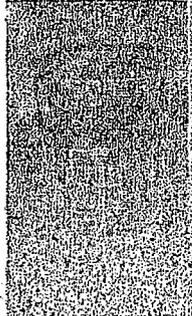
FIOLA 250ml



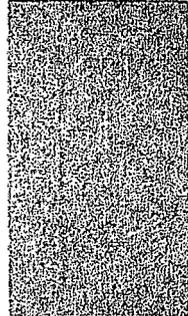
FIOLA 10ml



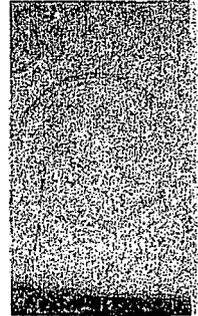
MATRAZ ERLLENMEYER



VASO PRECIPITADO

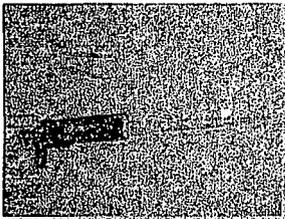


PIPETAS

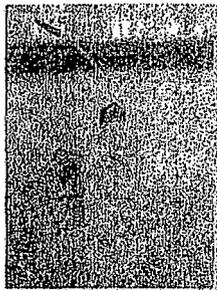


PLACA PETRI

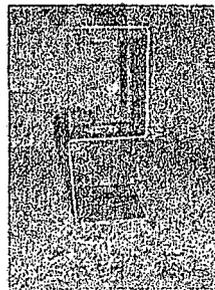
• IMÁGENES DE MATERIALES METALICOS Y OTROS



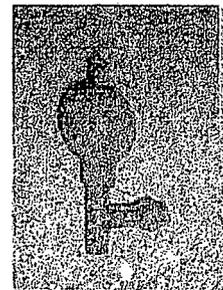
MICROPIPETA



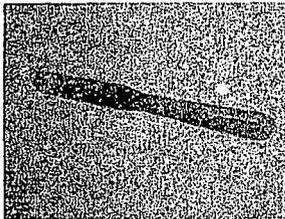
PIPETA



SOPORTE ALUMINIO



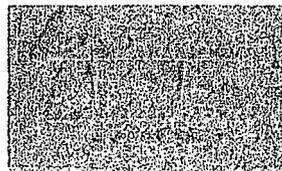
PERA DE SUCCIÓN



ESPATULA

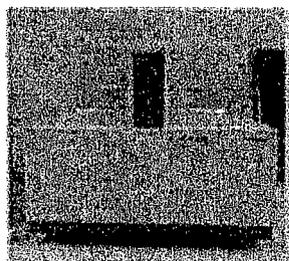


CRONOMETRO

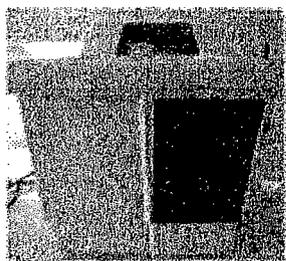


GRADILLA ALUMINIO

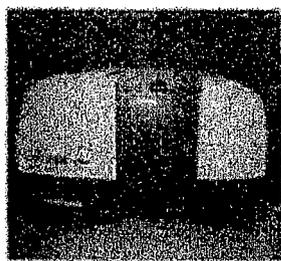
• IMÁGENES DE EQUIPOS



RANCIMAT



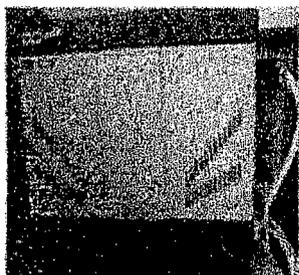
BANO ULTRA SONIDO



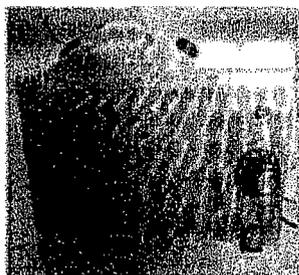
ESPECTOFOTOMETRO



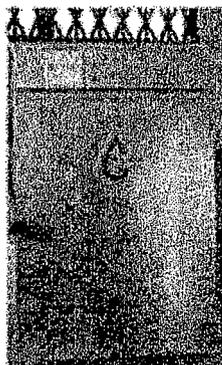
BALANZA ANALITICA



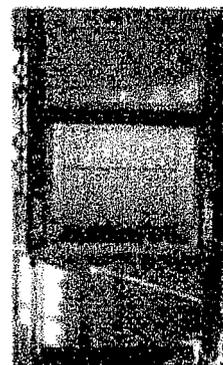
DESTILADOR



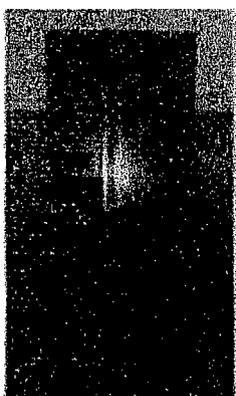
BANO MARIA



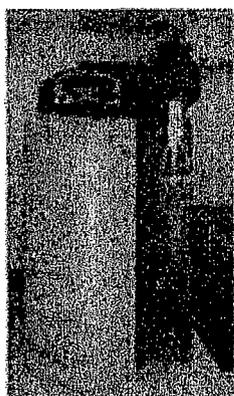
ESTUFA



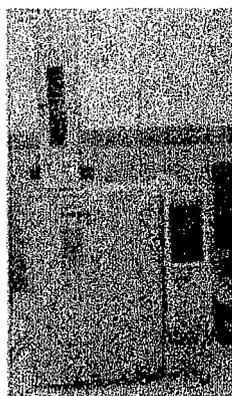
CAMPANA EXTRACTORA



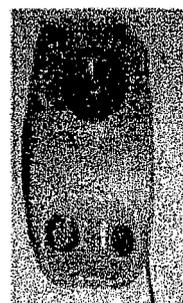
REFRIGERADOR



PURIFICADOR



CROMATOGRARO DE GASES



VORTEX



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

OFICINA CENTRAL DE INVESTIGACIÓN

“CATALOGO DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN – TIPRO”

Resolución N° 1562-2006-ANR

REGISTRO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA

I. DATOS GENERALES

- **Universidad** : Universidad Nacional del Santa
- **Centro de Investigación** : Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial
- **Título del Trabajo** : Efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial.
- **Línea de Investigación** : Experimental
- **Autores** :

DNI

Apellidos y Nombres

45532775

Diana Catalina Cortez Ibañez

70553974

Jessica Karen Huerta Chauca

- **Año de ejecución y culminación:** 2014-2015

II. CONTENIDO DEL RESUMEN

- Resumen / Abstract

RESUMEN

Se determinó la efectividad de dos antioxidantes sintéticos y tres antioxidantes naturales en la estabilización oxidativa del aceite de pescado crudo, obtenido de la pesca industrial correspondiente a la captura de diferentes especies principalmente de anchoveta. Se caracterizó la muestra de aceite con análisis fisicoquímicos tales como: Acidez 3.167%(ácido oleico), Humedad (0.63%), Densidad (0.927 g/ml), Índice de Peróxido (3.58 meqO₂/kg), Índice de Refracción (1.479), Índice de Iodo (145.8 cg I₂/g), Índice de Anisidina (20.6), Totox (27.76 meqO₂/kg), resultados que fueron comparables con las especificaciones de exportación del aceite de pescado crudo. La estabilidad oxidativa del aceite se determinó en el equipo Rancimat 743 a temperaturas de 80°, 90° Y 100°C, flujo de aire constante de 10 L/h , 3g muestra y concentración(200ppm) de antioxidante. Los tiempos de inducción a 80°C fueron 6.65h y 13.83h para el aceite sin antioxidante y con Etoxiquina respectivamente. Los antioxidantes mostraron el siguiente orden de eficiencia: Etoxiquina > Tocoferoles mixtos > BHT > aceite vegetal, tocoferoles, lecitina y extracto romero > δ, γ, β y α tocoferol.

ABSTRACT

Established the effectiveness of two synthetic antioxidants and three natural antioxidants on the oxidative stabilization of fish oil, obtained from the different species of capture industrial fishing principally anchovy. The fish oil showed values of acidity index 3.167%(oleic acid), Humidity (0.63%), density (0.927 g / ml), peroxide index (3.58 meqO₂ / kg), Refractive Index (1479), iodine value (I₂ 145.8 cg / g), anisidine value (20.6), Totox (27.76 meqO₂ / kg), the results were comparable with the export specifications of crude fish oil. The oxidative stability of fish oil was determined using the Rancimat 743, temperatures were used in this case 80 °, 90 ° and 100 ° C, air flow 10 l / h, 3g sample and concentration of

antioxidant(200 ppm). The induction period to 80 ° C were 13.83h and 6.65h to oil without antioxidant and oil with Ethoxyquin respectively. The antioxidants shown the following order of efficiency: Ethoxyquin> mix tocopherols> BHT> vegetable oil, tocopherols, lecithin and rosemary extract> δ , γ , β and α -tocopherol.

- **Planteamiento del Problema** :

¿Cuál es el efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial?

- **Objetivos** :

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de pescado crudo tales como el Índice de Acidez, Índice de Peróxido, Índice de Anisidina, Índice de Iodo, Humedad, Densidad, Índice de Refracción y Totox,
- Determinar el perfil porcentual de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en el aceite de pescado crudo industrial.
- Determinar los tiempos de inducción del aceite de pescado crudo a temperaturas de 80°C, 90°C y 100°C, con flujo de aire de 10L/h, y concentración de antioxidantes 200ppm.
- Comparar la eficacia de los antioxidantes comerciales: A1 (Etoxiquina), A2 (tocoferoles mixtos), A3 (aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero), A4 (alfa, delta, beta y gamma tocoferol), A5 (Butilhidroxitolueno BHT).
- Determinar el efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado crudo industrial.
- Determinar la energía de activación (E_a) de la reacción de oxidación de aceite de pescado crudo industrial.

- **Hipótesis :**

Al adicionar el antioxidante etoxiquina a 200ppm en el aceite de pescado crudo industrial y sometido en equipo rancimat a temperatura de 80°C y 10 l/h, incrementará en 3 veces su estabilidad oxidativa.

El orden de eficacia de los antioxidantes a 200ppm será Etoxiquina > BHT > Fortium MT95 > Naturox > Drespherols.

- **Breve referencia al marco teórico :**

El aceite de pescado es un producto de alto valor nutricional por su contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (omega-3); eicosapentaenoico (EPA), docosapentaenoico (DHA) (Valenzuela A, 2012). La presencia de sus dobles enlaces en las moléculas de EPA y DHA, hacen que sea altamente nutritivo pero a su vez susceptible a la autoxidación lipídica, por ello el empleo de antioxidantes esta incrementando en la actualidad, con la finalidad de prolongar la vida útil manteniendo sus propiedades y valor nutricional. (Sanhueza J, 2009). El método Rancimat determina la estabilidad oxidativa de un aceite, oxidando la muestra a temperatura y flujo de aire constante, como resultado proporciona un tiempo de inducción, TI (tiempo de resistencia a la oxidación) en horas. (Metrhom, 2015). Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, existen los antioxidantes sintéticos y naturales, los primeros son mas eficientes que los segundos en bajas concentraciones, pero se ha demostrado que el uso de los antioxidantes sintéticos a concentraciones elevadas pueden causar daños tumorales en humanos, por ello actualmente el uso de antioxidantes naturales esta incrementando en varios países (Navas P., 2010).

- **Conclusiones y Recomendaciones**

Conclusiones

- Se evaluó las características fisicoquímicas del aceite de pescado: %Acidez, %Humedad, Densidad, Índice de Peróxido, Índice de Refracción, Índice de Iodo, Índice de Anisidina, Totox, valores que mostraron estados de deterioro normal y aceptable para este tipo de aceite considerando un ligero inicio del proceso de oxidación.
- Se determinó el perfil porcentual de ácidos grasos, encontrándose porcentajes de EPA y DHA por debajo de las especificaciones de exportación de aceite por las empresas Hayduk y Tasa (2014), se atribuiría la pérdida de estos ácidos grasos a la posible iniciación del proceso de oxidación.
- Se determinó los tiempos de inducción a las temperaturas de 80°, 90° y 100°C, con flujo de aire de 10L/h y concentración de antioxidante 200ppm.
- Se comparó la eficacia de los antioxidantes comerciales: A1 (Etoxiquina), A2 (tocoferoles mixtos), A3 (aceite vegetal, tocoferoles naturales mezclados, lecitina, extracto de romero), A4 (alfa, delta, beta y gamma tocoferol), A5 (Butilhidroxitolueno BHT), encontrándose el siguiente orden: ETOXIQUINA > Tocoferoles mixtos > BHT > aceite vegetal, tocoferoles, lecitina y extracto romero > δ , γ , β y α tocoferol.
- Se determinó el efecto de los antioxidantes en la estabilidad oxidativa del aceite de pescado, del cual se concluye que el uso de antioxidantes protege al aceite mejorando su estabilidad oxidativa.
- Se determinó la energía de activación (E_a) de la reacción de oxidación de aceite de pescado crudo industrial, concluyéndose que el uso de antioxidante aumenta la E_a .

Recomendaciones

- Determinación de la estabilidad oxidativa según Método Rancimat de los aceites de pescado refinado, palma y oliva.
- Eficiencia de antioxidantes TBHQ, proxil, ácido ascórbico, eritorbato de sodio, palmitato y estearato de ascórbilo, galatos de propilo, y otros tocoferoles naturales y sintéticos en la estabilidad oxidativa de los aceites marinos.
- Eficiencia de los antioxidantes naturales y artificiales en la estabilidad oxidativa de la harina de pescado según Método Rancimat .
- Estabilidad oxidativa de aceites microencapsulados con antioxidantes mediante secado por atomización y liofilización.

Bibliografía

- Valenzuela, A. (2009). *Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos*. Revista Chil Nutr., 36(3), 246-248.
- Sanhueza, C. (2012). *El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, Hoy un alto valor nutricional*. Revista Chil Nutr., 39(2), 201-207.
- Navas P. (2010). *Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales*. Ciudad Real, España.