



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

**Doctor Fernando Monckeberg Barros**

**“Estudio exploratorio del contenido de EPA y DHA en subproductos de tres especies de pescados obtenidos y consumidos en Chile: análisis comparativo de muestras frescas y secas y de distintos métodos de extracción de la fracción lipídica.”**

**Tesista: María Beatriz Villarreal Rubio**

**Director de Tesis: Dr. Miguel Ángel Rincón Cervera**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN NUTRICIÓN Y ALIMENTOS  
MENCION ALIMENTOS SALUDABLES**

Enero del 2017

Santiago-Chile

## **Comisión de tesis**

- Dr. Omar Hugo Porras Espinoza
- Dr. Rodrigo Enrique Pulgar Tejo
- Dr. Rodrigo Wladimir Valenzuela Báez

Esta tesis se enmarca dentro del proyecto UI008/15 financiado por el Programa U-Inicia de la Universidad de Chile.

## **Dedicatoria**

Dedico esta tesis a Dios, que ha sido mi motor en este amplio trayecto estudiantil. A mi familia que, a pesar de la distancia, ha sido un apoyo incondicional. A mi novio Andrés, cuya presencia ha resultado indispensable para alcanzar mis tan añorados objetivos académicos.

## **Agradecimientos**

Agradezco especialmente al Dr. Miguel Ángel Rincón, por el tiempo dedicado para orientar el desarrollo de este trabajo como profesor guía y por compartir sus conocimientos durante mi formación estudiantil.

Por otro lado, mi experiencia como tesista también se enriqueció gracias al apoyo del Dr. Alfonso Valenzuela y al Dr. Julio Sanhueza, docentes que forman parte del Laboratorio de Lípidos del INTA, y del Sr. Héctor Flores, quienes aportaron con sus criterios y colaboración al proceso de experimentación.

También cabe recalcar mi gratitud a los miembros del comité evaluador de esta tesis (Dr. Omar Porras, Dr. Rodrigo Pulgar, Dr. Rodrigo Valenzuela).

## **Índice de contenidos**

Resumen en castellano	<b>1</b>
Resumen en inglés	<b>3</b>
Introducción	<b>5</b>
Hipótesis de trabajo y objetivos	<b>15</b>
Metodología	<b>16</b>
Resultados	<b>20</b>
Discusión	<b>35</b>
Conclusiones	<b>48</b>
Limitaciones	<b>50</b>
Proyecciones	<b>51</b>
Referencias	<b>52</b>
Anexos	<b>60</b>

## Índice de tablas

**Tabla 1 (Resultados):** Perfil de las fracciones lipídicas extraídas de los subproductos frescos y secos (en porcentaje de ácidos grasos presentes en cada banda sobre el total de ácidos grasos en la fracción lipídica) **33**

**Tabla 1 (Anexos):** Rango establecido de EPA y DHA según los ensayos previos efectuados en el Laboratorio de Lípidos (porcentaje del total de EPA y DHA) **63**

**Tabla 2 (Anexos):** Porcentaje de harina pescado administrado en las dietas de salmones durante el periodo 2000-2006 **64**

**Tabla 3 (Anexos):** Contenido en lípidos, AGPI n-3, EPA y DHA de filete y subproductos de palometa (*Seriola lalandi*), congrio dorado (*Genypterus blacodes*) y salmón (*Oncorhynchus gorboscha* y *Salmo salar*) **65**

**Tabla 4 (Anexos):** AGPI n-3, EPA y DHA en subproductos de algunas especies de pescados **66**

**Tabla 5 (Anexos):** Distribución de triglicéridos y fosfolípidos en filete y en subproductos de ciertas especies marinas (porcentaje de lípidos totales) **67**

**Tabla 6 (Anexos):** Contenido en agua (g agua/100 g biomasa fresca) y rendimiento de extracción de la fracción lipídica de subproductos frescos y secos de palometa (*Seriola lalandi*), congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y salmón (*Salmo salar*) obtenidos con distintos métodos de extracción (g lípidos/100 g subproducto) **68**

**Tabla 7 (Anexos):** Perfil de ácidos grasos en vísceras de palometa (*Seriola lalandi*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos **71**

**Tabla 8 (Anexos):** Perfil de ácidos grasos en vísceras de congrio (*Genypterus chilensis*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos **72**

**Tabla 9 (Anexos):** Perfil de ácidos grasos en vísceras de salmón (*Salmo salar*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos **73**

**Tabla 10 (Anexos):** Perfil de ácidos grasos en hígado de salmón (*Salmo salar*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos **74**

## Índice de figuras

- Figura 1 (Resultados):** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica en subproductos frescos y secos obtenidos con distintos métodos de extracción **21**
- Figura 2 (Resultados):** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica por métodos de extracción en los distintos subproductos frescos y secos **23**
- Figura 3 (Resultados):** Contenido en EPA y DHA en subproductos de palometa, congrio y salmón, tanto en fresco como en seco **28**
- Figura 4 (Resultados):** Contenido de EPA en subproductos de palometa, congrio y salmón y su fracción lipídica en función al método de extracción empleado, tanto en fresco como en seco **29**
- Figura 5 (Resultados):** Contenido de DHA en subproductos de palometa, congrio y salmón y su fracción lipídica en función al método de extracción empleado, tanto en fresco como en seco **30**
- Figura 6 (Resultados):** Contenido de colesterol en la fracción lipídica de subproductos secos (mg colesterol/100 g de lípidos) **34**
- Figura 1 (Anexos):** Esquema metabólico de los AGPI n-3 incluyendo eicosanoides y docosanoides derivados de EPA y DHA respectivamente **61**
- Figura 2 (Anexos):** Consumo de AGPI n-3 en distintas regiones y en Chile, con relación a la ingesta recomendada FAO/OMS (1,2 gramos/día) **62**



**Figura 3 (Anexos):** Contenido en agua (g agua/100 g biomasa fresca) y lípidos (g lípidos/100 g subproducto) de palometa, congrio colorado y salmón **69**

**Figura 4 (Anexos):** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica en subproductos frescos y secos obtenidos con el método de Folch **70**

**Figura 5 (Anexos):** Contenido en EPA, DHA, AL Y ALA de subproductos de palometa, congrio y salmón **75**

**Figura 6 (Anexos):** Esquema comparativo del contenido en EPA y DHA en vísceras de pescado de acuicultura y salvaje en función de la alimentación **76**

## **Lista de abreviaturas**

**AG:** Ácidos grasos

**AGL:** Ácidos grasos libres

**AGPI:** Ácidos Grasos Poliinsaturados

**AGPI n-3:** Ácidos Grasos Poliinsaturados n-3

**AGPI n-6:** Ácidos Grasos Poliinsaturados n-6

**ALA:** Ácido Alfa Linolénico

**ALA:** Ácido Linoleico

**AO:** Ácido Oleico

**AP:** Ácido Palmítico

**CCF:** Cromatografía de capa fina

**CONICYT:** Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica

**DAG:** Diglicéridos

**DHA:** Ácido Docosahexaenoico

**EC:** Ésteres de colesterol

**EPA:** Ácido Eicosapentaenoico

**FAO:** Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

**GC-FID:** Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (Cromatografía de gases con detector de ionización de llama)

**HPLC-UV:** High Performance Liquid Chromatography – UV Detector (Cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta)

**LP:** Lípidos Polares

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PCBs:** Bifenilos Policlorados

**SERNAPESCA:** Secretaría Nacional de Pesca y Acuicultura

**TAG:** Triglicéridos

## 1. Resumen en castellano

**Introducción:** los ácidos grasos poliinsaturados eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) son ampliamente conocidos por sus efectos beneficiosos para la salud humana. EPA y DHA son aportados al organismo principalmente por la dieta, estando contenidos sobre todo en pescados marinos. La ingesta de pescado en Chile y otras regiones occidentales, es reducida debido a factores socioculturales y/o económicos, por tanto es necesario encontrar fuentes alternativas de EPA y DHA.

Chile es un gran productor de recursos marinos, lo que conlleva la generación de gran cantidad de residuos (subproductos) derivados de la industria del procesado del pescado (partes no comestibles del pescado), que se emplean en la fabricación de piensos o son directamente desechados, generando graves problemas ambientales.

Debido al considerable contenido en EPA y DHA que estos subproductos pueden llegar a poseer, su potencial valorización podría generar ingredientes bioactivos de alto valor añadido destinados al consumo humano y/o animal, reduciendo además el impacto ambiental negativo generado por su vertido.

El secado de los subproductos de pescado permite la inertización de la biomasa y un mejor manejo de los mismos, facilitando asimismo la extracción de su fracción lipídica conteniendo EPA y DHA. Sin embargo, el empleo de altas temperaturas durante el secado puede alterar determinados parámetros de la fracción lipídica, como el contenido de EPA y DHA (muy sensibles a la degradación térmica) o el grado de hidrólisis.

**Objetivo:** estudiar el efecto del secado y del uso de varios sistemas de extracción sobre determinados parámetros de la fracción lipídica de vísceras de pescado (salmón de cultivo y congrio colorado y palometa de pesca artesanal).

**Métodos:** se emplearon solventes de grado alimentario para extraer la fracción lipídica de las vísceras en fresco y seco de cada especie estudiada, y se determinó en cada fracción el perfil de ácidos grasos, distribución de clases lipídicas y contenido en colesterol.

**Resultados:** los mayores valores de EPA y DHA se encontraron en víscera de congrio y víscera de palometa, respectivamente. El método de extracción de grado alimentario más eficaz fue el Soxhlet con n-hexano. El secado redujo significativamente los valores de EPA y DHA aunque no de forma drástica en ningún caso. Por otro lado, el grado de hidrólisis lipídica no aumentó significativamente en víscera seca frente a la fresca. El mayor y menor contenido en colesterol se encontró en hígado y víscera de salmón, respectivamente.

**Conclusiones:** El procedimiento de secado empleado en este trabajo permitió la obtención de un polvo fino de fácil manejo conteniendo EPA y DHA en proporciones variables en función del tipo de subproducto de origen. Es posible emplear un método de extracción de grado alimentario (Soxhlet) para obtener la fracción lipídica de los subproductos secos de forma eficiente, lo que es ventajoso en términos económicos y ambientales.

## 2. Resumen en inglés

**Introduction:** Eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) are two of the most widely known polyunsaturated fatty acids because of their beneficial effects on human health. EPA and DHA are mainly supplied to the organism through the diet, being mainly contained in marine fish. Fish intake in Chile and other Western regions is reduced due to social, cultural and/or economic factors, so it is necessary to find alternative sources of EPA and DHA.

Chile is a large producer of marine resources, generating large quantities of waste (by-products) derived from the fish processing industry (non-edible parts of fish) that are used to produce feed for animals or are directly discarded, thus causing environmental problems.

Due to the considerable EPA and DHA content that these by-products may contain, their potential recovery could generate bioactive ingredients with high added value destined for human and/or animal consumption, also reducing the negative environmental impact generated by their disposal.

The drying of fish by-products allows the inertization of the biomass and a better handling. It promotes an easier extraction of the lipid fraction containing EPA and DHA. However, the use of high temperatures during drying may change certain parameters of the lipid fraction, such as EPA and DHA content (very sensitive to thermal degradation) or the degree of hydrolysis.

**Objective:** to study the effect of drying and the use of several extraction systems on certain parameters of the lipid fraction in fish viscera (cultivated salmon and red cusk-eel and yellowtail kingfish from artisanal fishery).

**Methods:** Food grade solvents were used to extract the lipid fraction from raw and dried viscera of each species under study, and the fatty acid profile, lipid class distribution and cholesterol content were determined in each fraction.

**Results:** The highest EPA and DHA values were found in red cusk-eel and yellowtail kingfish viscera, respectively. The most effective food grade extraction method was Soxhlet with n-hexane. Drying significantly reduced EPA and DHA values but not drastically in any case. Furthermore, the degree of lipid hydrolysis

was not significantly increased in dried viscera versus raw viscera. The highest and lowest cholesterol content was found in liver and salmon viscera, respectively.

**Conclusions:** The drying process employed in this work allowed the obtaining of a dehydrated, easy to handle product containing EPA and DHA in varying proportions depending on the type of by-product of origin. It is possible to use a food grade extraction method (Soxhlet) to obtain the lipid fraction of the dried by-products efficiently, which is advantageous in economic and environmental terms.

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.1 Exposición general del problema y su relevancia como objeto de investigación:**

Los ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 u omega-3 (AGPI n-3) son nutrientes básicos de gran relevancia por las propiedades y beneficios que aportan a la salud humana. Los AGPI n-3 más estudiados son los ácidos eicosapentaenoico (C20:5n-3, EPA) y docosahexaenoico (C22:6n-3, DHA). El DHA se encuentra principalmente relacionado con el adecuado desarrollo del sistema nervioso central y visual en etapas tempranas de la vida, mientras que en la etapa adulta se vincula con la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Por otro lado, el EPA está implicado en la salud cardiovascular. EPA y DHA son precursores de eicosanoides y docosanoides respectivamente, que son moléculas con actividad antiinflamatoria.

El EPA y DHA son aportados al organismo principalmente a través de la dieta, y se encuentran en fuentes de origen marino como pescados grasos y microalgas. Sin embargo, el consumo de pescado en Chile y otros países occidentales es muy reducido debido a malos hábitos alimenticios y a factores culturales y socioeconómicos, entre otros. De esta forma, la ingesta de pescado es insuficiente para alcanzar las cantidades diarias recomendadas de EPA y DHA propuestas por organismos internacionales como la FAO y la OMS. Por otro lado, la sobreexplotación del recurso puede hacer del pescado un alimento de baja disponibilidad a mediano plazo.

En estas circunstancias, se hace necesaria la búsqueda de fuentes alternativas de EPA y DHA. La evidencia experimental revela datos muy interesantes acerca del contenido de estos ácidos grasos en ciertos subproductos de especies marinas. Sin embargo, estos residuos se destinan actualmente a la producción de piensos animales o bien son vertidos al medio ambiente generando contaminación, debido a su escaso o nulo valor. La puesta en valor de los mismos contribuiría a la generación de ingredientes funcionales de alto valor añadido conteniendo EPA y

DHA, así como la minimización de los problemas ambientales generados por los vertidos de los subproductos.

Chile es el principal productor de maricultura en el mundo occidental y el segundo mayor productor mundial de salmón, después de Noruega. Además del salmón, existen otras especies de menor producción que son apreciadas en el mercado nacional e internacional. A pesar de su gran productividad, hasta el momento no existen datos referentes a la caracterización de subproductos de especies que se obtienen y consumen en Chile.

En esta tesis no solo se han obtenido datos concernientes al perfil de ácidos grasos de subproductos de pescado en fresco, sino que también se ha evaluado la influencia de una técnica de secado de los subproductos sobre este parámetro. El disponer de los subproductos secos facilita el manejo de los mismos, así como la extracción de la fracción lipídica contenida en ellos. También se comprobó el efecto de distintos métodos de extracción con solventes de grado alimentario sobre el perfil de ácidos grasos (fundamentalmente EPA y DHA) y sobre el rendimiento de extracción. Aunque este estudio haya sido de carácter exploratorio, los resultados son favorables para que prosiga la investigación en esta línea, y en un futuro se posibilite una valorización de estos recursos como fuentes de EPA y DHA con aplicaciones tecnológicas enfocadas al consumo animal y/o humano, en el ámbito de la salud y la nutrición.

## **3.2 Marco teórico y formulación del proyecto**

### **3.2.1 Propiedades saludables de los AGPI n-3**

Los beneficios de los AGPI n-3 para la salud humana son ampliamente conocidos, siendo EPA y DHA los más importantes por su relevancia para la salud. Las propiedades saludables del EPA están vinculadas con el sistema cardiovascular, sobre todo en la disminución de triglicéridos plasmáticos, proporcionando efectos antitrombóticos, antiinflamatorios y reductores de la tensión arterial (1). El DHA desempeña un rol esencial en el adecuado desarrollo del sistema nervioso central y visual del feto (2). El aporte de DHA es además relevante en la edad adulta,



debido a que se le ha relacionado con la prevención de ciertos tipos de cáncer (3), así como con la prevención y tratamiento de enfermedades degenerativas como el Alzheimer leve y moderado (4).

EPA y DHA actúan como precursores de eicosanoides (prostaglandinas serie 3, leucotrienos serie 5, tromboxanos y resolvinas serie E) y docosanoides (resolvinas de la serie D, protectinas y maresinas) respectivamente, todos con actividad antiinflamatoria (5,3) (Ver Figura 1-Anexo 1).

### **3.2.2 Fuentes de EPA y DHA e ingesta de AGPI n-3 en Chile y el mundo**

El EPA y el DHA están contenidos principalmente en fuentes de origen marino: pescados azules o grasos (salmón, arenque, jurel, entre otros) y microalgas (5). Sin embargo, el pescado es un recurso limitado y de consumo poco frecuente en Chile y otros países occidentales. En el caso de Islandia, la ingesta de pescado es de 90 kg/persona/año, mientras que en Latinoamérica el consumo es menor. Por ejemplo, en Chile se consumen 5,8 kg/persona/año, Colombia registra la más baja ingesta con tan solo 4,8 kg/persona/año, mientras que el de mayor consumo es Venezuela con un 12,5 kg/persona/año (6).

La figura 2 (Anexo 2) detalla la ingesta diaria de AGPI n-3 en Chile y otras regiones del mundo, recomendada por la OMS y la FAO, siendo esta de 1,2-1,5 g/día (7), de los cuales 500 mg/día deben ser EPA y DHA en adultos (8). Para mujeres embarazadas y nodrizas se recomienda un consumo de 1,4 g/día, con un mínimo de 300 mg/día de EPA y DHA, de los cuales 200 deberían ser exclusivamente de DHA (9). En el caso de lactantes y escolares, la recomendación es de 150 mg/día de DHA (8).

En la actualidad, la adopción de dietas occidentales ha conducido a que la proporción de AGPI n-6/AGPI n-3 consumidos sea del orden de 20:1 (3), mientras que las recomendaciones internacionales indican que debería ser de 5:1 (10). Por consiguiente, es difícil alcanzar los niveles de AGPI n-3 (EPA + DHA) a través de la ingesta diaria.

### **3.2.3 Búsqueda de fuentes no convencionales de EPA y DHA: valorización de subproductos de pescado**

Para incrementar el aporte de EPA y DHA en la dieta, una alternativa al escaso consumo de pescado sería consumir alimentos ricos en ácido alfa linolénico (C18:3 n-3, ALA), que es un ácido graso esencial y precursor metabólico de EPA y DHA (11) (Ver Figura 1-Anexo 1). El ALA se encuentra disponible en fuentes vegetales (aceites de semilla de soya, canola, linaza y chía, entre otros) siendo una fuente renovable (5). No obstante, la conversión metabólica de ALA hasta EPA y DHA es reducida debido a la escasa actividad de la enzima  $\Delta 6$ -desaturasa en humanos; esta enzima es esencial ya que participa en los procesos de desaturación en el metabolismo de AGPI n-6 y AGPI n-3 (1) (Ver Figura 1-Anexo 1). La actividad de la  $\Delta 6$ -desaturasa es aún menor en circunstancias tales como obesidad, edad avanzada y consumo elevado de alcohol y tabaco (12). Por este motivo, una estrategia válida puede ser la búsqueda de fuentes alternativas que proporcionen EPA y DHA de forma directa a través de la dieta.

Los subproductos que resultan del procesamiento del pescado (vísceras, cabeza, espinas, cola, etc.), se usan principalmente para la elaboración de piensos para animales (13). Los subproductos (partes no comestibles) representan hasta el 45 % del peso total de un pescado, lo que significa que de la producción pesquera total mundial (141,4 millones de toneladas métricas), se generan alrededor de 63,6 millones de toneladas métricas de residuos (14), que a su vez contienen cantidades considerables de lípidos. Por ejemplo, se ha estimado que en promedio la producción de 10000 kg de filete de bacalao podría generar subproductos conteniendo más de 1000 kg de lípidos marinos, con un contenido en AGPI n-3 de alrededor del 30 % (15). Entre los subproductos de pescado, las vísceras constituyen aproximadamente el 20 % del peso total del animal (16).

Estudios previos señalan el importante contenido de AGPI n-3 existentes en subproductos de ciertas especies de peces de captura salvaje y de cultivo, como se puede observar en la tabla 3 (Anexo 5) y 4 (Anexo 6).

Mediante la valorización de estos subproductos se podrían obtener fracciones de lípidos con alto valor añadido y alto contenido en EPA y DHA, para el desarrollo de ingredientes funcionales con aplicación en alimentos saludables, insumos de farmacia y cosméticos, entre otros, destinados a consumo humano o animal. Simultáneamente, se podría minimizar el problema ambiental que supone el vertido de los subproductos al medio (17).

### **3.2.4 Lípidos en especies marinas**

Según su estructura molecular, los lípidos pueden clasificarse en lípidos neutros como los esteroides y los acilglicéridos, y lípidos polares como los fosfolípidos (18). Los AGPI en aceites marinos usualmente se encuentran esterificados en forma de triglicéridos, aunque también pueden aparecer como ésteres de cera o fosfolípidos (10, 19).

Al menos el 50 % de los ácidos grasos en fosfolípidos son AGPI, principalmente EPA y DHA (20), y son considerados de mayor biodisponibilidad en comparación a los triglicéridos (6, 21). Según la especie y el tejido de que se trate, la proporción entre triglicéridos y fosfolípidos en la fracción lipídica varía (Ver Tabla 5-Anexo 7).

En los pescados marinos, los lípidos se depositan debajo de la piel, músculo, cabeza y en la víscera, principalmente en el hígado (22). El contenido en lípidos y perfil de ácidos grasos varía debido a factores externos como temperatura ambiental, salinidad, disponibilidad alimentaria, periodo del año (estacionalidad), localización de la captura, y también inciden factores internos, entre los que constan la edad, madurez sexual y tipo de especie (23, 22, 24).

En acuicultura, el perfil de ácidos grasos (principalmente EPA y DHA) puede ser modificado a través de la alimentación que se les suministra a los peces. Frecuentemente se observa una reducción de la proporción de estos ácidos grasos en peces de cultivo, debido a la sustitución del aceite de pescado empleado tradicionalmente como ingrediente de los piensos, por aceites vegetales ricos en AGPI n-6 como el ácido linoleico (C18:2 n-6, AL) y AGPI n-3 como el ALA, ya que resulta más económico durante la producción (25,26).

Dependiendo del contenido de lípidos, los pescados se clasifican en magros (<2,5 % grasa del peso total, por ejemplo: bacalao, lenguado), medianamente grasos (2,5-6 % grasa del peso total por ejemplo: merluza) y grasos (>6 % grasa del peso total por ejemplo: salmón, arenque, macarela) (2). En general, el contenido de grasa en pescados varía de 2 a 30 % (24). Los AGPI n-3 se pueden encontrar en un rango de 0,2 % del peso en pescados magros y alrededor de 3 % del peso en pescados grasos (2). Otros ácidos grasos que abundan en subproductos de pescado son los ácidos palmítico y oleico principalmente (13).

Por otro lado, los subproductos de pescado contienen colesterol debido a que se trata de tejido animal. Este es un factor de estudio importante desde un punto de vista nutricional debido a que este producto podría estar destinado al desarrollo de ingredientes funcionales para consumo humano, entre ellos individuos con dislipidemias. Por este motivo el contenido en colesterol se planteó como objetivo complementario en este trabajo.

### **3.2.5 Métodos de extracción de la fracción lipídica**

Uno de los procedimientos más empleados para la extracción de la fracción lipídica a partir de biomasa consiste en emplear disolventes orgánicos (27). El principio se basa en que los lípidos son solubles en solventes orgánicos pero insolubles en agua. La eficiencia de la extracción por solvente depende de la polaridad de los lípidos presentes en el tejido, comparado con la polaridad del solvente; los lípidos polares son más solubles en solventes polares (alcoholes) que en solventes no polares (hexano) y viceversa (27).

Los métodos clásicos de extracción con solventes se basan en los trabajos de Folch y colaboradores (1957) y Bligh and Dyer (1959). Estos se han empleado extensivamente en la extracción de lípidos empleando una combinación de un solvente polar (metanol) y otro menos polar (cloroformo). El método de Folch se consideró como el método de referencia en este trabajo, para la extracción de lípidos en organismos marinos. Sin embargo, el uso de cloroformo ha generado preocupaciones en el ámbito de la salud (posible agente carcinogénico) y

medioambiental (18), por lo que no es apto a la hora de producir lípidos destinados al consumo humano.

El éter de petróleo y el n-hexano se han utilizado ampliamente como solventes para extracción de lípidos. El n-hexano posee una baja temperatura de vaporización (punto de ebullición: 68, 7 °C), alta estabilidad, baja corrosividad y toxicidad, es económico y se caracteriza por ser de grado alimentario (18). Para la extracción de lípidos, el n-hexano puede ser usado por si solo a temperatura ambiente o con aplicación de altas temperaturas (Soxhlet) y también mediante el incremento de la polaridad del sistema extractante (hexano:isopropanol). La extracción por Soxhlet utiliza comúnmente hexano, se caracteriza por ser un método simple y es reconocido por su alta eficiencia de extracción (27). Los procedimientos experimentales en este trabajo de tesis se basaron en el empleo de solventes, reactivos y procesos biocompatibles, para facilitar el potencial uso de los ingredientes activos con EPA y DHA con fines nutricionales. El método de Folch se empleó únicamente con fines comparativos, al ser considerado un procedimiento de referencia internacional en términos analíticos para la extracción cualitativa y cuantitativa de lípidos a partir de biomasa.

### **3.2.6 Especies en estudio en esta tesis**

Las especies en estudio se seleccionaron en base a sus perfiles de EPA y DHA de manera que se trabajara con muestras conteniendo diferentes rangos de estos dos ácidos grasos, que fueron definidos en el laboratorio antes de iniciar el trabajo experimental de esta tesis considerando parámetros establecidos en el laboratorio: contenido alto (>10 % EPA y >20 % DHA), medio (5-10 % EPA y 5-20 % DHA) y bajo (<5 % EPA y <5 % DHA) (Ver Tabla 1-Anexo 3). Para ello se emplearon como referencias ensayos previos realizados en el laboratorio con subproductos de una variedad de especies, seleccionándose el salmón (*Salmo salar*) de acuicultura y la palometa (*Seriola lalandi*) y el congrio colorado (*Genypterus chilensis*) de pesca artesanal puesto que cumplían con este requisito.

Adicionalmente a este criterio de selección también se tuvo en cuenta que las especies seleccionadas fueran relevantes en función a su origen (acuicultura/salvaje) y a su disponibilidad en el mercado chileno.

Con respecto a la alimentación del salmón, las dietas administradas en acuicultura han tratado de reducir la dependencia de las materias primas de origen marino (harina y aceite de pescado), debido al descenso de las capturas a nivel mundial y para desarrollar una salmonicultura más sostenible (28). La harina de pescado se ha ido reemplazando principalmente por gluten de maíz y trigo y por harina de soja, disminuyendo el porcentaje de harina de pescado en las dietas (29) (Ver Tabla 2-Anexo 4). Por otro lado, el congrio colorado se alimenta de camarones, jaiibas pequeñas y otros peces (sardinias y anchovetas) mientras que la palometa consume pequeños peces y crustáceos (30). Cabe destacar que los perfiles de ácidos grasos, entre ellos EPA y DHA en los peces se ven influenciados por su alimentación; la incidencia es mayor en las especies de pesca y menor en las de cultivo.

Chile se encuentra en la décimo tercera posición de los 25 principales productores de captura marina en el mundo (31), además es el segundo mayor productor mundial de salmón, después de Noruega (32).

El salmón es el cuarto recurso contribuyente de la economía chilena (32). Las especies de salmónidos (salmón y trucha) representan el 84 % de la producción acuícola del país, y prácticamente el 100 % de la producción de peces originados en la acuicultura (34). La producción chilena de esta especie fue de 644500 t en 2014 (33).

Es importante recalcar que las costas de Chile poseen ecosistemas de gran productividad, que le otorgan ventajas como productor de recursos pesqueros y de acuicultura (34). Es así que existen especies como el congrio colorado, de frecuente presencia en el mercado chileno, cuya captura se efectúa desde la XV hasta la XI región (35), y habita preferentemente en los fondos rocosos, donde no forma cardúmenes sino que vive aislado. Aparte del congrio colorado, existen varias especies similares con importancia económica, como el congrio negro (*G. maculatus*) y congrio dorado (*G. blacodes*) (36).

Por otro lado, la palometa se constituye como una especie marina de importancia acuícola en Chile y en otras naciones, como Australia, Nueva Zelanda y Japón (37). Es un pescado que se extrae en la I, II y IV región, principalmente durante la temporada de verano y es capturado de forma artesanal (38). Esta especie es divisada entre los 3 y 825 metros de profundidad en pequeños cardúmenes o en solitario desplazamiento. La producción de congrio colorado y palometa en Chile es menor que la del salmón, con 636 y 372 t respectivamente (33).

El congrio colorado es altamente demandado por la calidad de su carne ya que se destaca por sus características organolépticas en cuanto a la textura y sabor, presentando una carne suave, blanda y exquisita; además la presencia de espinas es casi nula, por lo que resulta ideal para el consumo en niños y adultos mayores (39). Mientras que la palometa es popular debido a su carne firme y blanca (ligeramente aceitosa), es ampliamente utilizada para la preparación de sashimi y por esta razón, esta especie tiene una fuerte demanda en el mercado asiático (37).

### **3.2.7 Justificación del proyecto**

Este trabajo tuvo como propósito principal evaluar la influencia potencial de la temperatura, durante el secado de subproductos de pescado sobre el perfil de ácidos grasos (especialmente EPA y DHA) de los mismos, ya que se conoce que los ácidos grasos altamente insaturados son sensibles a la degradación térmica (40).

El secado de los subproductos es ideal, ya que se ha señalado recientemente las ventajas de obtener polvos a partir de subproductos secos de pescado con fines nutricionales. Estos pueden ser manipulados, transportados y almacenados de una manera más factible que los subproductos frescos o los aceites crudos (41). En el citado estudio se evaluaron factores como macronutrientes, micronutrientes, análisis microbiológico, metales pesados, sin embargo, en la presente tesis el análisis se enfocó en el rendimiento lipídico, perfil de ácidos grasos, perfil lipídico y contenido en colesterol, parámetros cuya información es escasa.

Fueron seleccionados subproductos de pescados procedentes de acuicultura y pesca artesanal con diferentes proporciones de EPA y DHA, pero puesto que el interés se centró en comparar los perfiles antes y después del secado, no se consideró la variabilidad de los valores de EPA y DHA debido a factores tales como la estacionalidad.

No existen datos sobre la caracterización de lípidos en subproductos de pescados obtenidos y consumidos en Chile (y menos aún en seco), por lo que este trabajo aporta información valiosa en ambas formas (fresco y seco), comparando los contenidos de EPA y DHA. Estos resultados dan apertura a investigaciones adicionales en estas especies y se espera trascienda a otras más.



## **4. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

### **Hipótesis**

El perfil de ácidos grasos (especialmente EPA y DHA) contenidos en la fracción lipídica de los subproductos de pescado, no se afecta significativamente por la aplicación de temperatura para el secado.

### **Objetivo General**

Estudiar el efecto del secado y del uso de distintos sistemas de extracción sobre determinados parámetros de la fracción lipídica de subproductos de pescado.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar el rendimiento de extracción de la fracción lipídica contenida en los subproductos frescos y secos, empleando distintos métodos de extracción con solventes.
2. Estudiar la composición de ácidos grasos (con especial atención en EPA y DHA) de los subproductos en fresco y en seco, y de las fracciones lipídicas extraídas de los mismos por los distintos métodos de extracción, así como el perfil lipídico de las fracciones extraídas.
3. Determinar el contenido en colesterol de la fracción lipídica en los subproductos secos (objetivo complementario).

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1 Muestras**

Los subproductos de salmón (vísceras completas correspondientes a 10 ejemplares) fueron enviados al laboratorio de lípidos del INTA por una empresa acuícola ubicada en Puerto Montt (X región). Una vez en el laboratorio, los hígados fueron separados del resto de las vísceras para ser procesados por separado. Las vísceras de congrio (10 ejemplares) y palometa (8 ejemplares) procedentes de pesca artesanal se recolectaron en Coquimbo (IV región). Una vez en el laboratorio, las muestras fueron congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

### **5.2 Secado y determinación del contenido de agua**

En primer lugar los subproductos de cada especie fueron descongelados y homogeneizados con un molino de aspas. Se colectaron alícuotas representativas (10 g) y se colocaron en placas de Petri finas capas de los subproductos de cada especie de forma individual, después de ser homogeneizados. Para la determinación del contenido de agua, las placas de Petri se introdujeron en una estufa de laboratorio a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta que el peso de los subproductos fue constante. Para el secado, se empleó el mismo procedimiento durante 3 horas. Terminado este tiempo, los subproductos secos se rasparon con una espátula, y para obtener el granulado fino se empleó un molino de aspas. Posteriormente se almacenaron en botellas Schott Durán a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en atmósfera inerte de nitrógeno hasta su posterior procesamiento.

### **5.3 Extracción de la fracción lipídica en subproductos frescos y secos**

Se colectaron alícuotas representativas para la extracción de la fracción lipídica a partir del homogeneizado de los subproductos frescos y secos. Dicha extracción se realizó aplicando los siguientes métodos con solventes:

- a) **Método de Folch.** Se emplearon 10 g de subproducto a los cuales se les añadió 200 mL de una mezcla cloroformo:metanol 2:1 (v/v), según el método descrito por Folch (42). Tras 30 minutos con agitación magnética a temperatura ambiente, se filtró por gravedad y al filtrado se le añadieron 40 mL de una solución acuosa salina (NaCl 0,9 %). Tras agitar vigorosamente, la mezcla resultante se dejó separar en dos fases en un embudo de decantación y se recogió la fase inferior que contenía los lípidos extraídos. El solvente se evaporó en un rotavapor a presión reducida y los lípidos se recogieron y conservaron a -20 °C en atmósfera inerte de nitrógeno, hasta su posterior procesamiento.
- b) **Extracción con n-hexano.** A 10 g de subproducto se añadieron 100 mL de n-hexano en un matraz de vidrio con tapón de rosca y la mezcla se sometió a agitación magnética a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente se filtró por gravedad y el filtrado se llevó a evaporación en un rotavapor para retirar el solvente. Los lípidos resultantes fueron colectados y conservados a -20 °C en atmósfera inerte, hasta su posterior procesamiento (43).
- c) **Extracción con n-hexano:isopropanol.** A 10 g de subproducto se añadieron 100 mL de una mezcla n-hexano:isopropanol 3:2 (v/v) y la mezcla se sometió a agitación magnética a temperatura ambiente durante 30 minutos (44). Posteriormente se filtró por gravedad y el filtrado se llevó a evaporación en un rotavapor. Los lípidos resultantes fueron colectados y conservados a -20 °C en atmósfera inerte, hasta su posterior procesamiento.
- d) **Extracción Soxhlet con n-hexano.** Se emplearon 10 g de subproducto para la extracción con n-hexano (150 mL), durante 4 horas, por el método de Soxhlet (45), a temperatura superior a la de ebullición del n-hexano (69 °C). Tras la extracción el solvente se evaporó en un rotavapor a presión reducida y los lípidos se recogieron y conservaron a -20 °C en atmósfera inerte de nitrógeno, hasta su posterior procesamiento.

#### **5.4 Análisis del perfil de ácidos grasos**

Se obtuvieron los perfiles de ácidos grasos, tanto de los subproductos frescos y secos como de las fracciones lipídicas extraídas de los mismos por los distintos procedimientos antes mencionados. Para ello se derivatizaron 500 mg de subproducto o 50 mg de aceite crudo, añadiendo en cada caso 2 mL de mezcla metilante (metanol:cloruro de acetilo en proporción 20:1 v/v) y 1 mL de n-hexano, calentando el conjunto a 100 °C por 30 minutos en un tubo termoresistente con cierre de rosca. Tras la derivatización, se dejaron enfriar los tubos y se añadió 1 mL de agua destilada en cada uno, centrifugando posteriormente a 3.000 rpm durante 5 minutos. Una vez centrifugado, se extrajo la fase superior hexánica conteniendo los esteres metílicos de los ácidos grasos para su análisis por cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama (GC-FID Agilent 6890n). Los ácidos grasos más representativos fueron identificados de acuerdo a su tiempo de retención característico comparándolos con un mix de estándares (PUFA mix no.3, SIGMA ALDRICH).

#### **5.5 Distribución de especies lipídicas en las fracciones extraídas**

Se procedió a realizar cromatografía en capa fina (CCF) con las fracciones lipídicas extraídas de los subproductos frescos y secos por el método de Folch, para lo cual se emplearon placas de sílice preparativas (20x20 cm) y una fase móvil compuesta de n-hexano:éter dietílico:ácido acético 70:30:1 (v/v/v). Tras el desarrollo de la placa, ésta se reveló con vapor de yodo en corriente de nitrógeno y cada una de las bandas resultantes fue raspada para proceder a su metilación siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. El ácido tricosanoico (23:0) se empleó como estándar interno con fines cuantitativos.

#### **5.6 Análisis de colesterol**

Se recolectó una alícuota representativa (0,7 g) de la fracción lipídica obtenida de los subproductos secos por el método de Soxhlet, para llevar a cabo una saponificación con una solución acuosa de hidróxido potásico 1M en etanol al 96

%, durante 1 hora. Posteriormente se añadieron 7 mL de agua destilada más 7 mL de n-hexano para extraer la fracción insaponificable. La extracción se completó con dos porciones adicionales de 7 mL de n-hexano. El solvente se evaporó en rotavapor a presión reducida y la fracción insaponificable se recogió y almacenó a -20 °C hasta su análisis. La concentración de colesterol en el extracto insaponificable se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta (HPLC-UV), empleando una curva de calibrado construida con un estándar analítico de colesterol (SIGMA ALDRICH) con fines cuantitativos.

### **5.7 Análisis estadístico**

Las determinaciones de agua y lípidos se determinaron por triplicado (promedio  $\pm$  desviación estándar) y el resto por duplicado (promedio  $\pm$  desviación estándar). La normalidad se comprobó mediante Test de Shapiro-Wilk. El tratamiento estadístico aplicado a las determinaciones del contenido lipídico y contenido de agua en fresco y contenido en colesterol, fue un ANOVA a una vía y para el perfil de ácidos grasos un ANOVA a dos vías, con un análisis post hoc de Tukey, para identificar las diferencias significativas con una probabilidad de  $p < 0,05$ . El análisis estadístico se ejecutó mediante SPSS versión 21.0. Para el resto de valores se empleó prueba T de Student en Microsoft Excel para identificar las diferencias significativas con una probabilidad de  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Contenido de agua y lípidos en subproductos frescos

El contenido en agua de los subproductos ensayados fue de 80,4 g/100g biomasa fresca en víscera de congrio, 70,7 g/100g en víscera de palometa, 68,7 g/100g en hígado de salmón y 51,7 g/100g en víscera de salmón. Los resultados y la significancia se muestran en la Tabla 6 (Anexo 8) y Figura 3 (Anexo 9).

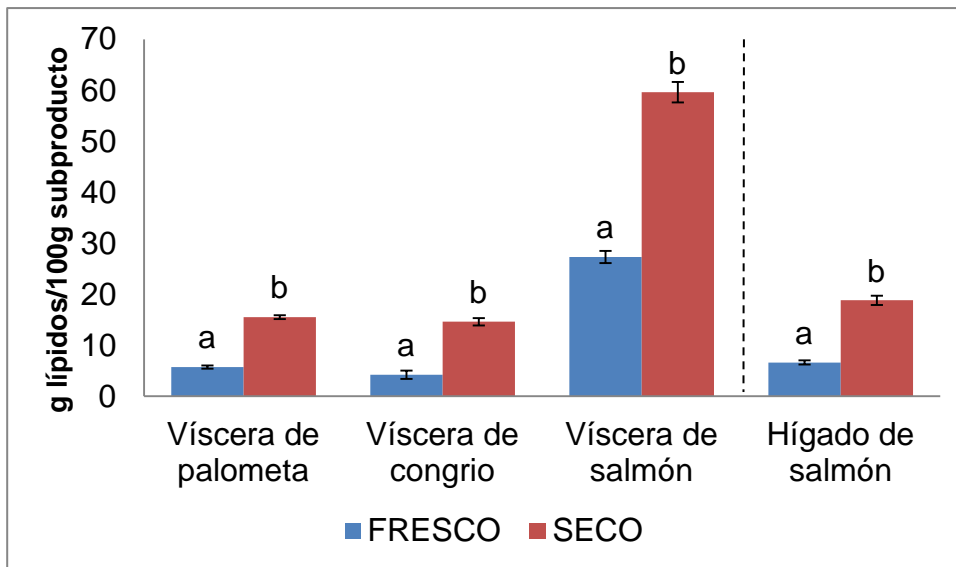
El contenido lipídico obtenido mediante el método de Folch (procedimiento de referencia) en subproductos frescos fue de 44,3 g lípidos/100 g subproducto en víscera de salmón, 7,2 g/100g en hígado de salmón, 5,6 g/100g en víscera de congrio y 5,6 g/100g en víscera de palometa. Los resultados y la significancia se muestran en la Tabla 6 (Anexo 8) y Figura 3 (Anexo 9).

### 6.2 Eficiencia de la extracción lipídica en base al estado de los subproductos (fresco/seco) y del método de extracción

Con base en el **objetivo n°1** planteado en la presente tesis, en la Figura 1 se presenta el contenido lipídico de cada subproducto en fresco y seco en función al método de hexano:isopropanol (Figura 1 a) y al método de hexano (Figura 1 b), donde se pudieron observar diferencias significativas entre fresco y seco en todos los casos. La figura correspondiente al método de referencia (Folch) se puede observar en la Figura 4 (Anexo 10).

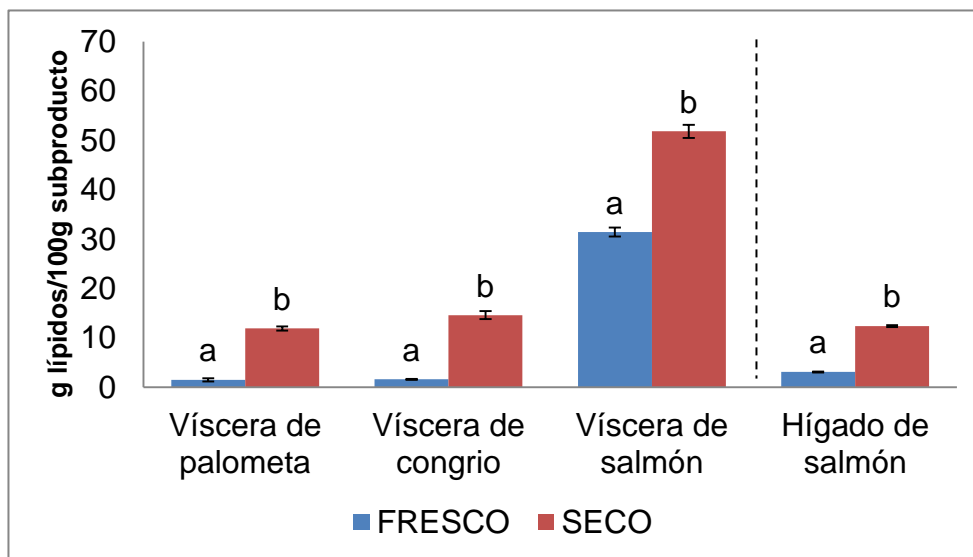
**Figura 1:** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica en subproductos frescos y secos obtenidos con distintos métodos de extracción.

a) Método de Hexano:isopropanol



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. Dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas prueba t de Student.

b) Método de hexano



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. Dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas prueba t de Student.

Con respecto al **objetivo N°1**, en la Figura 2 se presentan los rendimientos lipídicos obtenidos de cada subproducto por los distintos métodos de extracción en estado fresco y seco.

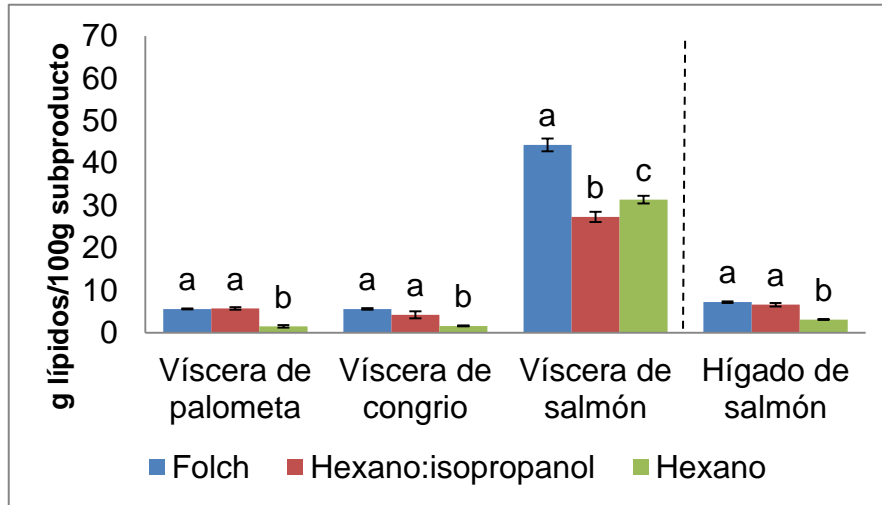
El rendimiento lipídico de subproductos frescos (ver Figura 2a) no fue significativamente distinto con el método de extracción Folch y hexano:isopropanol para víscera de palometa, congrio e hígado de salmón, mientras la extracción con hexano sí fue significativamente menor a los anteriores, y por tanto, la menos eficiente. En el caso de la víscera de salmón, la extracción con Folch fue la más eficiente, presentando diferencias significativas con la extracción con hexano (eficiencia intermedia) y con hexano:isopropanol (menor eficiencia).

Por otro lado, en subproductos secos (Ver Figura 2b) los rendimientos lipídicos obtenidos con extracción hexano:isopropanol y Soxhlet no difirieron significativamente para víscera de palometa e hígado de salmón, mientras que la extracción con Folch y hexano fueron diferentes significativamente a las anteriores y entre ambos. Con respecto a la víscera de congrio, la extracción con hexano:isopropanol y hexano no difirió significativamente, así mismo entre la extracción con Folch y Soxhlet. Finalmente en víscera de salmón la extracción con Folch, hexano:isopropanol y Soxhlet no difirieron significativamente, mientras que la extracción con hexano presentó diferencias significativas con los métodos anteriores y resultó ser el menos eficiente.



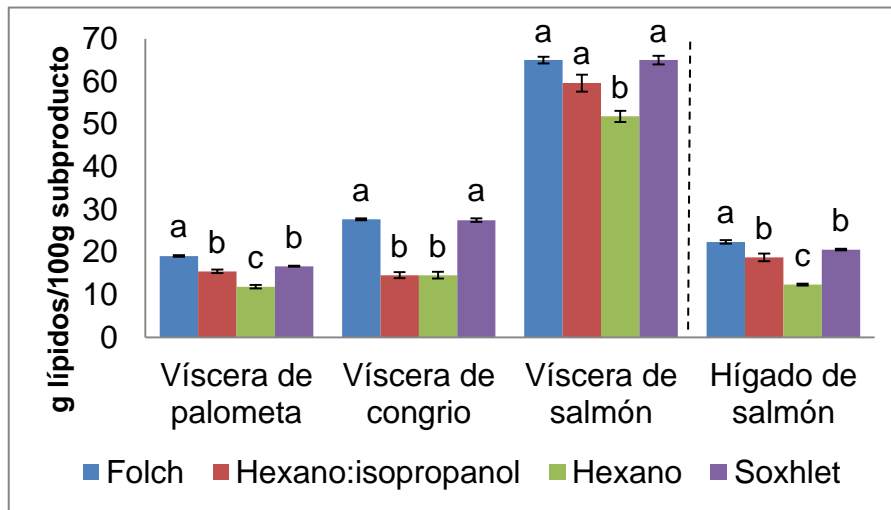
**Figura 2:** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica por métodos de extracción en los distintos subproductos frescos y secos.

a) Fresco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. Dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas prueba t de Student.

b) Seco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. Dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas prueba t de Student.

### **6.3 Caracterización del perfil de ácidos grasos**

Este apartado corresponde al **objetivo N°2** de la presente tesis.

#### **6.3.1 Viscera de palometa**

Con respecto al EPA no se observaron diferencias significativas entre los porcentajes en víscera directa en fresco (6,93 % sobre el total de ácidos grasos) y en seco (5,77 %) (Ver Tabla 7-Anexo 11 y Figura 3), ni tampoco en los lípidos extraídos con los distintos métodos de extracción y víscera directa en fresco y en seco (Ver Tabla 7-Anexo 11) (Ver Figura 4a y 4b).

En cuanto al DHA, los porcentajes en víscera directa en fresco (24,93 %) y en seco (22,96 %) no mostraron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 7-Anexo 11 y Figura 3). Por otro lado, los valores de DHA en lípidos extraídos en fresco con hexano y hexano:isopropanol no presentaron diferencias significativas con el valor de DHA en la víscera directa. El valor de DHA obtenido en los lípidos extraídos en fresco con el método de Folch si difirió significativamente con el obtenido en la víscera fresca. Con respecto al valor de DHA en víscera directa en seco se observaron diferencias significativas con los porcentajes en lípidos extraídos en seco, obtenidos con los diversos métodos de extracción, excepto en el porcentaje de DHA observado con el método de Soxhlet donde no se hallaron diferencias significativas (Ver Tabla 7-Anexo 11) (Ver Figura 5a y 5b).

En cuanto a otros ácidos grasos abundantes en víscera de palometa, los porcentajes de ácido oleico (AO, 18:1n-9) observados en víscera directa en fresco (18,35 %) y en seco (18,21 %) no tuvieron diferencias significativas. Por otra parte, los valores de AO en víscera directa en fresco y lípidos extraídos con los distintos métodos de extracción no presentaron diferencias significativas. Mientras tanto, los valores encontrados en víscera directa en seco no se diferencian significativamente con los lípidos extraídos con el método de Folch y Soxhlet. Esto no ocurre así en el caso de los valores de AO encontrados en los lípidos extraídos con el método de hexano:isopropanol y hexano (Ver Tabla 7-Anexo 11). Respecto al ácido palmítico (AP, 16:0), los porcentajes en víscera directa en fresco (18,31 %) y en seco (19,81 %) no mostraron diferencias significativas. Los valores en

lípidos extraídos con hexano en fresco son significativamente distintos con víscera directa, mientras que con los valores de AP en los lípidos extraídos con el método de Folch y hexano:isopropanol en fresco no se observaron diferencias significativas. Por otro lado, los porcentajes en víscera directa en seco y en lípidos extraídos con el método de Folch, hexano y hexano:isopropanol presentaron diferencias significativas entre sí, no así con el valor de AP en los lípidos extraídos por Soxhlet (Ver Tabla 7-Anexo 11).

### **6.3.2 Víscera de congrio**

El porcentaje de EPA presentó diferencias significativas entre víscera directa en fresco (13,31 %) y en seco (11,09 %) (Ver Tabla 8-Anexo 12 y Figura 3). Por otro lado, los valores en los lípidos extraídos con el método de Folch y hexano:isopropanol presentaron diferencias significativas con el porcentaje en víscera directa en fresco, excepto con el valor de EPA en los lípidos extraídos con hexano, donde no se observaron diferencias significativas. Mientras que los valores en víscera directa en seco y lípidos extraídos con los distintos métodos no mostraron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 8-Anexo 12) (Ver Figura 4a y 4b).

Con respecto a los valores en DHA se presentaron diferencias significativas entre víscera directa en fresco (15,32 %) y en seco (12,97 %) (Ver Tabla 8-Anexo 12 y Figura 3). Los porcentajes en lípidos extraídos con el método de Folch, hexano y hexano:isopropanol en fresco presentaron diferencias significativas con víscera directa. Con respecto a los valores en víscera directa y lípidos extraídos en seco, no se vieron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 8-Anexo 12) (Ver Figura 5a y 5b).

Con respecto a otros ácidos grasos abundantes en víscera de congrio, los porcentajes de AO observados en víscera directa en fresco (16,47 %) y en seco (17,46 %) presentaron diferencias significativas. Por otro lado, los porcentajes en los lípidos extraídos en fresco y en seco no difieren significativamente con víscera directa fresca y seca respectivamente (Ver Tabla 8-Anexo 12).

Por otra parte, los valores de AP en víscera directa en fresco (17,05 %) y en seco (19,23 %) tuvieron diferencias significativas entre sí. Los porcentajes obtenidos en lípidos extraídos con el método de Folch y hexano:isopropanol en fresco presentaron diferencias significativas con el valor de AP en víscera directa, excepto con hexano en fresco, donde no hubo diferencias significativas (Ver Tabla 8-Anexo 12).

### **6.3.3 Víscera de salmón**

Los valores de EPA en víscera directa en fresco (3,49 %) y seco (2,81 %) presentaron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 9-Anexo 13 y Figura 3). Por otro lado, los porcentajes de EPA en lípidos extraídos con el método de Folch, hexano y hexano:isopropanol en fresco son significativamente distintos con víscera directa. Por otro lado, los porcentajes en los lípidos extraídos y víscera directa en seco no mostraron diferencias significativas entre ellos (Ver Tabla 9-Anexo 13) (Ver Figura 4a y 4b).

Con respecto al DHA, los valores en víscera directa en fresco (4,41 %) y seco (3,91 %) fueron significativamente distintos (Ver Tabla 9-Anexo 13 y Figura 3). Por otro lado, los porcentajes en los lípidos extraídos con el método de Folch, hexano y hexano:isopropanol presentaron diferencias significativas con el valor de DHA en víscera directa en fresco, mientras que los porcentajes en lípidos extraídos y víscera directa en seco no se observaron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 9-Anexo 13) (Ver Figura 5a y 5b).

En cuanto a otros ácidos grasos abundantes en víscera de salmón, los porcentajes de ácido linoleico (AL) (18:2n-6) en víscera directa en fresco (19,11 %) y seco (17,47 %) presentaron diferencias significativas. Con respecto a los valores en lípidos extraídos con los distintos métodos en fresco y en seco, se observaron diferencias significativas con víscera directa en fresco y seco respectivamente (Ver Tabla 9-Anexo 13).

Por otro lado los valores de AP en víscera directa en fresco (10,52 %) y seco (11,21 %) difirieron significativamente. En el caso de los porcentajes de AP en

lípidos extraídos en fresco y seco, se observaron diferencias significativas con víscera directa en fresco y seco respectivamente (Ver Tabla 9-Anexo 13).

#### **6.3.4 Hígado de salmón**

Los porcentajes de EPA en hígado directo en fresco (7,70 %) y seco (6,23 %) presentaron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 10-Anexo 14 y Figura 3). Por otro lado, los valores en los lípidos extraídos en fresco y en seco no se diferenciaron significativamente con los porcentajes en hígado directo en fresco y seco respectivamente (Ver Tabla 10-Anexo 14) (Ver Figura 4a y 4b).

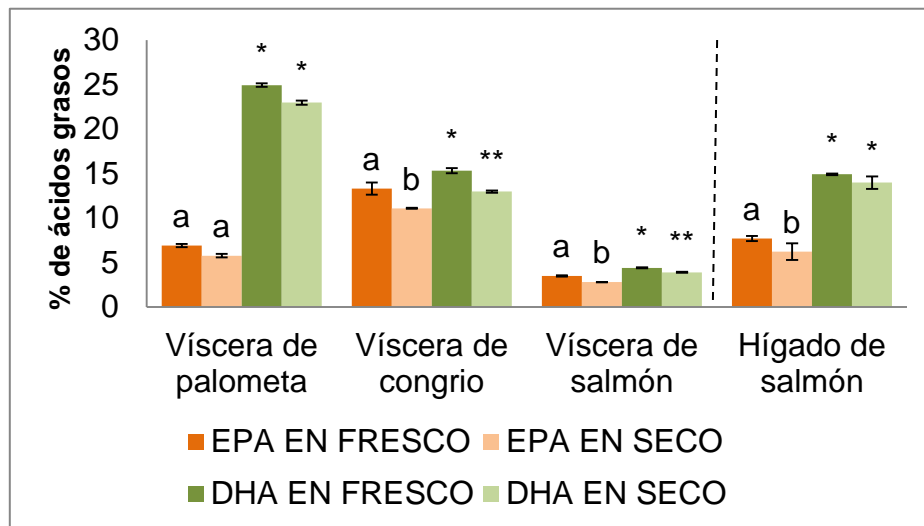
Por otro lado los valores de DHA en hígado directo en fresco (14,91 %) y seco (13,98 %) no mostraron diferencias significativas entre sí (Ver Tabla 10-Anexo 14 y Figura 3). Con respecto a los valores de DHA en lípidos extraídos con hexano e hígado directo en fresco mostraron diferencias significativas entre sí, no así con los otros valores observados en los lípidos extraídos con distintos métodos de extracción. Mientras que, los valores en hígado directo y lípidos extraídos en seco no se diferenciaron significativamente (Ver Tabla 10-Anexo 14) (Ver Figura 5a y 5b).

Con respecto a otros ácidos grasos abundantes en hígado de salmón, los porcentajes de AL en hígado directo en fresco (12,06 %) y seco (10,35 %) fueron significativamente distintos. Los valores en lípidos extraídos con el método de Folch, hexano y hexano:isopropanol mostraron diferencias significativas con el porcentaje en hígado directo en fresco. En el caso del valor de AL en hígado directo en seco, se observaron diferencias significativas con los porcentajes en lípidos extraídos con hexano, hexano:isopropanol y Soxhlet en seco, no así con el valor de AL en lípidos extraídos con el método de Folch (Ver Tabla 10-Anexo 14).

Con respecto al AP, los valores en hígado directo en fresco (12,49 %) y seco (13,30 %) fueron significativamente distintos. El porcentaje de AP en lípidos extraídos con hexano presentó diferencias significativas con hígado directo en fresco, mientras que para los otros porcentajes de AP en lípidos extraídos con los distintos métodos de extracción en fresco no se observaron diferencias significativas. Por otro lado, los valores en lípidos extraídos con el método de

Folch, hexano y Soxhlet en seco presentaron diferencias significativas con hígado directo en seco, no así con el valor en lípidos extraídos con hexano:isopropanol (Ver Tabla 10-Anexo 14).

**Figura 3:** Contenido en EPA y DHA en subproductos de palometa, congrio y salmón, tanto en fresco como en seco.

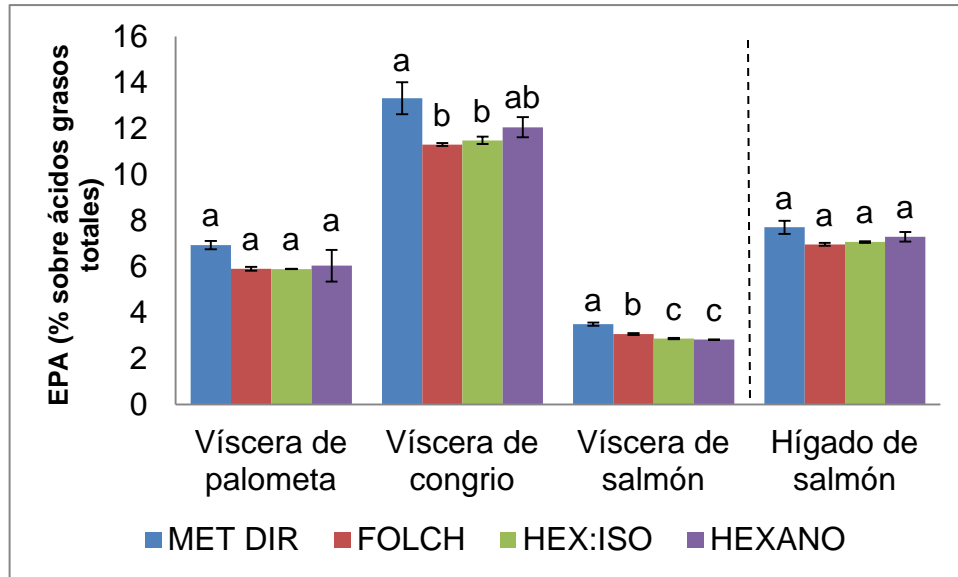


\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra o la misma cantidad de \* no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

\*Letras: corresponden a EPA \*: corresponden a DHA

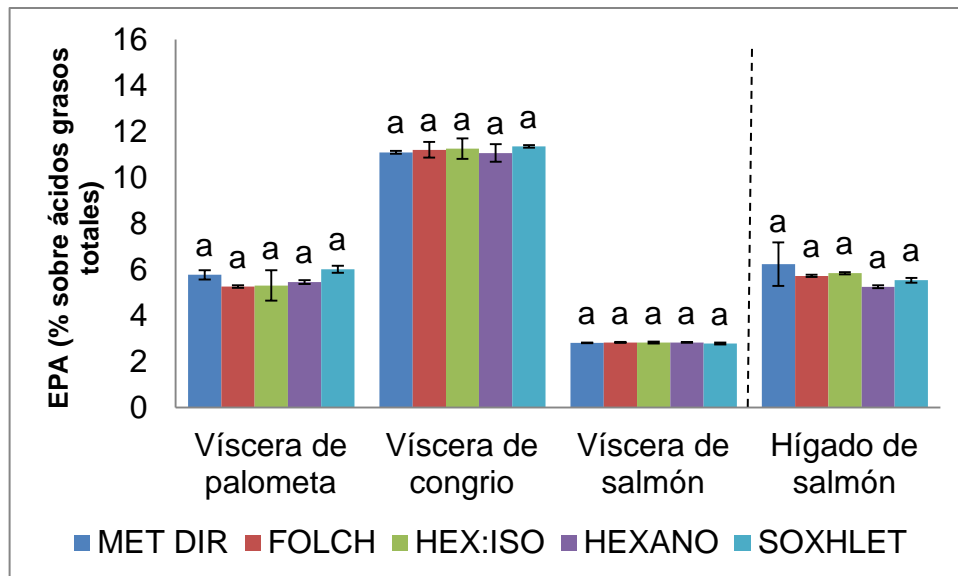
**Figura 4:** Contenido de EPA en subproductos de palometa, congrio y salmón y su fracción lipídica en función al método de extracción empleado, tanto en fresco como en seco.

a) Fresco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

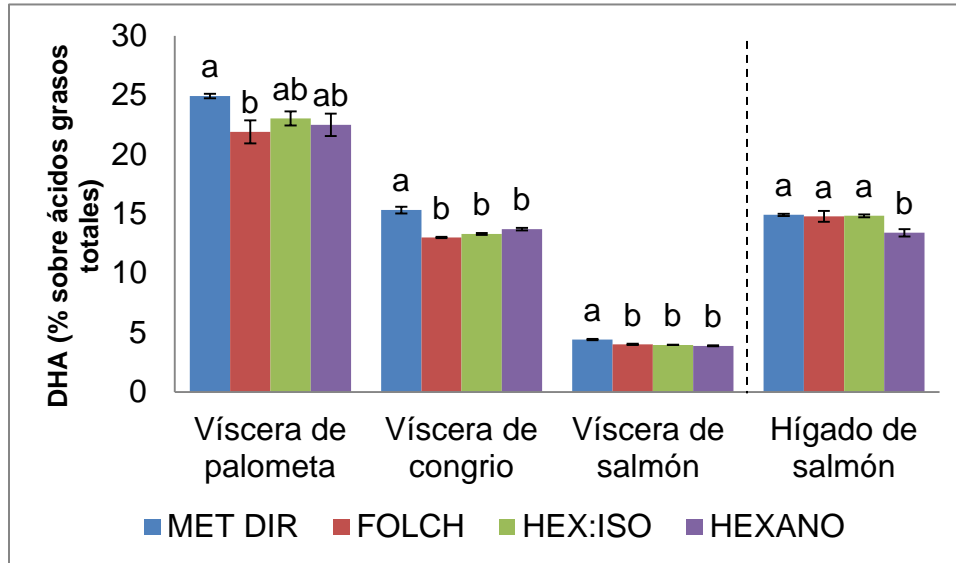
b) Seco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

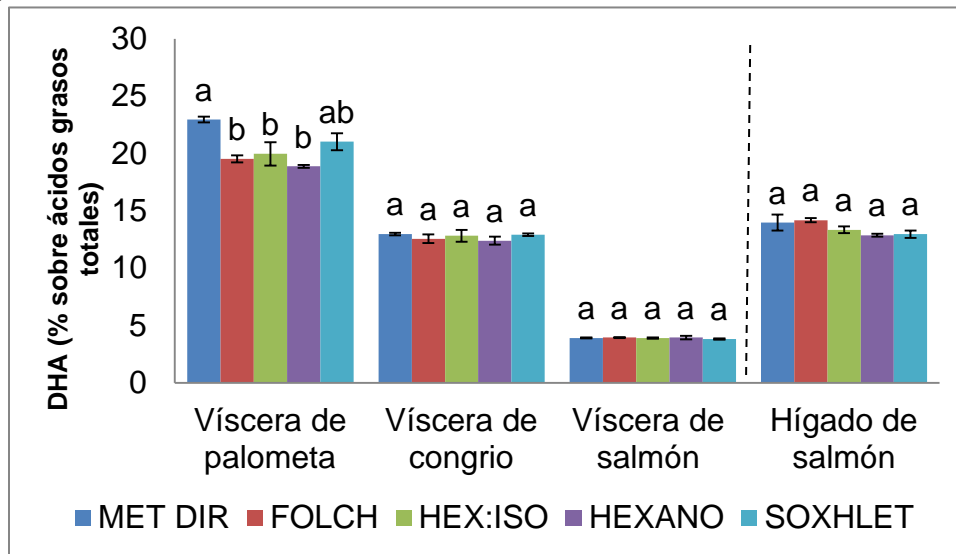
**Figura 5:** Contenido de DHA en subproductos de palometa, congrio y salmón y su fracción lipídica en función al método de extracción empleado, tanto en fresco como en seco.

a) Fresco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

b) Seco



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).



### **6.3.5 Contenido en EPA, DHA, AL y ALA de subproductos frescos de palometa, congrio y salmón.**

En la figura 5 (Anexo 15) se representan los valores de EPA, DHA, AL y ALA en los subproductos frescos estudiados en este trabajo con fines comparativos. Se incluyeron AL y ALA porque pueden considerarse indicadores de la administración dietaria de aceites vegetales en peces de acuicultura (Ver Introducción Página 9). El porcentaje de EPA presentó diferencias significativas en los distintos subproductos, excepto para el caso de la víscera de palometa y el hígado de salmón. Con respecto a los valores de DHA, estos fueron significativamente distintos en todos los casos, excepto en víscera de congrio e hígado de salmón. El mayor contenido en EPA se encontró en víscera de congrio (15,32 %) y el menor valor en víscera de salmón (3,49 %). Con respecto al DHA, el mayor porcentaje se halló en víscera de palometa (24,93 %) y el menor valor en víscera de salmón (4,41 %). Por otro lado, los porcentajes en AL y ALA se diferenciaron significativamente en los subproductos estudiados, excepto los valores presentados en víscera de palometa y víscera de congrio (Ver Figura 5-Anexo 15). Por otro lado, el mayor valor de AL y ALA se presentó en víscera de salmón (19,11 % y 6,03 % respectivamente) y el menor valor en víscera de congrio (1,20 % y 0,27 % respectivamente).

### **6.4 Perfil lipídico**

Con base en el **objetivo N°2**, se determinó el perfil lipídico de la fracción extraída por Folch de los subproductos, tanto en fresco como en seco, mediante CCF (Cromatografía de capa fina), donde se identificaron 5 bandas: lípidos polares (LP), diglicéridos (DAG), ácidos grasos libres (AGL), triglicéridos (TAG) y ésteres de colesterol (EC). Se determinó el porcentaje de ácidos grasos (AG) contenidos en cada una de las bandas sobre el total de AG en la fracción lipídica (Ver Tabla 1).

Para evaluar el grado de hidrólisis de los lípidos contenidos en subproductos frescos y secos, se consideraron las bandas correspondientes a TAG y AGL. En el

caso de la víscera seca de salmón no se realizó el perfil lipídico ya que se obtuvo una pasta aceitosa difícilmente manipulable.

#### **6.4.1 Ácidos grasos libres (AGL)**

En víscera de palometa y víscera de congrio 1, los porcentajes en la banda de AGL en fresco (53,7 % y 69,4 % respectivamente) presentaron diferencias significativas con los valores hallados en la banda de AGL en seco (42,1 % y 52,3 % respectivamente). Mientras tanto, los porcentajes en la banda de los AGL en fresco de víscera de congrio 2 (Ver discusión página 45, donde se aclara la distinción entre congrio 1 y congrio 2) (7,3 %) e hígado de salmón (69,5 %) no difirieron significativamente con los valores observados en las bandas de AGL en seco (9,9 y 66,5 % respectivamente) (Ver Tabla 1).

#### **6.4.2 Triglicéridos (TAG)**

En el caso de los TAG, los porcentajes en víscera de palometa y víscera de congrio en fresco (13,6 % y 12,4 % respectivamente) se diferenciaron significativamente de los porcentajes hallados en seco (26,4 % y 25,4 % respectivamente). Por otro lado, los porcentajes de TAG en víscera de congrio 2 (Ver discusión página 45) (83,9 %) e hígado de salmón (0,9 %) no presentaron diferencias significativas con los valores observados en seco (80,2 % y 1,6 % respectivamente) (Ver Tabla 1).

**Tabla 1:** Perfil de las fracciones lipídicas extraídas de los subproductos frescos y secos (en porcentaje de ácidos grasos presentes en cada banda sobre el total de ácidos grasos en la fracción lipídica).

	FRESCO					SECO				
	LP	DAG	AGL	TAG	EC	LP	DAG	AGL	TAG	EC
Viscera de Palometa	19,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	11,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	53,7 ± 1,9 <sup>a</sup>	13,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,0 <sup>a</sup>	16,7 ± 0,7 <sup>b</sup>	13,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	42,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	26,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,3 ± 0,2 <sup>a</sup>
Viscera de congrio 1	7,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	6,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	69,4 ± 1,7 <sup>a</sup>	12,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	11,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	7,5 ± 0,8 <sup>a</sup>	52,3 ± 0,9 <sup>b</sup>	25,4 ± 1,3 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,5 <sup>a</sup>
Viscera de congrio 2	5,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	83,9 ± 1,2 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	9,9 ± 0,5 <sup>a</sup>	80,2 ± 1,3 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
Viscera de salmón*	4,9 ± 0,3	14,5 ± 0,3	23,1 ± 0,2	57,1 ± 0,9	0,3 ± 0,1	-	-	-	-	-
Hígado de salmón	25,3 ± 1,1 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	69,5 ± 1,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,4 <sup>b</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	25,0 ± 1,5 <sup>a</sup>	4,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	66,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>a</sup>

\*LP: Lípidos Polares; DAG: Diglicéridos; AGL: Ácidos grasos libres; TAG: Triglicéridos; EC: Ésteres de colesterol

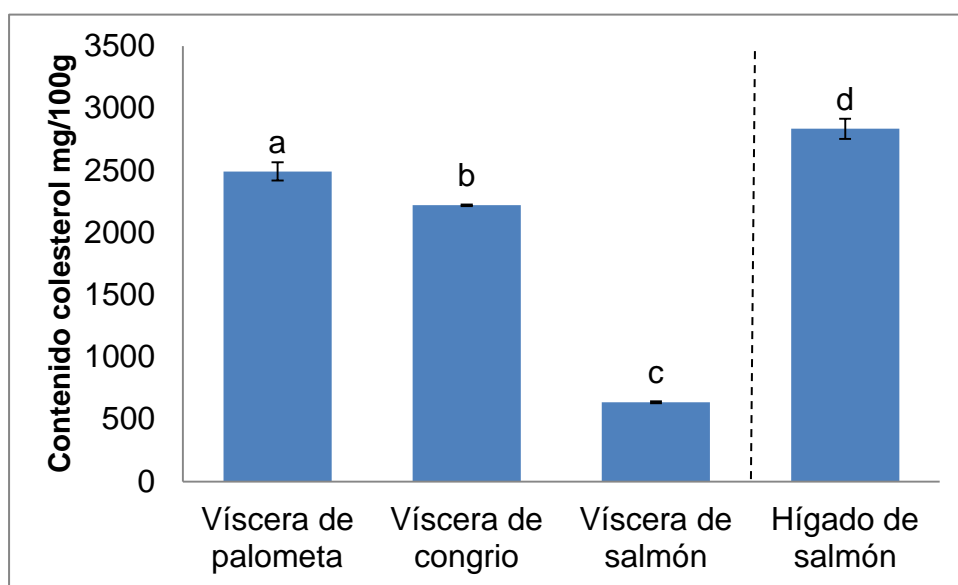
\*Los valores corresponden a media ± DE, ANOVA. Dentro de cada banda (LP, DAG, AGL, TAG, EC) entre fresco y seco los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba t de Student).

\*No se determinó el perfil lipídico en seco, debido a su alto contenido en grasa.

## 6.5 Contenido de colesterol

Con respecto al **objetivo N°3**, el contenido de colesterol encontrado en la fracción lipídica extraída de los subproductos de pescado en seco (mg/100 g de lípidos) fue significativamente distinto para víscera de palometa (2492 mg/100g), víscera de congrio (2220 mg/100g), víscera de salmón (636 mg/100g) e hígado de salmón (2835 mg/100g) (Ver Figura 6).

**Figura 6:** Contenido de colesterol en la fracción lipídica de subproductos secos (mg colesterol/100 g de lípidos)



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE (por duplicado) ANOVA. Dentro de cada subproducto de pescado los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Contenido de agua y lípidos

Se conoce que la composición química (agua, proteínas, lípidos, entre otros) de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año (46).

Con respecto al contenido de agua, esta puede constituir entre el 50 y 80 % de la masa total del espécimen y es inversamente proporcional al contenido de grasa (47,48). En esta investigación, los subproductos registraron un contenido de agua entre 51,7 % (víscera de salmón) y 80,4 % (víscera de congrio), lo cual es consistente con los resultados reportados.

En cuanto a los resultados del contenido lipídico, fue en la víscera de salmón donde se observó una mayor cantidad. Esta característica no permitió que se genere una textura adecuada para el manejo, como sucedió con los otros subproductos de pescado tras ser sometidos a la técnica de secado.

A diferencia de los mamíferos que depositan los lípidos en el tejido adiposo, los pescados poseen lípidos en el hígado, músculos y tejidos periviscerales y subcutáneos (49). Aunque no se tenía referencia de la edad de los ejemplares con los que se trabajó, se sabe que el pescado más longevo es generalmente más rico en grasa y por lo tanto contiene una menor proporción de agua (48). Asimismo, el salmón de acuicultura forma parte de los pescados grasos, según la clasificación del contenido lipídico, y constituye uno de los pescados más oleosos (2,50).

Es importante recalcar que la alimentación que reciben los peces de acuicultura es diferente a la que consumen los peces de origen salvaje. Y en este contexto, debe tomarse en cuenta que los productores de pescado tienden a aumentar el contenido en lípidos en las dietas, generalmente para promover el crecimiento y ahorrar proteínas, de forma que se incremente el contenido lipídico en los tejidos de los pescados de acuicultura (49), como se puede observar en un estudio donde se evaluó el contenido lipídico en hígado de dorada negra en cautiverio (49,73 %) y salvaje (19,02 %) (51).

Los resultados de esta tesis acerca del contenido lipídico muestran valores inversamente proporcionales a los correspondientes al contenido de agua (Ver Figura 3-Anexo 9), de forma similar a lo reportado en estudios previos. Por ejemplo, una investigación realizada en víscera de pez gato asiático (*Pangasius bocurti*) de acuicultura, encontró un contenido lipídico mayor al 90 % y de agua menor al 10 % (52). Por otro lado, en víscera de palometa (*Seriola lalandi*) y salmón atlántico (*Salmo salar*) de acuicultura se encontró un 27,19 % de lípidos frente a 61,24 % de agua, y 23,75 % de lípidos frente a 63,90 % de agua respectivamente (53). Así también, en otro estudio se evaluó el contenido lipídico y de humedad en vísceras de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (19,1 % y 63,5 % respectivamente), vísceras de bacalao del Pacífico (*Gadus macrocephalus*) (8,1 % y 76,5 % respectivamente) y vísceras de salmón rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*) (2,0 % y 81,2 % respectivamente) de origen salvaje (54). Por lo tanto, el contenido lipídico en especies de acuicultura es mayor con respecto a la proporción lipídica en peces de origen salvaje.

En cuanto a las técnicas de extracción de la fracción lipídica, el método de Folch (usado como referencia) fue el procedimiento más eficiente en subproductos frescos y secos. Este método emplea una combinación de solventes, cloroformo y metanol (18), permitiendo que la extracción de la fracción lipídica sea más eficaz al extraer lípidos en un alto rango de polaridades.

Con respecto a los subproductos frescos en víscera de palometa, víscera de congrio e hígado de salmón, tras el método de Folch el procedimiento más eficiente fue el de hexano:isopropanol, ya que no presentó diferencias significativas con la extracción Folch, excepto para el caso de la víscera de salmón donde sí difirieron significativamente, probablemente a su alto contenido lipídico con respecto a los otros subproductos (Ver Tabla 6-Anexo 8) (Ver Figura 2a-Resultados). El método de hexano:isopropanol evidenció una eficiencia óptima con respecto al método de hexano, ya que se empleó una combinación de disolvente polar (isopropanol) y no polar (n-hexano), permitiendo una mejor extracción de la fracción lipídica. Finalmente, el menos eficaz resultó ser el método de hexano, que en su mayoría extrajo lípidos neutros (Ver Figura 2a-Resultados).

En el caso de los subproductos secos, estos presentaron una tendencia similar a los frescos, sin embargo, se agregó un procedimiento más (Soxhlet) y solo se realizó en subproductos secos porque, según las recomendaciones de uso, este requiere de una muestra seca para que el solvente interaccione con más facilidad (27). El método de Soxhlet fue el más eficiente tras el método de Folch, principalmente en víscera seca de congrio y salmón, donde los rendimientos fueron iguales al contenido lipídico obtenido por el procedimiento de referencia (Folch). A continuación del procedimiento de Soxhlet, se situó la extracción con hexano:isopropanol y la menos eficiente fue la extracción con hexano (Ver Tabla 6-Anexo 8) (Ver Figura 2b-Resultados).

El método de Folch utiliza cloroformo, un disolvente que ha sido catalogado como un posible agente carcinogénico (18), por lo que no puede ser considerado de grado alimentario. Por el contrario, el método de Soxhlet utiliza n-hexano, un disolvente de grado alimentario que se caracteriza por su baja toxicidad; además, es menos corrosivo, de bajo costo y posee una baja temperatura de vaporización (punto de ebullición: 68,7 °C) (18).

Existen otros métodos de extracción que implican el uso de enzimas o fluidos supercríticos (55), sin embargo, estos procedimientos son de elevado costo y actualmente, su escalamiento para uso industrial es complejo. Adicional a ello, en un estudio comparativo entre el método de Soxhlet y de fluidos supercríticos, se observó que la calidad del aceite total extraído es similar en ambos procedimientos con respecto a dos parámetros: contenido de aceite y perfil de ácidos grasos (22).

La diferencia entre aplicar la extracción con n-hexano a temperatura ambiente y en modo Soxhlet, es el uso de una temperatura más elevada durante el proceso en el segundo de ellos, lo que debe favorecer un incremento de la eficiencia extractiva. El aumento de temperatura mediante Soxhlet resulta más relevante que incrementar la polaridad del sistema extractante (adición de isopropanol) al método con hexano. Además, el isopropanol tarda en evaporarse con respecto al hexano.

## 7.2 Técnica de secado

El alto contenido de humedad en los subproductos puede hacer difícil su manipulación y los hace más propensos a la contaminación microbiana y a la acción de enzimas presentes en esos tejidos, las cuales pueden provocar hidrólisis y/o degradación de los lípidos contenidos en los subproductos (56, 57). La técnica de secado efectuada en los subproductos permitió un adecuado manejo de los mismos, excepto en la víscera de salmón por su alto contenido lipídico. Por otro lado, el secado permite una extracción de la fracción lipídica más eficiente, debido a la ausencia de agua y a una mejor interacción con el solvente como se pudo observar en la Figura 1a y 1b (resultados), utilizando volúmenes menores que los empleados para la extracción de la biomasa en fresco. El alto contenido de agua evidenciado en la mayoría de los subproductos estudiados, justifica un tratamiento de calor con el fin de evitar el desarrollo microbiano y facilitar el manejo de los desechos (56).

En la industria los subproductos de pescado (principalmente cabezas, huesos, piel, víscera) se calientan a 65, 80, 105 y 150 °C por 12 horas, en función de reducir el contenido de humedad a un 10-12 %. Este porcentaje constituye el contenido de humedad recomendado para piensos animales (13).

El secado realizado en esta investigación se efectuó con una temperatura de 105 °C por 3 horas, por lo que, al reducir el contenido de agua, el ambiente se vuelve inadecuado para que las enzimas actúen y provoquen una posible hidrólisis. Adicionalmente a esta temperatura, las enzimas deberían desnaturalizarse, por lo que la inhibición de su acción es doble: retirada de agua del medio e inhibición térmica. Por otro lado, en un estudio se observó que el proceso de secado mecánico usado en subproductos de pescado es eficaz para la inactivación de algunas bacterias (41), y esto reduciría el riesgo microbiológico. Mientras la temperatura se incrementa, un número creciente de bacterias muere (58).

Se utilizó esta temperatura (105 °C), para garantizar la evaporación del agua, por ello el subproducto derivó en un producto finamente granulado (polvo fino) de manejo más sencillo. Sin embargo, esta temperatura puede provocar la degradación del EPA y DHA, a pesar de que se empleó en menos tiempo que el



que se aplica a nivel industrial. De esta forma, es conveniente evaluar las pérdidas potenciales de estos ácidos grasos. El tiempo establecido (3 horas) se basó en que los subproductos mantuvieron un peso constante al terminar este periodo, siguiendo una cinética de secado realizada a tal fin.

### **7.3 Perfil de ácidos grasos**

Diversas investigaciones se han centrado en el estudio de subproductos de varias especies marinas, en las que se ha encontrado una cantidad considerable de EPA y DHA (Ver Tabla 3-Anexo 5 y Tabla 4-Anexo 6).

El propósito de este trabajo se enfocó en determinar de forma comparativa el contenido de los dos ácidos grasos referidos, presentes en los distintos subproductos en fresco y en seco de las especies seleccionadas. No obstante, también fue importante tomar en cuenta otros ácidos grasos, que nos permitieron observar diferencias entre especies de origen salvaje y otras de procedencia acuícola, de acuerdo a su alimentación principalmente.

Los ácidos grasos predominantes en el perfil de estos subproductos, pero distintos a EPA y DHA en vísceras de palometa y congrio de origen salvaje fueron el AP y el AO (Ver Tabla 7-Anexo 11 y Tabla 8-Anexo 12). Con respecto a los subproductos de salmón acuícola (víscera e hígado), los ácidos grasos que predominaron fueron el AP, AO, AL y ALA (Ver Tabla 9-Anexo 13 y Tabla 10-Anexo 14). Los ácidos grasos más abundantes, sin considerar EPA y DHA, que se han encontrado en subproductos de pescado son ácidos grasos monoinsaturados (principalmente AO) y AP (13). A continuación se detalla la discusión por cada una de los subproductos evaluados:

#### **7.3.1 Víscera de palometa**

Los porcentajes de EPA (5,77 %) y DHA (22,96 %) encontrados en víscera seca no fueron significativamente menores que en víscera fresca (6,93 % y 24,93 % respectivamente) (Ver Tabla 7-Anexo 11 y Figura 3-Resultados). Por lo tanto, el secado (105°C por 3 horas) no degrada estos ácidos grasos significativamente, manteniendo su potencial nutricional con respecto al contenido de ácidos grasos relevantes para la salud humana.

Las vísceras de palometa evaluadas en esta investigación, presentaron un porcentaje de 6,93 % de EPA y 24,93 % de DHA sobre ácidos grasos totales (Ver Tabla 7-Anexo 11 y Figura 3-Resultados). En un estudio similar, pero efectuado en vísceras de palometa de acuicultura de origen australiano, los valores presentados en EPA fueron de 4,60 % y un 3,60 % correspondieron a DHA (53). Esta diferencia de resultados encontrados con los del presente proyecto de tesis podría deberse principalmente al factor dietario y origen (país de procedencia) de estas especies. Con respecto a la alimentación, las palometas de origen salvaje se alimentan de peces pequeños, crustáceos, entre otros, como se citó en los antecedentes, mientras los peces de piscifactoría, son alimentados con dietas pre elaboradas, generalmente deficientes de harina de pescado (fuentes de EPA y DHA).

### **7.3.2 Viscera de congrio**

Los porcentajes observados de EPA (11,09 %) y DHA (12,97 %) tras el procedimiento de secado, se diferenciaron significativamente con los valores presentados en víscera fresca (13,31 % y 15,32 %) (Ver Tabla 8-Anexo 12 y Figura 3-Resultados), presentando una disminución de un 2,29 % de EPA+DHA. En este caso, la degradación no resulta crítica porque su contenido en EPA y DHA aún sigue siendo relevante.

No se han observado estudios referentes al perfil de ácidos grasos en esta especie, tanto en filete como en subproductos, pero en una investigación que evaluó el filete de congrio dorado salvaje de origen australiano (*Genypterus blacodes*), se registró un porcentaje en EPA de 4,70 % del total de ácidos grasos y un 39,90 % de DHA (59).

De acuerdo a lo observado, se puede decir que existe una variación en la cantidad de estos ácidos grasos, dependiendo de la muestra que se estudia (filete, subproductos) y también de los factores internos (edad, madurez sexual) y externos (temperatura del agua, salinidad, alimentación), que influyen en la proporción de EPA y DHA como se mencionó anteriormente. Se ha visto que peces de climas tropicales presentan un bajo contenido de lípidos totales, comparado con peces de la región ártica (22). Este elevado contenido lipídico le

brinda al pescado una protección frente a las temperaturas bajas. Además, los lípidos son más insaturados en estas especies de agua fría (23,60), lo que le permite mantener la fluidez de la membrana (61).

### **7.3.3 Viscera de salmón**

Los valores registrados de EPA (2,81 %) y DHA (3,91 %) en las vísceras secas fueron significativamente distintos a los porcentajes observados en víscera fresca (3,49 % y 4,41 % respectivamente), presentándose una disminución de un 0,59 % de EPA+DHA (Ver Tabla 9-Anexo 13 y Figura 3-Resultados). La proporción de EPA y DHA es bastante baja en comparación con los otros subproductos de especies evaluados en este proyecto de tesis. Sin embargo, la víscera de salmón de origen acuícola poseía el mayor contenido lipídico, por lo que la proporción de EPA y DHA en una cierta cantidad de víscera fresca puede ser superior a la producida por la misma cantidad de víscera en peces de origen salvaje, a pesar de sus concentraciones relativamente bajas de estos ácidos grasos (49). En este caso en particular, la utilidad no se destinaría al producto seco, sino al aprovechamiento de la fracción lipídica generada. El contenido lipídico debiera ser extraído rápidamente para evitar la degradación de estos ácidos grasos, ya que el manejo, transporte y estabilidad de los lípidos que contiene esta fracción, requieren de más cuidado (mayormente susceptibles a la luz, oxígeno entre otros) que los que se encuentran en otros subproductos donde se obtuvo el polvo fino.

Existen estudios en los que se ha evaluado el contenido de EPA y DHA en víscera de salmón de acuicultura. Por ejemplo, en un trabajo en Australia se encontró un 7,91 % de EPA y 6,99 % de DHA sobre el total de ácidos grasos (50), mientras que en vísceras de origen estadounidense se observó un 5,8 % de EPA y un 7,3 % de DHA sobre el total de ácidos grasos (53). En este caso, la variabilidad encontrada con nuestros resultados podría relacionarse a la composición de las distintas dietas (pellets) que se administran a los peces por parte de los piscicultores y además al origen de estos peces de acuicultura.

### **7.3.4 Hígado de salmón**

El porcentaje que se observó de EPA (6,23 %) tras el secado del hígado de salmón difirió significativamente con el valor encontrado en hígado fresco (7,70 %). Con respecto al porcentaje de DHA en hígado seco (13,98 %) no se observaron diferencias significativas con el valor en hígado fresco (14,91 %) (Ver Tabla 10-Anexo 14 y Figura 3-Resultados). Los salmones de acuicultura son alimentados con suplementos para peces que poseen varios isómeros de carotenoides (62), y es probablemente la presencia de estos antioxidantes en los piensos animales, un factor que evita la degradación significativa de estos ácidos grasos, como sucedió en el caso del DHA.

Por otro lado, el contenido de EPA y DHA en la fracción lipídica extraída de los subproductos frescos y secos fue determinado por distintos métodos de extracción. Debido a las ventajas que otorga la técnica de secado por las razones antes descritas, en el caso de estos subproductos se vio que independientemente del método de extracción empleado, los porcentajes de EPA y DHA no difirieron significativamente en la mayoría de los casos (Ver Figura 4 y 5-Resultados). Con base en estos resultados, los subproductos evaluados no solo podrían ser aprovechados en forma de un fino polvo rico en estos ácidos grasos, sino también podría extraerse la fracción lipídica utilizando de preferencia el método de Soxhlet, debido a las ventajas ya expuestas, principalmente por extraer un amplio rango de lípidos (similar al método de referencia Folch) y por ser de grado alimentario.

### **7.4 Influencia de la alimentación del pez sobre el contenido en ciertos ácidos grasos poliinsaturados en los subproductos estudiados**

Los subproductos frescos de las especies evaluadas presentaron distintas cantidades de EPA, DHA, AL y ALA, como se puede observar en la Figura 5 (Anexo 15). Con respecto a los valores registrados de EPA, la víscera de congrio presentó el mayor porcentaje (13,31 %) mientras que el menor valor fue encontrado en víscera de salmón (3,49 %). El mayor valor de DHA lo presentó la víscera de palometa (24,93 %), mientras que el menor porcentaje se observó en

víscera de salmón (4,41 %). Por otro lado, el mayor valor en AL y ALA se halló en víscera de salmón (19,11 % y 6,03 % respectivamente) y el menor valor en vísceras de congrio (1,20 % y 0,27 % respectivamente).

Varias investigaciones han confirmado que el perfil de ácidos grasos de pescados de acuicultura es distinto al de los salvajes, y la dieta ha sido identificada como la razón principal de las diferencias observadas (63). El nivel de AGPI n-3 (EPA y DHA) en los lípidos de pescados de cultivo es significativamente más reducido que en peces salvajes, ya que los piscicultores usualmente suministran a los peces formulaciones alimenticias que contienen bajas proporciones de EPA y DHA, debido a la sustitución parcial de la tradicional harina de pescado por aceites vegetales que no contienen estos AGPI n-3 (61). Por otro lado, los pescados de origen salvaje se alimentan de fuentes propias del hábitat de donde proceden (otros peces, crustáceos), como se detalló en los antecedentes de la alimentación de congrio y palometa (Ver Introducción, página 12). Los pescados requieren altas cantidades de ácidos grasos altamente insaturados, como el EPA y DHA, para su normal desarrollo (25).

Se desconocía el tipo de alimentación que se administró a los salmones de acuicultura evaluados en esta investigación, sin embargo, al presentar estas cantidades elevadas de AL y ALA en relación a las especies salvajes, es probable que las dietas a base de pescado (ricas en EPA y DHA) se hayan reemplazado por aceites de semillas compuestas en su mayoría por AGPI n-6 (maíz y girasol) con una combinación de aceites ricos en AGPI n-3 (como soya, linaza o canola) (Ver Figura 6-Anexo 16). Estas son fuentes que generalmente se utilizan para la elaboración de piensos de pescado (62, 64, 26) y, por lo tanto, disminuyen el contenido en EPA y DHA.

## **7.5 Perfil Lipídico**

Debido a que en este trabajo el interés se centró en los subproductos secos (eficiencia de extracción, facilidad de manejo, almacenamiento menos riguroso), fue necesario determinar el perfil lipídico de estos para establecer si la técnica de secado, provocaba la hidrólisis de los lípidos contenidos en los subproductos.

Para ello se hizo hincapié en dos bandas que indican este efecto: los triglicéridos (TAG) y los ácidos grasos libres (AGL). Los TAG componen la mayoría de los lípidos marinos (20) y los AGL se generan debido a procesos de degradación de los TAG, es decir corresponden a los productos que se generan en esa reacción. Cuanto más hidrolizado esté un aceite, menos TAG y más AGL se encontrarán en el mismo.

Se determinó el porcentaje de ácidos grasos (AG) contenidos en cada una de las bandas sobre el total de AG en la fracción lipídica. En la banda de los TAG, los valores fueron de 26,4 % en víscera de palometa, 1,6 % en hígado de salmón y 25,4 % en víscera de congrio 1. Es importante recalcar que no se determinó el perfil lipídico de víscera seca de salmón por su elevado contenido en grasa; su textura y consistencia oleosa no permitían que el subproducto pueda ser trabajado en seco.

Con base en estudios previos, se esperaba que la mayor parte de los AG estuviera esterificada en forma de TAG, aunque se observaron valores menores a lo esperado. Por ejemplo, en un estudio se evaluó por CCF la composición lipídica de subproductos de hoki, sole de aleta amarilla, macarela y caballa, presentándose valores de TAG de 77,38 %, 77,46 %, 87,21 % y 86,79 % respectivamente (65).

En el presente trabajo, por su parte, los valores de AGL fueron de 42,1 % en víscera de palometa, 66,5 % en hígado de salmón y 52,3 % en víscera de congrio 1. Esto es indicativo de un elevado grado de hidrólisis de los TAG originales. Dados los valores anormalmente elevados de AGL en los subproductos, se evaluó la posible influencia del tratamiento térmico de secado sobre el grado de hidrólisis mediante la elaboración del perfil lipídico de los subproductos en fresco, haciendo hincapié principalmente en las fracciones de TAG y AGL (Ver tabla 1-Resultados). En principio no se planteó realizar el perfil lipídico en fresco, puesto que el interés estaba en los subproductos secos, pero al observar un grado de hidrólisis tan elevado en seco, ese procedimiento se desarrolló también en fresco para observar si la hidrólisis era causada por la aplicación de alta temperatura.

Los resultados evidencian que los lípidos contenidos en los subproductos frescos son significativamente distintos a los procedentes de los subproductos secos, excepto para el caso del hígado de salmón. En función a lo observado, los lípidos en los subproductos frescos están más hidrolizados que en seco.

La hidrólisis ocurrida mayormente en subproductos frescos (Ver Tabla 1-Resultados) se debió a que, en primera instancia, se realizó la CCF de los lípidos extraídos de subproductos secos y luego de subproductos frescos, el cual (el fresco) se mantuvo conservado a -20 °C durante 1 mes. En ese tiempo se observó una hidrólisis lipídica, posiblemente porque esta temperatura no fue lo suficientemente baja para evitar la degradación de estos subproductos: al ser biomasa, el contenido enzimático es bastante elevado y las lipasas presentes pudieron promover la hidrólisis, incluso a baja temperatura. Las lipasas y fosfolipasas siguen activas durante el congelamiento (66). Los subproductos llegaron refrigerados al laboratorio y al momento del eviscerado no se tuvo conocimiento de cuánto tiempo permanecieron a temperatura ambiente, factores que pudieron haber influido en el grado de hidrólisis.

A continuación se solicitó un segundo lote de víscera de congrio (Ver Tabla 1-Resultados). Esta segunda recepción de vísceras de congrio fue congelada inmediatamente después del eviscerado, de esta manera mantuvo la cadena de frío hasta llegar al laboratorio, donde fue inmediatamente procesada.

Los resultados muestran que en este caso, en la víscera fresca de congrio 2, la proporción de ácidos grasos en forma de TAG es mucho más alta (83,9 %) siendo la de AGL de un 7,3 %. Tras secar la víscera, extraer los lípidos por el método de Folch y realizar su perfil lipídico por CCF, se encontró que los ácidos grasos en forma de TAG y AGL suponían un 80,2 % y un 9,9 % respectivamente del total de ácidos grasos en la fracción lipídica, observándose que estos valores no fueron distintos significativamente a los registrados en la víscera fresca de congrio 2. Eso determinó que el efecto del secado incrementa la hidrólisis de los TAG pero no de manera significativa (Ver Tabla 1-Resultados).

Los AGPI n-3 en forma de TAG son los más estables y deseables para la formulación de alimentos, a diferencia de los ácidos grasos libres, que son

fácilmente oxidados y continúan siendo inaceptables para propósitos alimenticios en términos de seguridad (57). Sin embargo, en términos nutricionales se ha observado que los AGPIN n-3 (EPA y DHA) esterificados en forma de AGL en aceite de pescado son medianamente biodisponibles (67).

## **7.6 Contenido en colesterol**

El nivel de colesterol encontrado en cada subproducto respecto de los demás fue significativamente distinto, evidenciándose mayor contenido en el hígado de salmón (2835 mg/100g), seguido de víscera de palometa (2492 mg/100g), víscera de congrio (2220 mg/100g) y finalmente víscera de salmón (636mg/100g) (Ver Figura 6-Resultados).

La mayoría de peces contiene de 20 a 40 mg de colesterol por 100 g en filete, 250 a 650 mg/100gr en las gónadas y mucho más en hígado (ejemplo hígado de bacalao: 570 mg/100gr) (20). Además, las vísceras de pescado pueden llegar a contener tres veces más colesterol que el filete (68).

El colesterol es independiente del contenido de grasa y se han visto valores similares en peces de origen salvaje y acuícola, aunque su contenido lipídico difiera enormemente (69). La víscera de congrio y víscera de palometa fueron recolectadas en verano, y un estudio indica que la temperatura del agua se incrementa en esta estación, lo que genera una elevación del contenido de colesterol (70).

La recomendación de la ingesta de colesterol en seres humanos debe ser menor a 200 mg/día (71). Sería oportuno que los altos niveles de colesterol presentados en estos subproductos, sean removidos con algún tipo de tecnología para que puedan ser utilizados con fines nutricionales. Por ejemplo, existen ingredientes de la industria alimentaria, como las beta-ciclodextrinas, que se han utilizado para eliminar eficazmente el colesterol de los productos de origen animal (72). Mediante la formación de complejos, el proceso de separación del colesterol puede lograrse recuperando simultáneamente el colesterol y las beta-ciclodextrinas. Las ciclodextrinas son derivadas de almidón, modificadas con enzimas de bajo costo y producidas industrialmente. No son tóxicas, no se absorben en el tracto



gastrointestinal superior y son completamente metabolizados por la microflora del colon (72,73).

## 8. CONCLUSIONES

### a) Referente al secado de los subproductos

- El secado de los subproductos ensayados en este trabajo condujo a un fino polvo de fácil manipulación en todos los casos excepto en víscera de salmón, que presentó una textura oleosa dado su gran contenido lipídico, dificultando así su manejo.

### b) Referente a la extracción de la fracción lipídica de los subproductos

- La acción del solvente o solventes empleados se favoreció al emplear subproductos secos, incrementándose significativamente la eficiencia de extracción de la fracción lipídica en comparación con los subproductos frescos.
- La extracción en modo Soxhlet con n-hexano fue el procedimiento de grado alimentario más efectivo de entre los ensayados con subproductos secos, mientras que la extracción con hexano:isopropanol fue en términos generales más efectiva que la extracción con hexano.
- El uso de temperatura elevada (modo Soxhlet) tuvo mayor influencia en el incremento de la eficiencia de extracción que el aumento de la polaridad del sistema extractante (hexano:isopropanol).

### c) Referente a la caracterización de la fracción lipídica de los subproductos

- Al natural (en fresco), la víscera de congrio mostró la proporción de EPA más elevada de entre todos los subproductos ensayados, mientras que en el caso de DHA, la mayor proporción se encontró en víscera de palometa. La víscera de salmón mostró los valores más bajos de EPA y DHA.
- La exposición a alta temperatura durante el secado provocó una reducción significativa de la proporción de EPA en víscera de congrio, víscera de salmón e hígado de salmón, por lo que se rechaza la hipótesis planteada. Por otro lado, en víscera de palometa la reducción no fue significativa, lo que implica que en este caso la hipótesis se aprueba. Respecto al DHA, la reducción fue significativa en víscera de congrio y víscera de salmón, por lo que se rechaza la hipótesis. Por otra parte, en víscera de palometa e

hígado de salmón no afectó significativamente, por lo que se aprueba la hipótesis. Estas reducciones son significativas en algunos casos, sin embargo no son de carácter agudo, las ventajas que otorga el secado superan los valores ligeramente menores de EPA y DHA.

- Además de ofrecer el mayor rendimiento de extracción lipídica en subproductos secos, la extracción en modo Soxhlet no modificó significativamente las proporciones de EPA y DHA en los lípidos extraídos respecto al producto seco en cada caso.
- No fue posible establecer una relación clara del efecto de la temperatura en el secado sobre el grado de hidrólisis de los lípidos contenidos en los subproductos excepto en el caso de la víscera de congrio, donde se observó un mínimo incremento del grado de hidrólisis tras el secado.
- El contenido en colesterol en la fracción lipídica de los subproductos fue alto excepto en víscera de salmón, donde este valor fue del orden de cuatro veces menor que en el resto de casos.

## 9. LIMITACIONES

- Aunque los resultados experimentales obtenidos en este trabajo son de gran interés tecnológico y/o nutricional, esta investigación se hizo a pequeña escala (piloto) y por tanto con un alcance limitado, en función del período de tiempo para el que fue programada y el presupuesto destinado a la misma.
- El efecto de hidrólisis enzimática de la fracción lipídica de los subproductos conservados a -20°C no fue previsto en esta investigación, ya que se consideró que a esa temperatura la acción de las enzimas estaría impedida. Debido a ello, no se pudo establecer una relación clara del efecto del secado sobre el grado de hidrólisis de los lípidos de los subproductos excepto en el caso del congrio, la única víscera disponible que se pudo conseguir una vez detectado el problema.

## **10. PROYECCIONES**

- Se espera que los datos obtenidos en este estudio conduzcan a una investigación más amplia, acerca de subproductos secos de otras especies y de otros subproductos (piel, cabeza, cola, espinas entre otros). A largo plazo se espera que la caracterización de estas especies y de otras obtenidas y consumidas en Chile, se desarrolle en un amplio rango, incluyendo, además de lo elaborado en este proyecto de investigación, parámetros como: evaluación de contaminantes ambientales (metales pesados, PCBs, dioxinas), análisis microbiológico, estabilidad oxidativa entre otros.
- Potencial valorización a escala industrial de los subproductos en la industria, para generar valor añadido y disminuir el problema ambiental. La valorización de subproductos es una tendencia creciente y de gran interés para la industria.

## 11. REFERENCIAS

1. Williams CM, Burdge G. Long-chain n-3 PUFA: plant vs marine sources. *Proc Nutr Soc.* 2006; 65:42-50.
2. Gil A, Gil F. Fish, a Mediterranean source of n-3 PUFA: benefits do not justify limiting consumption. *Br J Nutr.* 2015; 113:S58-S67.
3. Gomez C, Bermejo LM, Loria V. Importance of a balanced omega6/omega3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutr Hosp.* 2011; 26:323-329.
4. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Adv Nutr.* 2012; 3:1-7.
5. Deckelbaum RJ, Torrejon C. The omega-3 fatty acid nutritional landscape: health benefits and sources. *J Nutr.* 2012; 142:587S-591S.
6. Valenzuela A, Valenzuela R. Ácidos grasos omega-3 en la nutrición ¿cómo aportarlos? *Rev Chil Nutr.* 2014; 41:205-211.
7. Valenzuela A. El salmón: un banquete de salud. *Rev Chil Nutr.* 2005; 32:8-17.
8. Valenzuela A, Sanhueza J. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. *Rev Chil Nutr.* 2009; 36:246-257.
9. Valencia A. Evaluación de la aceptabilidad de dos aceites vegetales con diferentes niveles de ácido alfa-linolénico en embarazadas de la Región Metropolitana de Chile. *Rev Chil Nutr.* 2014; 41:85-89.
10. Rubio-Rodríguez N, Beltrán S, Jaime I, de Diego SM, Sanz MT, Carballido JR. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. *Innov Food Sci Emerg. Technol.* 2010; 11:1-12.
11. Morales J y colaboradores. Nuevas fuentes dietarias de ácido alfa-linolénico: una visión crítica. *Rev Chil Nutr.* 2012; 39:79-87.
12. Das U. A defect in the activity of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturases may be a factor predisposing to the development of insulin resistance syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005; 72:343-350.

13. Arvanitoyannis IS, Kassaveti A. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *Int J Food Sci Technol* 2008; 43:726-745.
14. Rai AK, Swapna HC, Bhaskar N, Halami PM, Sachindra NM. Effect of fermentation ensilaging on recovery of oil from fresh water fish viscera. *Enzyme Microb Technol*. 2010; 46:9-13.
15. Kristbergsson K, Arason S. Utilization of by-products in the fish industry. In *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry*. 2007: 233-258. Springer US.
16. Bhaskar N, Benila T, Radha C, Lalitha RG. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catle (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a comercial protease. *Bioresour Technol*. 2008; 99:335-343.
17. Elvevoll EO. Fish waste and functional foods. Norwegian College of Fishery Science. Department of Marine Biotechnology, University of Tromsø, Norway 2007.
18. Aryee A, Simpson BK. Comparative studies on the yield and quality of solvent-extraction oil from salmon skin. *J Food Eng*. 2009; 92:353-358.
19. Henna FS, Nielsen NS, Timm-Heinrich M, Jacobsen C. Oxidative stability of marine phospholipids in the liposomal form and their applications. *Lipids*. 2011; 46:3-23.
20. Zdizislaw SE. *Seafood: Resources, nutritional composition, and preservation*. CRC press. 1990.
21. Undeland I y colaboradores. Seafood and health: what is the full story. *Marine functional food*. 2009; 1:17-87.
22. Ferdosh S y colaboradores. Quality of Tuna Fish Oils Extracted from Processing the By-Products of Three Species of Neritic Tuna Using Supercritical Carbon Dioxide. *J Food Process Preserv*, 2015; 39:432-441.
23. Worawattanamateekul W. Improved utilization of fish oil as potential nutraceuticals and functional foods. 2010.

24. Kim SK, Mendis E. Bioactive compounds from marine processing byproducts—a review. *Int Food Res J.* 2006; 39:383-393.
25. Yildiz M, Şener E, Timur M. Effects of differences in diet and seasonal changes on the fatty acid composition in fillets from farmed and wild sea bream (*Sparus aurata* L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Int J Food Sci Technol*, 2008; 43:853-858.
26. Drew MD, Ogunkoya AE, Janz DM, Van Kessel AG. Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 2007; 267:260-268.
27. Sahena F y colaboradores. PUFAs in fish: extraction, fractionation, importance in health. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2009; 8:59-74.
28. Salmonicultura: Alimentos para una nutrición inteligente. [Aqua.cl](http://Aqua.cl) 02/03/2016.
29. Asociación de la industria del salmón de Chile A.G, Salmón Chile. 2006 N°1.
30. Cultivo de dorado, *Seriola lalandi*. [Mundoacuicola.cl](http://Mundoacuicola.cl). 26/06/2009.
31. FAO: Fisheries and aquaculture department. Global aquaculture production statistics database updated to 2013 Summary information. 2013.
32. Buschmann A, Cabello F, Young K, Carvajal J, Varela DA, Henríquez L. Salmon aquaculture and coastal ecosystem health in Chile: Analysis of regulations, environmental impacts and bioremediation systems. *Ocean Coast Manag.* 2009; 52:243-249.
33. Anuario Estadístico de Pesca 2014. Desembarques y acuicultura-Subsector pesquero y artesanal. Chile desembarque artesanal por especie y región. SERNAPESCA.
34. Conycit-Union Europea. The fishery and aquaculture sectors in Chile. 2007.



35. Chong J, González P. Ciclo reproductivo y talla media de madurez del congrio colorado, *Genypterus chilensis* (Guichenot, 1881) en el litoral de Talcahuano, Chile. Rev Biol Mar Oceanogr. 2009; 44:257-262.
36. Vega R. Contribución al cultivo de los peces chilenos *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) y *Genypterus chilensis* (Guichenot, 1848). Tesis doctoral Universidad de las Palmas de Gran Canaria 2013.
37. O'Neill B, Le Roux A, Hoffman LC. Comparative study of the nutritional composition of wild versus farmed yellowtail (*Seriola lalandi*). Aquaculture. 2015; 448:160-175.
38. Iquique disfrutó de las bondades de la palometa en taller de consumo responsable. Aqua.cl. 14/01/2016.
39. Couyoumdjian, J R. El mar y el paladar: el consumo de pescados y mariscos en Chile desde la independencia hasta 1930. 2009; Historia (Santiago), 42:57-107.
40. Bhale SD, Xu Z, Prinyawiwatkul W, King JM, Godber JS. Oregano and Rosemary Extracts Inhibit Oxidation of Long-Chain n-3 Fatty Acids in Menhaden Oil. J Food Sci. 2007; 72:C504-C508.
41. Abbey L, Glover-Amengor M, Atikpo MO, Atter A, Toppe J. Nutrient content of fish powder from low value fish and fish byproducts. Food Sci Nutr. 2016. In press.
42. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. 1957; 226:497-509.
43. Bäumlér E, Crapiste GH, Carelli AA. Solvent Extraction: Kinetic Study of Major and Minor Compounds. J Am Oil Chem Soc. 2010; 87:1489–1495.
44. Hara A, Radin N. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. Anal Bioch. 1978; 90:420-426.
45. Sahena F, Zaidul I, Jinap S, Yazid AM, Khatib A, Norulaini NA. Fatty acid compositions of fish oil extracted from different parts of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) using various techniques of supercritical CO<sub>2</sub> extraction. Food Chem. 2010; 120:879-885.

46. Rivera M, Ille S, Rosales MCJ. Caracterización Parasitológica del lenguado (*Cyclopsetta panamensis* y *C. querna*) en la pesca industrial de peneidos en El Salvador (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador). 2008.
47. Araneda M. Pescados y mariscos, composición y propiedades. Edualimentaria.com. 01/08/15.
48. Rodríguez M, Gallego A. Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos. 1999.
49. Cahu C, Salen P de Lorgeril M. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutr. Metab. Cardiovas.* 2004; 14:34-41.
50. Sun T, Xu Z, Prinyawiwatkul W. FA composition of the oil extracted from farmed atlantic salmon (*Salmo salar* L.) viscera. *J Am Oil Chem Soc.* 2006; 83:615-619.
51. Rodríguez C, Acosta C, Badía P, Cejas JR, Santamaría FJ, Lorenzo A. Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondyliosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2004; 139:619-629.
52. Thammapat P, Raviyan P, Siriamornpun S. Proximate and fatty acids composition of the muscles and viscera of Asian catfish (*Pangasius bocourti*). *Food Chem.* 2010; 122:223-227.
53. He S, Franco C, Zhang W. Characterisation of processing wastes of atlantic salmon (*Salmo salar*) and yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) harvested in Australia. *Int J Food Sci Technol.* 2011; 46:1898-1904.
54. Bechtel PJ. Properties of different fish processing by-products from pollock, cod and salmon. *J Food Process Preserv.* 2003; 27:101-116.
55. Mbatia B, Adlercreutz D, Adlercreutz P, Mahadhy A, Mulaa F, Mattiasson B. Enzymatic oil extraction and positional analysis of  $\omega$ -3 fatty acids in Nile perch and salmon heads. *Proc. Biochem.* 2010; 45:815-819.

56. Esteban MB, Garcia AJ, Ramos P, Marquez MC. Evaluation of fruit–vegetable and fish wastes as alternative feedstuffs in pig diets. *Waste Management*. 2007; 27:193-200.
57. Ferraro V, Cruz IB, Jorge RF, Malcata FX, Pintado ME, Castro PM. Valorisation of natural extracts from marine source focused on marine by-products: A review. *Food Res Int*. 2010; 43:2221-2233.
58. Home Food Preservation. Important Temperatures for Food Safety. 14/05/2012.
59. Soltan S, Gibson RA. Levels of Omega 3 fatty acids in Australian seafood. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008; 17:385-390.
60. Selmi S, Mbarki R, Sadok S. Seasonal Change of Lipid and Fatty Acid Composition of Little Tuna *Euthynnus Alletteratus*-By-Products. *Nutrition and health*. 2008; 19:189-194.
61. Miller MR, Nichols PD, Carter CG. n-3 Oil sources for use in aquaculture–alternatives to the unsustainable harvest of wild fish. *Nutr Res Rev*. 2008; 21:85-96.
62. Megdal PA, Craft NA, Handelman GJ. A simplified method to distinguish farmed (*Salmo salar*) from wild salmon: fatty acid ratios versus astaxanthin chiral isomers. *Lipids*. 2009; 44:569-576.
63. Cejas JR, Almansa E, Jerez S, Bolaños A, Samper M, Lorenzo A. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and wild mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. *Comp Biochem Physiol Part B*. 2004; 138:91–102.
64. Hixson SM, Parrish CC, Anderson DM. Changes in tissue lipid and fatty acid composition of farmed rainbow trout in response to dietary camelina oil as a replacement of fish oil. *Lipids*. 2014; 49:97-111.
65. Byun HG, Eom TK, Jung WK, Kim SK. Characterization of fish oil extracted from fish processing by-products. *Prev Nutr Food Sci*. 2008; 13:7-11.
66. Jacobsen C, Rustad T, Nielsen NS, Falch E, Jansson S, Storrø I. Processing of marine lipids and factors affecting their quality when used for

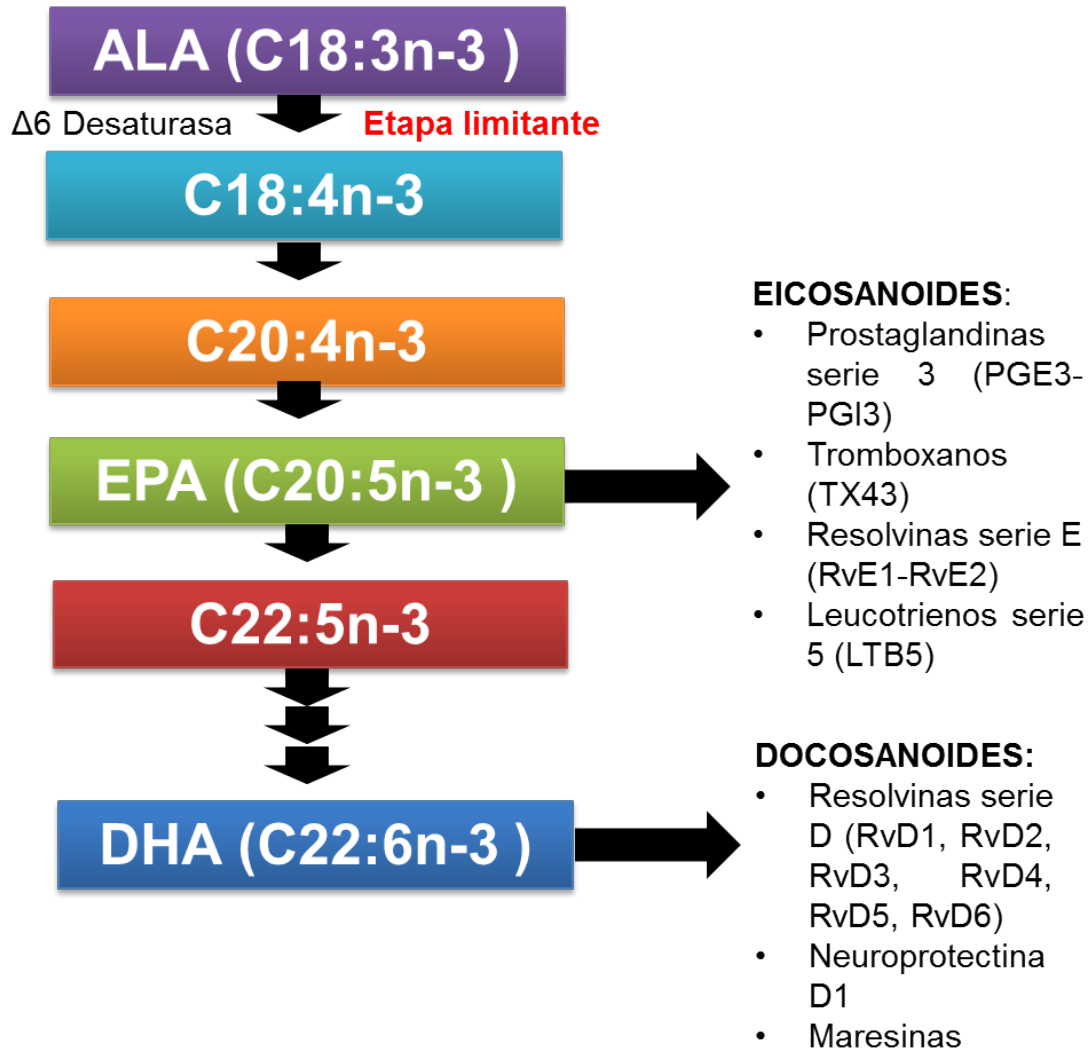
- functional foods. The Nordic Network for Marine Functional Food (MARIFUNC). 2009: 89.
67. Dyerberg J, Madsen P, Møller JM, Aardestrup I, Schmidt EB. Bioavailability of marine n-3 fatty acid formulations. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid*. 2010; 83:137-141.
  68. Kopicová Z, Vavreinová S. Occurrence of squalene and cholesterol in various species of Czech freshwater fish. *Czech J Food Sci*. 2007; 25:195-201.
  69. Piironen V, Toivo J, Lampi AM. New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *J Food Compos Anal*. 2002; 15:705-713.
  70. Souchet N, Laplante S. Seasonal and geographical variations of sterol composition in snow crab hepatopancreas and pelagic fish viscera from Eastern Quebec. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2007; 147:378-386.
  71. Regulska-Ilow B, Ilow R, Konikowska K, Kawicka A, Rozanska D, Bochinska A. Fatty acid profile of the fat in selected smoked marine fish. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 2013; 64.
  72. Astray G, González-Barreiro C, Mejuto JC, Rial-Otero R, Simal-Gándara J. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloid*. 2009; 23:1631-1640.
  73. Dias HMAM, Berbicz F, Pedrochi F, Baesso ML, Matioli G. Butter cholesterol removal using different complexation methods with beta-cyclodextrin, and the contribution of photoacoustic spectroscopy to the evaluation of the complex. *Food Res Int*. 2010; 43:1104-1110.
  74. Wu TH, Bechtel PJ. Salmon by-product storage and oil extraction. *Food Chem*. 2008; 111:868-871.
  75. Bechtel PJ, Oliveira A. Chemical characterization of liver lipid and protein from cold-water fish species. *J Food Sci*. 2006; 71.

76. Gbogouri GA, Linder M, Fanni J, Parmentier M. Analysis of extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial proteolytic enzymes. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2006; 108:766-775.
77. Sun T, Pigott GM, Herwig RP. Lipase-assisted concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids from viscera of farmed atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J Food Sci*. 2002; 67:130-136.
78. Khoddami A, Ariffin AA, Bakar J, Ghazali HM. Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). *Afr J Biotechnol*. 2012; 7:1683-1689.
79. Fiori L, Solana M, Tosi P, Manfrini M, Strim C, Guella G. Lipid profiles of oil from trout (*Oncorhynchus mykiss*) heads, spines and viscera: Trout by-products as a possible source of omega-3 lipids?. *Food Chem*. 2012; 134:1088-1095.
80. Zhong Y, Madhujith T, Mahfouz N, Shahidi F. Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. *Food Chem*. 2007; 104:602-608.
81. Létisse M, Rozières M, Hiol A, Sergent M, Corneau L. Enrichment of EPA and DHA from sardine by supercritical fluid extraction without organic modifier I. optimization of extraction conditions. *J Supercrit Fluids*. 2006; 38:27-36.
82. Crexi VT, Monte ML, Soares LA, Pinto LAA. Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. *Food Chem*. 2010; 119:945-950.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

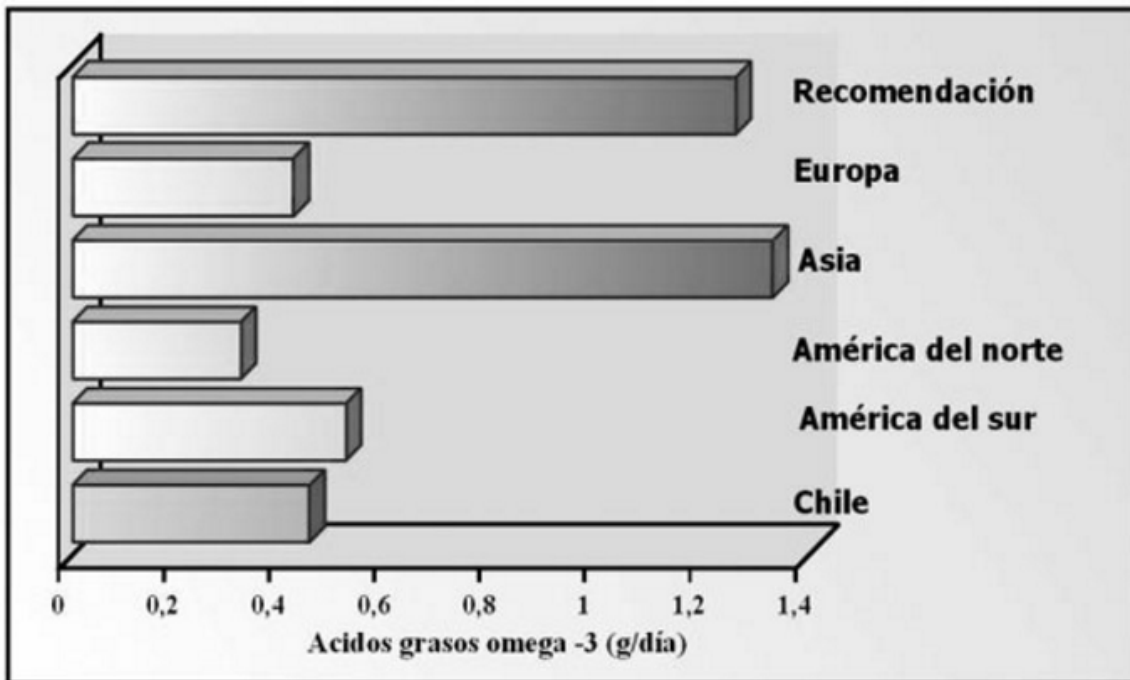
Figura 1



\*Esquema metabólico de los AGPI n-3 incluyendo eicosanoides y docosanoides derivados de EPA y DHA respectivamente.

## ANEXO 2

Figura 2



\*Consumo de AGPI n-3 en distintas regiones y en Chile, con relación a la ingesta recomendada FAO/OMS (1,2 gramos/día). (Valenzuela, 2005)



### ANEXO 3

**Tabla 1:** Rango establecido de EPA y DHA según los ensayos previos efectuados en el Laboratorio de Lípidos (% del total de EPA y DHA).

	<b>EPA</b>	<b>DHA</b>
<b>Viscera de palometa</b>	5-10 %	>20 %
<b>Viscera de congrio</b>	>10 %	5-20 %
<b>Viscera de salmón</b>	<5 %	<5 %
<b>Hígado de salmón</b>	5-10 %	5-20 %

\*Verde: alto - Amarillo: medio - Rojo: bajo

## ANEXO 4

**Tabla 2:** Porcentaje de harina de pescado administrado en las dietas de salmones durante el periodo 2000-2006.

<b>Año</b>	<b>Harina de pescado (%)</b>
2000	45
2001	40
2002	35
2003	32
2004	31
2005	30
2006	28

\*Fuente: Asociación de la Industria del salmón en Chile A.G. SalmónChile

## ANEXO 5

**Tabla 3:** Contenido en lípidos, AGPI n-3, EPA y DHA de filete y subproductos de palometa (*Seriola lalandi*), congrio dorado (*Genypterus blacodes*) y salmón (*Oncorhynchus gorbuscha* y *Salmo salar*).

Especie	Procedencia	Origen	Biomasa	Lípidos totales (% de biomasa)	AGPI n-3 TOTALES	EPA	DHA	Referencias
<i>Palometa (Seriola lalandi)</i>	Sudáfrica	Acuicultura	Filete	Cultivo: 3,72%	Cultivo: 10,76 mg/g de biomasa	Cultivo: 4,71 mg/g de biomasa	Cultivo: 4,87 mg/g de biomasa	O'Neil B, y cols (2015)
<i>Palometa (Seriola lalandi)</i>	Sudáfrica	Salvaje	Filete	Salvaje: 4,29%	Salvaje: 13,23 mg/g de biomasa	Salvaje: 2,65 mg/g de biomasa	Salvaje: 9,46 mg/g de biomasa	O'Neil B, y cols (2015)
<i>Palometa (Seriola lalandi)</i>	Australia	Acuicultura	Viscera	23,75%	11,40% del total de ácidos grasos	4,60% del total de ácidos grasos	3,60% del total de ácidos grasos	He S, y cols (2011)
<i>Congrio dorado (Genypterus blacodes)</i>	Australia	Salvaje	Filete	0,50%	46,30% del total de lípidos	4,70% del total de lípidos	39,90% del total de lípidos	Soltan S, y cols (2008)
<i>Salmón rosado (Oncorhynchus gorbuscha)</i>	EEU	Acuicultura	Subproductos	-	-	10,6g/100g aceite crudo	12,9g/100g aceite crudo	Wu T, y cols (2008)
<i>Salmón rosado (Oncorhynchus gorbuscha)</i>	EEUU	Salvaje	Hígado	3,30%	336,42 mg/g aceite	102,25 mg/g aceite	178,90 mg/g aceite	Bechtel P, y cols (2006)
<i>Salmón del atlántico (salmo salar)</i>	EEUU	Acuicultura	Viscera	-	-	7,91 % (68,2 mg/g aceite)	6,99 % (61,20 mg/g aceite)	Sun T, y cols (2006)
<i>Salmón del atlántico (salmo salar)</i>	Australia	Acuicultura	Viscera	27,19%	19,2% del total de ácidos grasos	5,8% del total de ácidos grasos	7,3% del total de ácidos grasos	He S, y cols (2011)

## ANEXO 6

**Tabla 4:** AGPI n-3, EPA y DHA en subproductos de algunas especies de pescados.

Especie	Biomasa	AGPI n-3	EPA	DHA	Referencia
Salmón ( <i>Salmo salar</i> )	Cabeza	27,7% del total de ácidos grasos	8,4% del total de ácidos grasos	12,1% del total de ácidos grasos	Gbogouri y cols, 2006
Salmón ( <i>Salmo salar</i> )	Viscera	-	73,2 mg/g de aceite	56,6 mg/g de aceite	Sun y cols, 2002
Atún ( <i>Euthynnus affinis</i> )	Cabeza	17,8 g/100g de aceite	1,43 g/100g de aceite	15,70 g/100g de aceite	Khoddami y cols, 2012
Atún ( <i>Euthynnus affinis</i> )	Hígado	15,88 g/100g de aceite	1,70 g/100g de aceite	14,18 g/100g de aceite	Khoddami y cols, 2012
Atún ( <i>Euthynnus affinis</i> )	Intestino	17,02 g/100g de aceite	2,71 g/100g de aceite	14,31 g/100g de aceite	Khoddami y cols, 2012
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Cabeza	20,6% del total de ácidos grasos	7,89% del total de ácidos grasos	6,26% del total de ácidos grasos	Fiori y cols, 2012
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Espinas	22,2% del total de ácidos grasos	8,75% del total de ácidos grasos	7,30% del total de ácidos grasos	Fiori y cols, 2012
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Viscera	18,0% del total de ácidos grasos	6,37% del total de ácidos grasos	6,02% del total de ácidos grasos	Fiori y cols, 2012
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Viscera	-	3,35% del total de ácidos grasos	7,98% del total de ácidos grasos	Zhong y cols, 2007
Macarela ( <i>Scomber scombrus</i> )	Cabeza	35,44% del total de ácidos grasos	10,34% del total de ácidos grasos	10,82% del total de ácidos grasos	Sahena y cols, 2010
Macarela ( <i>Scomber scombrus</i> )	Viscera	32,56% del total de ácidos grasos	9,23% del total de ácidos grasos	9,96% del total de ácidos grasos	Sahena y cols, 2010
Sardina ( <i>Sardina pilchardus</i> )	Cabeza	-	10,95% del total de ácidos grasos	13,01% del total de ácidos grasos	Létisse y cols, 2006
Carpa ( <i>Cyprinus carpio</i> )	Viscera	-	3,82% del total de ácidos grasos	1,20% del total de ácidos grasos	Crexi y cols, 2010
Pez gato ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> )	Viscera	1,63% del total de ácidos grasos	0,28% del total de ácidos grasos	0,87% del total de ácidos grasos	Thammapat y cols, 2010

## ANEXO 7

**Tabla 5:** Distribución de triglicéridos y fosfolípidos en filete y en subproductos de ciertas especies marinas (% de lípidos totales).

Especie	Biomasa	Triglicéridos	Fosfolípidos	Referencia
Calamar ( <i>Loligo vulgaris</i> )	Viscera	95,5 %	3,8 %	Henna y cols, 2011
Atún ( <i>Euthynnus affinis</i> )	Orbital	99,3 %	0,2 %	Henna y cols, 2011
Atún ( <i>Euthynnus affinis</i> )	Aceite crudo	99,6 %	-	Henna y cols, 2011
Bonito ( <i>Sarda sarda</i> )	Filete	99,6 %	-	Henna y cols, 2011
Sardina ( <i>Sardina pilchardus</i> )	Aceite crudo	99,8 %	-	Henna y cols, 2011
Salmón ( <i>Salmo salar</i> )	Gónadas	71,8 %	23,1 %	Henna y cols, 2011
Arenque ( <i>Clupea harengus</i> )	Gónadas	9,3 %	73,6 %	Henna y cols, 2011
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Filete	51,8 %	32,9 %	Zhong y cols, 2007
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Viscera	74,1 %	13,7 %	Zhong y cols, 2007

## ANEXO 8

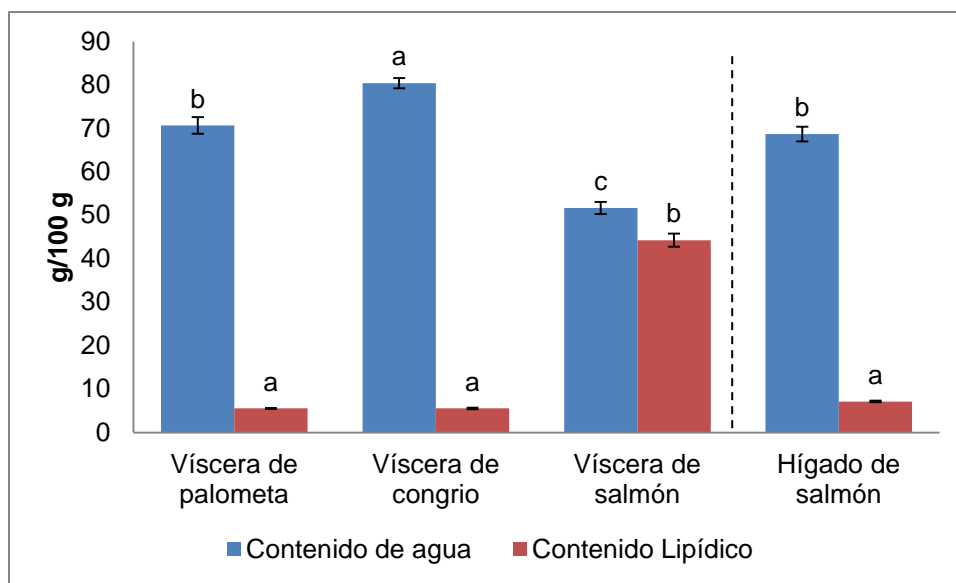
**Tabla 6:** Contenido en agua (g agua/100 g biomasa fresca) y rendimiento de extracción de la fracción lipídica de subproductos frescos y secos de palometa (*Seriola lalandi*), congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y salmón (*Salmo salar*) obtenidos con distintos métodos de extracción (g lípidos/100 g subproducto).

	Contenido en agua (g/100g biomasa fresca)	Contenido Lipídico						
		Folch		Hexano:isopropanol		Hexano		Soxhlet
		FRESCO	SECO	FRESCO	SECO	FRESCO	SECO	SECO
Víscera de palometa	70,7 ± 1,9	5,6 ± 0,1	19,1 ± 0,2	5,7 ± 0,3	15,5 ± 0,4	1,5 ± 0,3	11,9 ± 0,4	16,7 ± 0,1
Víscera de congrio	80,4 ± 1,2	5,6 ± 0,2	27,7 ± 0,2	4,2 ± 0,8	14,6 ± 0,7	1,6 ± 0,1	14,6 ± 0,8	27,5 ± 0,4
Víscera de salmón	51,7 ± 1,4	44,3 ± 1,5	65,0 ± 0,8	27,3 ± 1,2	59,6 ± 2,0	31,4 ± 0,9	51,8 ± 1,3	65,0 ± 1,0
Hígado de salmón	68,7 ± 1,7	7,2 ± 0,2	22,4 ± 0,4	6,6 ± 0,4	18,8 ± 0,9	3,1 ± 0,1	12,4 ± 0,2	20,6 ± 0,2

\*Los valores corresponden a media ± DE (por triplicado)

## ANEXO 9

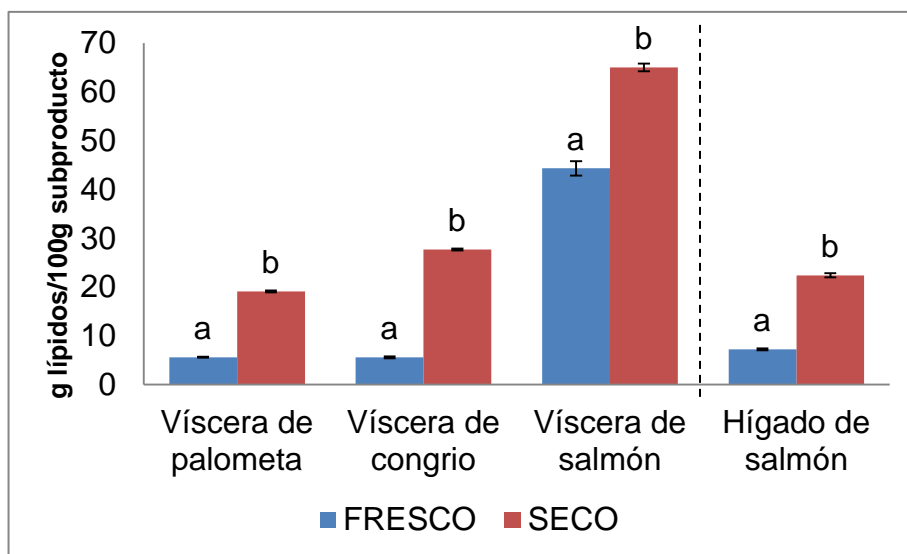
**Figura 3:** Contenido en agua (g agua/100 g biomasa fresca) y lípidos (g lípidos/100 g subproducto) de palometa, congrio colorado y salmón.



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. ANOVA, dentro de contenido de agua y contenido lipídico, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

## ANEXO 10

**Figura 4:** Comparación del rendimiento de extracción de la fracción lipídica en subproductos frescos y secos obtenidos con el método de Folch.



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE. Dentro de cada subproducto de pescado, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas prueba t de Student.



## ANEXO 11

**Tabla 7:** Perfil de ácidos grasos en vísceras de palometa (*Seriola lalandi*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos.

Ácido graso	Fresco				Seco				
	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Soxhlet
14:0	2,39 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,40 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,76 ± 0,02 <sup>ab</sup>	3,06 ± 0,16 <sup>b</sup>	2,67 ± 0,01 <sup>ab</sup>	3,21 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,25 ± 0,45 <sup>b</sup>	3,12 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,87 ± 0,09 <sup>ab</sup>
16:0	18,31 ± 0,06 <sup>a</sup>	18,88 ± 0,35 <sup>ab</sup>	20,07 ± 0,05 <sup>abcd</sup>	20,11 ± 0,91 <sup>bcd</sup>	19,81 ± 0,25 <sup>abc</sup>	21,76 ± 0,13 <sup>de</sup>	22,58 ± 0,74 <sup>e</sup>	22,42 ± 0,08 <sup>e</sup>	20,98 ± 0,52 <sup>cde</sup>
18:0	8,56 ± 0,22 <sup>a</sup>	8,54 ± 0,08 <sup>a</sup>	8,96 ± 0,07 <sup>ab</sup>	8,28 ± 0,34 <sup>a</sup>	9,08 ± 0,21 <sup>ab</sup>	10,79 ± 0,04 <sup>c</sup>	9,59 ± 0,50 <sup>bd</sup>	10,39 ± 0,03 <sup>cd</sup>	9,14 ± 0,11 <sup>ab</sup>
<b>Total AGS</b>	<b>29,26 ± 0,23<sup>a</sup></b>	<b>29,82 ± 0,36<sup>ac</sup></b>	<b>31,79 ± 0,09<sup>ac</sup></b>	<b>31,45 ± 0,98<sup>ac</sup></b>	<b>31,56 ± 0,33<sup>ac</sup></b>	<b>35,76 ± 0,14<sup>bc</sup></b>	<b>35,42 ± 1,00<sup>b</sup></b>	<b>36,09 ± 0,09<sup>b</sup></b>	<b>32,99 ± 0,54<sup>bc</sup></b>
16:1n7	3,58 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,38 ± 0,09 <sup>a</sup>	3,97 ± 0,06 <sup>ab</sup>	4,32 ± 0,30 <sup>bc</sup>	3,85 ± 0,07 <sup>ab</sup>	4,42 ± 0,01 <sup>bc</sup>	4,43 ± 0,36 <sup>bc</sup>	4,69 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,99 ± 0,15 <sup>ab</sup>
18:1n9	18,35 ± 0,11 <sup>ab</sup>	19,94 ± 0,67 <sup>bcd</sup>	18,74 ± 0,23 <sup>ab</sup>	17,75 ± 0,85 <sup>a</sup>	18,21 ± 0,10 <sup>a</sup>	19,29 ± 0,23 <sup>abc</sup>	20,44 ± 0,26 <sup>cd</sup>	21,57 ± 0,06 <sup>d</sup>	19,37 ± 0,46 <sup>abc</sup>
18:1n7	3,23 ± 0,01 <sup>abc</sup>	3,24 ± 0,07 <sup>abc</sup>	3,04 ± 0,01 <sup>ab</sup>	3,03 ± 0,23 <sup>a</sup>	2,98 ± 0,11 <sup>a</sup>	3,46 ± 0,01 <sup>bc</sup>	3,33 ± 0,15 <sup>abc</sup>	3,57 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,40 ± 0,12 <sup>abc</sup>
20:1n9	0,88 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,97 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,92 ± 0,08 <sup>ac</sup>	0,94 ± 0,02 <sup>abc</sup>	1,04 ± 0,01 <sup>abc</sup>	1,04 ± 0,08 <sup>abc</sup>	1,10 ± 0,01 <sup>bc</sup>	1,01 ± 0,04 <sup>abc</sup>
<b>Total AGMI</b>	<b>26,04 ± 0,17<sup>a</sup></b>	<b>27,68 ± 0,68<sup>ac</sup></b>	<b>26,72 ± 0,24<sup>ac</sup></b>	<b>26,02 ± 0,93<sup>a</sup></b>	<b>25,98 ± 0,17<sup>a</sup></b>	<b>28,21 ± 0,23<sup>abc</sup></b>	<b>29,24 ± 0,48<sup>bc</sup></b>	<b>30,93 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>27,77 ± 0,50<sup>ac</sup></b>
18:2n6	1,24 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,16 <sup>b</sup>	1,21 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,21 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,02 <sup>a</sup>
20:4n6	2,67 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,40 ± 0,08 <sup>ab</sup>	2,37 ± 0,04 <sup>abc</sup>	2,36 ± 0,15 <sup>abc</sup>	2,36 ± 0,08 <sup>abc</sup>	1,95 ± 0,03 <sup>cd</sup>	2,01 ± 0,23 <sup>bcd</sup>	1,91 ± 0,01 <sup>d</sup>	2,32 ± 0,07 <sup>abcd</sup>
18:3n3	0,61 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,01 <sup>a</sup>
20:4n3	0,52 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,61 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,02 <sup>a</sup>
20:5n3 (EPA)	6,93 ± 0,18 <sup>a</sup>	5,90 ± 0,08 <sup>ab</sup>	5,89 ± 0,01 <sup>ab</sup>	6,03 ± 0,69 <sup>ab</sup>	5,77 ± 0,20 <sup>ab</sup>	5,26 ± 0,06 <sup>b</sup>	5,30 ± 0,66 <sup>b</sup>	5,45 ± 0,08 <sup>b</sup>	6,01 ± 0,15 <sup>ab</sup>
22:5n3	3,05 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,02 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,72 ± 0,04 <sup>ab</sup>	2,68 ± 0,01 <sup>ab</sup>	2,71 ± 0,08 <sup>ab</sup>	2,01 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,35 ± 0,30 <sup>bc</sup>	2,11 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,82 ± 0,01 <sup>a</sup>
22:6n3 (DHA)	24,93 ± 0,19 <sup>a</sup>	21,90 ± 0,96 <sup>bcd</sup>	23,03 ± 0,60 <sup>ab</sup>	22,50 ± 0,95 <sup>abc</sup>	22,96 ± 0,25 <sup>ab</sup>	19,52 ± 0,31 <sup>de</sup>	19,96 ± 1,03 <sup>cde</sup>	18,88 ± 0,13 <sup>e</sup>	21,02 ± 0,73 <sup>bcde</sup>
<b>Total AGPI</b>	<b>39,95 ± 0,36<sup>a</sup></b>	<b>36,44 ± 0,98<sup>ab</sup></b>	<b>36,33 ± 0,60<sup>ab</sup></b>	<b>36,12 ± 1,19<sup>ab</sup></b>	<b>36,07 ± 0,34<sup>ab</sup></b>	<b>30,89 ± 0,34<sup>c</sup></b>	<b>32,33 ± 1,34<sup>bc</sup></b>	<b>30,58 ± 0,15<sup>c</sup></b>	<b>34,47 ± 0,75<sup>bc</sup></b>
<b>Total AGPI n-6</b>	<b>3,91 ± 0,13<sup>ab</sup></b>	<b>4,25 ± 0,18<sup>a</sup></b>	<b>3,58 ± 0,06<sup>ab</sup></b>	<b>3,66 ± 0,15<sup>ab</sup></b>	<b>3,53 ± 0,08<sup>ab</sup></b>	<b>3,16 ± 0,09<sup>b</sup></b>	<b>3,38 ± 0,31<sup>ab</sup></b>	<b>3,15 ± 0,01<sup>b</sup></b>	<b>3,52 ± 0,07<sup>ab</sup></b>
<b>Total AGPI n-3</b>	<b>36,04 ± 0,34<sup>a</sup></b>	<b>32,19 ± 0,96<sup>abc</sup></b>	<b>32,75 ± 0,60<sup>ab</sup></b>	<b>32,46 ± 1,18<sup>ab</sup></b>	<b>32,54 ± 0,33<sup>ab</sup></b>	<b>27,73 ± 0,33<sup>bc</sup></b>	<b>28,95 ± 1,31<sup>bc</sup></b>	<b>27,43 ± 0,15<sup>c</sup></b>	<b>30,95 ± 0,75<sup>bc</sup></b>
Otros	4,81 ± 0,01 <sup>ab</sup>	6,11 ± 0,37 <sup>b</sup>	5,21 ± 1,05 <sup>b</sup>	6,44 ± 0,05 <sup>b</sup>	6,44 ± 0,53 <sup>b</sup>	5,18 ± 0,19 <sup>b</sup>	3,05 ± 0,87 <sup>ac</sup>	2,60 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,83 ± 0,46 <sup>ab</sup>

\*Los valores corresponden a media ± DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada AG, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey, p <0,05).

## ANEXO 12

**Tabla 8:** Perfil de ácidos grasos en vísceras de congrio (*Genypterus chilensis*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos.

Ácido graso	Fresco				Seco				
	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Soxhlet
14:0	3,19 ± 0,13 <sup>a</sup>	4,38 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,37 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,38 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,44 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,43 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,45 ± 0,09 <sup>b</sup>	4,49 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,46 ± 0,02 <sup>b</sup>
16:0	17,05 ± 0,04 <sup>a</sup>	19,36 ± 0,15 <sup>b</sup>	19,19 ± 0,02 <sup>b</sup>	17,67 ± 0,12 <sup>a</sup>	19,23 ± 0,13 <sup>b</sup>	19,56 ± 0,23 <sup>b</sup>	19,44 ± 0,42 <sup>b</sup>	19,42 ± 0,25 <sup>b</sup>	18,94 ± 0,11 <sup>b</sup>
18:0	5,61 ± 0,65 <sup>abc</sup>	5,78 ± 0,05 <sup>abc</sup>	5,61 ± 0,11 <sup>abc</sup>	4,80 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,22 ± 0,03 <sup>c</sup>	5,68 ± 0,07 <sup>abc</sup>	5,56 ± 0,11 <sup>abc</sup>	5,54 ± 0,12 <sup>abc</sup>	5,27 ± 0,05 <sup>ab</sup>
<b>Total AGS</b>	<b>25,85 ± 0,66<sup>a</sup></b>	<b>29,52 ± 0,16<sup>b</sup></b>	<b>29,17 ± 0,11<sup>b</sup></b>	<b>26,85 ± 0,12<sup>ac</sup></b>	<b>28,89 ± 0,14<sup>b</sup></b>	<b>29,67 ± 0,24<sup>b</sup></b>	<b>29,45 ± 0,44<sup>b</sup></b>	<b>29,45 ± 0,28<sup>b</sup></b>	<b>28,67 ± 0,12<sup>bc</sup></b>
16:1n7	9,86 ± 0,37 <sup>ab</sup>	9,60 ± 0,16 <sup>a</sup>	9,67 ± 0,02 <sup>a</sup>	10,26 ± 0,11 <sup>b</sup>	9,95 ± 0,04 <sup>ab</sup>	9,90 ± 0,06 <sup>ab</sup>	9,78 ± 0,06 <sup>ab</sup>	9,99 ± 0,05 <sup>ab</sup>	9,85 ± 0,04 <sup>ab</sup>
18:1n9	16,47 ± 0,16 <sup>a</sup>	16,84 ± 0,39 <sup>ab</sup>	17,08 ± 0,06 <sup>abc</sup>	17,11 ± 0,16 <sup>abc</sup>	17,46 ± 0,10 <sup>bc</sup>	17,46 ± 0,32 <sup>bc</sup>	17,43 ± 0,28 <sup>bc</sup>	17,82 ± 0,17 <sup>c</sup>	16,97 ± 0,04 <sup>abc</sup>
18:1n7	5,24 ± 0,16 <sup>a</sup>	6,81 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,82 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,71 ± 0,11 <sup>b</sup>	7,02 ± 0,05 <sup>b</sup>	6,97 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,92 ± 0,06 <sup>b</sup>	7,03 ± 0,11 <sup>b</sup>	6,95 ± 0,02 <sup>b</sup>
20:1n9	0,66 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,08 <sup>ab</sup>	1,19 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,07 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,59 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,17 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,18 ± 0,00 <sup>ab</sup>	1,22 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,56 ± 0,52 <sup>b</sup>
<b>Total AGMI</b>	<b>32,23 ± 0,45<sup>a</sup></b>	<b>34,39 ± 0,43<sup>b</sup></b>	<b>34,76 ± 0,07<sup>b</sup></b>	<b>35,15 ± 0,22<sup>b</sup></b>	<b>36,02 ± 0,13<sup>b</sup></b>	<b>35,5 ± 0,33<sup>b</sup></b>	<b>35,31 ± 0,29<sup>b</sup></b>	<b>36,06 ± 0,21<sup>b</sup></b>	<b>35,33 ± 0,52<sup>b</sup></b>
18:2n6	1,20 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,05 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,15 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,22 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,01 <sup>a</sup>
20:4n6	4,28 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,85 ± 0,04 <sup>bc</sup>	2,86 ± 0,05 <sup>bc</sup>	2,93 ± 0,02 <sup>bc</sup>	2,96 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,66 ± 0,07 <sup>d</sup>	2,78 ± 0,03 <sup>cd</sup>	2,64 ± 0,05 <sup>d</sup>	2,66 ± 0,04 <sup>d</sup>
18:3n3	0,27 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>
20:4n3	0,40 ± 0,06 <sup>ab</sup>	0,43 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,49 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,00 <sup>ab</sup>	0,49 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,04 <sup>ab</sup>
20:5n3 (EPA)	13,31 ± 0,70 <sup>a</sup>	11,30 ± 0,06 <sup>b</sup>	11,48 ± 0,16 <sup>b</sup>	12,05 ± 0,44 <sup>ab</sup>	11,09 ± 0,06 <sup>b</sup>	11,20 ± 0,34 <sup>b</sup>	11,25 ± 0,45 <sup>b</sup>	11,06 ± 0,38 <sup>b</sup>	11,35 ± 0,06 <sup>b</sup>
22:5n3	4,11 ± 0,01 <sup>ab</sup>	4,43 ± 0,02 <sup>bc</sup>	4,50 ± 0,03 <sup>bc</sup>	4,52 ± 0,16 <sup>c</sup>	4,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,34 ± 0,16 <sup>abc</sup>	4,41 ± 0,15 <sup>bc</sup>	4,38 ± 0,12 <sup>abc</sup>	4,46 ± 0,01 <sup>bc</sup>
22:6n3 (DHA)	15,32 ± 0,28 <sup>a</sup>	13,00 ± 0,05 <sup>bc</sup>	13,30 ± 0,09 <sup>bc</sup>	13,71 ± 0,10 <sup>b</sup>	12,97 ± 0,11 <sup>bc</sup>	12,56 ± 0,38 <sup>c</sup>	12,82 ± 0,51 <sup>bc</sup>	12,40 ± 0,35 <sup>c</sup>	12,91 ± 0,11 <sup>bc</sup>
<b>Total AGPI</b>	<b>38,89 ± 0,76<sup>a</sup></b>	<b>33,41 ± 0,1<sup>b</sup></b>	<b>34,05 ± 0,20<sup>b</sup></b>	<b>35,15 ± 0,48<sup>b</sup></b>	<b>32,78 ± 0,13<sup>b</sup></b>	<b>32,78 ± 0,55<sup>b</sup></b>	<b>33,26 ± 0,70<sup>b</sup></b>	<b>32,54 ± 0,54<sup>b</sup></b>	<b>33,26 ± 0,14<sup>b</sup></b>
<b>Total AGPI n-6</b>	<b>5,48 ± 0,05<sup>a</sup></b>	<b>3,9 ± 0,05<sup>b</sup></b>	<b>3,95 ± 0,05<sup>b</sup></b>	<b>4 ± 0,02<sup>b</sup></b>	<b>4,01 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>3,81 ± 0,13<sup>b</sup></b>	<b>3,93 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>3,86 ± 0,07<sup>b</sup></b>	<b>3,7 ± 0,04<sup>b</sup></b>
<b>Total AGPI n-3</b>	<b>33,41 ± 0,76<sup>a</sup></b>	<b>29,51 ± 0,09<sup>b</sup></b>	<b>30,1 ± 0,19<sup>b</sup></b>	<b>31,15 ± 0,48<sup>ab</sup></b>	<b>28,77 ± 0,13<sup>b</sup></b>	<b>28,97 ± 0,54<sup>b</sup></b>	<b>29,33 ± 0,70<sup>b</sup></b>	<b>28,68 ± 0,54<sup>b</sup></b>	<b>29,56 ± 0,13<sup>b</sup></b>
Otros	3,07 ± 0,52 <sup>a</sup>	2,71 ± 0,83 <sup>a</sup>	2,05 ± 0,28 <sup>a</sup>	2,90 ± 0,42 <sup>a</sup>	2,34 ± 0,47 <sup>a</sup>	2,09 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,02 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,00 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,64 <sup>a</sup>

\*Los valores corresponden a media ± DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada AG, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey, p <0,05).

## ANEXO 13

**Tabla 9:** Perfil de ácidos grasos en vísceras de salmón (*Salmo salar*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos.

Ácido graso	Fresco				Seco				
	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Soxhlet
14:0	1,87 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,95 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,01 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,01 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,02 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,01 ± 0,01 <sup>b</sup>
16:0	10,52 ± 0,44 <sup>ab</sup>	10,27 ± 0,05 <sup>a</sup>	11,05 ± 0,08 <sup>bc</sup>	10,89 ± 0,03 <sup>abc</sup>	11,21 ± 0,00 <sup>c</sup>	11,12 ± 0,03 <sup>bc</sup>	11,22 ± 0,23 <sup>c</sup>	11,06 ± 0,01 <sup>bc</sup>	11,14 ± 0,07 <sup>bc</sup>
18:0	3,01 ± 0,21 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,92 ± 0,05 <sup>c</sup>	3,86 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,04 ± 0,03 <sup>c</sup>	3,97 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,96 ± 0,04 <sup>c</sup>	3,96 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,97 ± 0,03 <sup>c</sup>
<b>Total AGS</b>	<b>15,4 ± 0,49<sup>a</sup></b>	<b>15,73 ± 0,05<sup>ab</sup></b>	<b>16,98 ± 0,09<sup>bc</sup></b>	<b>16,75 ± 0,04<sup>bc</sup></b>	<b>17,26 ± 0,03<sup>c</sup></b>	<b>17,09 ± 0,04<sup>c</sup></b>	<b>17,2 ± 0,24<sup>c</sup></b>	<b>17,01 ± 0,02<sup>c</sup></b>	<b>17,12 ± 0,08<sup>c</sup></b>
16:1n7	2,59 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,58 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,54 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,54 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,54 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,55 ± 0,02 <sup>a</sup>
18:1n9	39,46 ± 0,38 <sup>a</sup>	41,06 ± 0,06 <sup>b</sup>	40,83 ± 0,04 <sup>b</sup>	40,55 ± 0,14 <sup>ab</sup>	41,09 ± 0,28 <sup>b</sup>	40,47 ± 0,06 <sup>ab</sup>	40,83 ± 0,76 <sup>b</sup>	40,54 ± 0,07 <sup>ab</sup>	40,74 ± 0,06 <sup>b</sup>
18:1n7	2,71 ± 0,06 <sup>a</sup>	3,16 ± 0,00 <sup>b</sup>	3,17 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,13 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,23 ± 0,10 <sup>b</sup>	3,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,16 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,15 ± 0,02 <sup>b</sup>
20:1n9	2,00 ± 0,18 <sup>a</sup>	2,44 ± 0,18 <sup>b</sup>	2,17 ± 0,01 <sup>ab</sup>	2,32 ± 0,01 <sup>ab</sup>	2,37 ± 0,04 <sup>ab</sup>	2,23 ± 0,12 <sup>ab</sup>	2,24 ± 0,10 <sup>ab</sup>	2,33 ± 0,01 <sup>ab</sup>	2,25 ± 0,10 <sup>ab</sup>
<b>Total AGMI</b>	<b>46,76 ± 0,43<sup>a</sup></b>	<b>49,24 ± 0,19<sup>b</sup></b>	<b>48,73 ± 0,05<sup>ab</sup></b>	<b>48,56 ± 0,14<sup>ab</sup></b>	<b>49,25 ± 0,3<sup>b</sup></b>	<b>48,37 ± 0,13<sup>ab</sup></b>	<b>48,77 ± 0,77<sup>ab</sup></b>	<b>48,54 ± 0,07<sup>ab</sup></b>	<b>48,69 ± 0,12<sup>ab</sup></b>
18:2n6	19,11 ± 0,11 <sup>a</sup>	17,10 ± 0,06 <sup>b</sup>	17,12 ± 0,04 <sup>bc</sup>	17,04 ± 0,04 <sup>b</sup>	17,47 ± 0,04 <sup>c</sup>	16,89 ± 0,01 <sup>b</sup>	16,97 ± 0,21 <sup>b</sup>	16,90 ± 0,06 <sup>b</sup>	16,93 ± 0,06 <sup>b</sup>
20:4n6	0,54 ± 0,30 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,37 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,38 ± 0,03 <sup>a</sup>
18:3n3	6,03 ± 0,07 <sup>a</sup>	5,10 ± 0,03 <sup>b</sup>	5,03 ± 0,01 <sup>bc</sup>	4,97 ± 0,01 <sup>bc</sup>	4,91 ± 0,02 <sup>c</sup>	4,93 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,94 ± 0,04 <sup>c</sup>	4,93 ± 0,02 <sup>c</sup>	4,92 ± 0,03 <sup>c</sup>
20:4n3	0,99 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,60 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,63 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,63 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,62 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,62 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,63 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,60 ± 0,04 <sup>c</sup>
20:5n3 (EPA)	3,49 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,87 ± 0,03 <sup>c</sup>	2,82 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,81 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,83 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,82 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,83 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,78 ± 0,04 <sup>c</sup>
22:5n3	1,60 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,22 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,23 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,24 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,23 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,23 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,21 ± 0,00 <sup>b</sup>
22:6n3 (DHA)	4,41 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,05 <sup>b</sup>	3,96 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,87 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,91 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,90 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,15 <sup>b</sup>	3,82 ± 0,06 <sup>b</sup>
<b>Total AGPI</b>	<b>36,17 ± 0,35<sup>a</sup></b>	<b>31,55 ± 0,10<sup>b</sup></b>	<b>31,22 ± 0,08<sup>b</sup></b>	<b>30,94 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>31,33 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>30,87 ± 0,05<sup>b</sup></b>	<b>30,86 ± 0,23<sup>b</sup></b>	<b>30,89 ± 0,16<sup>b</sup></b>	<b>30,64 ± 0,11<sup>b</sup></b>
<b>Total AGPI n-6</b>	<b>19,65 ± 0,32<sup>a</sup></b>	<b>17,45 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>17,53 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>17,41 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>17,84 ± 0,04<sup>b</sup></b>	<b>17,32 ± 0,01<sup>b</sup></b>	<b>17,38 ± 0,21<sup>b</sup></b>	<b>17,32 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>17,31 ± 0,07<sup>b</sup></b>
<b>Total AGPI n-3</b>	<b>16,52 ± 0,13<sup>a</sup></b>	<b>14,1 ± 0,07<sup>b</sup></b>	<b>13,69 ± 0,04<sup>bc</sup></b>	<b>13,53 ± 0,04<sup>c</sup></b>	<b>13,49 ± 0,05<sup>c</sup></b>	<b>13,55 ± 0,05<sup>bc</sup></b>	<b>13,48 ± 0,10<sup>c</sup></b>	<b>13,57 ± 0,15<sup>bc</sup></b>	<b>13,33 ± 0,09<sup>bc</sup></b>
Otros	1,71 ± 0,21 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,02 <sup>bc</sup>	3,12 ± 0,04 <sup>abc</sup>	3,79 ± 0,11 <sup>c</sup>	2,17 ± 0,19 <sup>ab</sup>	3,71 ± 0,05 <sup>c</sup>	3,20 ± 1,09 <sup>abc</sup>	3,61 ± 0,08 <sup>bc</sup>	3,58 ± 0,18 <sup>bc</sup>

\*Los valores corresponden a media ± DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada AG, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey, p <0,05).

## ANEXO 14

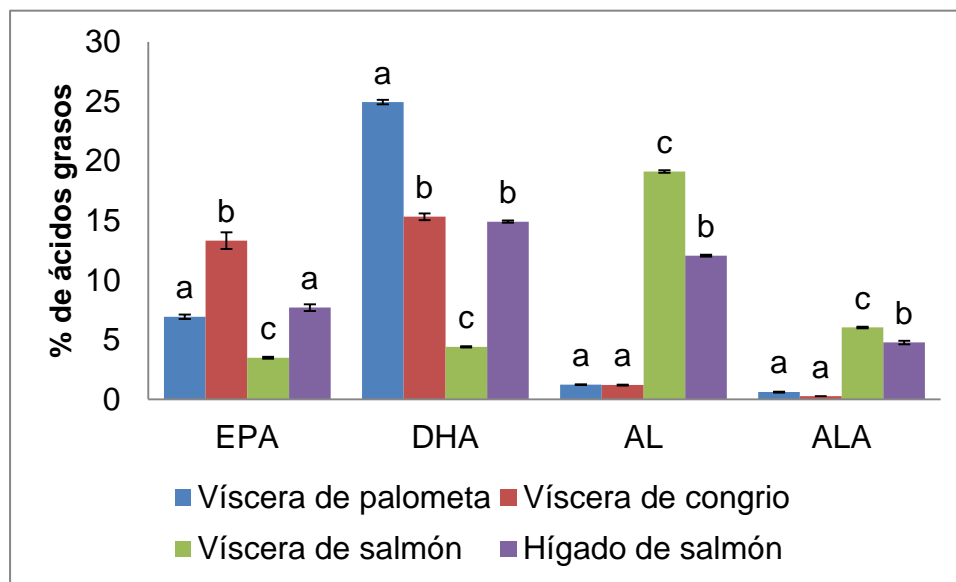
**Tabla 10:** Perfil de ácidos grasos en hígado de salmón (*Salmo salar*) y sus fracciones lipídicas, tanto en fresco como en seco expresado en porcentaje sobre el total de ácidos grasos.

Ácido graso	Fresco				Seco				
	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Directa	Folch	Hexano:isopropanol	Hexano	Soxhlet
<b>14:0</b>	1,16 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,98 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,07 ± 0,23 <sup>ab</sup>	1,15 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,30 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,22 ± 0,02 <sup>ab</sup>
<b>16:0</b>	12,49 ± 0,10 <sup>a</sup>	12,49 ± 0,23 <sup>a</sup>	12,16 ± 0,07 <sup>ab</sup>	11,54 ± 0,08 <sup>bc</sup>	13,30 ± 0,35 <sup>d</sup>	12,56 ± 0,04 <sup>ae</sup>	13,19 ± 0,09 <sup>de</sup>	11,39 ± 0,10 <sup>c</sup>	11,72 ± 0,06 <sup>bc</sup>
<b>18:0</b>	4,87 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,76 ± 0,10 <sup>b</sup>	5,58 ± 0,01 <sup>bde</sup>	4,55 ± 0,06 <sup>c</sup>	6,51 ± 0,06 <sup>f</sup>	5,65 ± 0,04 <sup>be</sup>	5,42 ± 0,01 <sup>d</sup>	5,55 ± 0,05 <sup>de</sup>	5,70 ± 0,01 <sup>be</sup>
<b>Total AGS</b>	18,52 ± 0,11 <sup>ab</sup>	19,23 ± 0,25 <sup>ab</sup>	18,72 ± 0,98 <sup>ab</sup>	17,37 ± 0,10 <sup>a</sup>	20,88 ± 0,42 <sup>b</sup>	19,36 ± 0,06 <sup>ab</sup>	19,91 ± 0,09 <sup>bc</sup>	18,16 ± 0,11 <sup>ac</sup>	18,64 ± 0,06 <sup>ab</sup>
<b>16:1n7</b>	1,79 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,51 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,06 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,68 ± 0,33 <sup>ab</sup>	1,79 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,87 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,93 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,95 ± 0,04 <sup>ab</sup>
<b>18:1n9</b>	28,68 ± 0,31 <sup>a</sup>	29,79 ± 0,25 <sup>ab</sup>	28,92 ± 0,07 <sup>a</sup>	30,90 ± 0,49 <sup>bcd</sup>	29,89 ± 0,78 <sup>ab</sup>	30,15 ± 0,21 <sup>abc</sup>	31,40 ± 0,11 <sup>cde</sup>	32,22 ± 0,08 <sup>de</sup>	32,43 ± 0,46 <sup>e</sup>
<b>18:1n7</b>	2,75 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,81 ± 0,03 <sup>ab</sup>	2,73 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,79 ± 0,04 <sup>ab</sup>	2,98 ± 0,34 <sup>ab</sup>	3,01 ± 0,01 <sup>ab</sup>	3,23 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,17 ± 0,02 <sup>ab</sup>	3,14 ± 0,03 <sup>ab</sup>
<b>20:1n9</b>	1,19 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,03 <sup>abc</sup>	1,40 ± 0,04 <sup>ab</sup>	1,35 ± 0,06 <sup>ab</sup>	1,64 ± 0,66 <sup>abc</sup>	1,80 ± 0,01 <sup>abc</sup>	1,96 ± 0,09 <sup>abc</sup>	2,30 ± 0,00 <sup>c</sup>	2,20 ± 0,02 <sup>bc</sup>
<b>Total AGMI</b>	34,41 ± 0,31 <sup>a</sup>	35,54 ± 0,28 <sup>ab</sup>	34,60 ± 0,09 <sup>a</sup>	37,10 ± 0,50 <sup>abc</sup>	36,19 ± 1,13 <sup>ab</sup>	36,75 ± 0,21 <sup>abc</sup>	38,46 ± 0,16 <sup>bc</sup>	39,62 ± 0,08 <sup>c</sup>	39,72 ± 0,46 <sup>c</sup>
<b>18:2n6</b>	12,06 ± 0,08 <sup>a</sup>	11,36 ± 0,07 <sup>b</sup>	11,17 ± 0,17 <sup>b</sup>	12,53 ± 0,07 <sup>c</sup>	10,35 ± 0,19 <sup>d</sup>	10,48 ± 0,07 <sup>d</sup>	11,17 ± 0,18 <sup>b</sup>	11,47 ± 0,03 <sup>b</sup>	11,01 ± 0,07 <sup>b</sup>
<b>20:4n6</b>	2,79 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,80 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,99 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,86 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,80 ± 0,62 <sup>a</sup>	2,31 ± 0,02 <sup>ab</sup>	1,73 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,18 ± 0,02 <sup>ab</sup>	2,25 ± 0,04 <sup>ab</sup>
<b>18:3n3</b>	4,77 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,09 ± 0,04 <sup>bc</sup>	4,02 ± 0,01 <sup>bcd</sup>	4,40 ± 0,04 <sup>ab</sup>	3,55 ± 0,28 <sup>e</sup>	3,70 ± 0,01 <sup>cde</sup>	3,62 ± 0,09 <sup>de</sup>	3,79 ± 0,01 <sup>cde</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>cde</sup>
<b>20:4n3</b>	0,93 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,88 ± 0,03 <sup>abc</sup>	0,90 ± 0,00 <sup>ab</sup>	0,77 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,86 ± 0,01 <sup>abc</sup>	0,77 ± 0,08 <sup>bc</sup>	0,80 ± 0,00 <sup>abc</sup>	0,80 ± 0,02 <sup>abc</sup>
<b>20:5n3 (EPA)</b>	7,70 ± 0,28 <sup>a</sup>	6,96 ± 0,06 <sup>abc</sup>	7,06 ± 0,04 <sup>abc</sup>	7,29 ± 0,21 <sup>ab</sup>	6,23 ± 0,95 <sup>bcd</sup>	5,72 ± 0,05 <sup>cd</sup>	5,84 ± 0,05 <sup>cd</sup>	5,25 ± 0,06 <sup>d</sup>	5,53 ± 0,10 <sup>d</sup>
<b>22:5n3</b>	2,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,43 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,47 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,03 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,48 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,74 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,23 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,38 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,41 ± 0,06 <sup>a</sup>
<b>22:6n3 (DHA)</b>	14,91 ± 0,10 <sup>a</sup>	14,79 ± 0,46 <sup>a</sup>	14,83 ± 0,13 <sup>a</sup>	13,40 ± 0,30 <sup>b</sup>	13,98 ± 0,69 <sup>ab</sup>	14,18 ± 0,18 <sup>ab</sup>	13,34 ± 0,29 <sup>b</sup>	12,87 ± 0,12 <sup>b</sup>	12,96 ± 0,31 <sup>b</sup>
<b>Total AGPI</b>	45,55 ± 0,35 <sup>a</sup>	43,25 ± 0,47 <sup>ab</sup>	43,42 ± 0,23 <sup>ab</sup>	43,41 ± 0,38 <sup>ab</sup>	40,16 ± 1,37 <sup>bc</sup>	40,99 ± 0,20 <sup>bc</sup>	38,70 ± 0,37 <sup>c</sup>	38,74 ± 0,14 <sup>c</sup>	38,65 ± 0,34 <sup>c</sup>
<b>Total AGPI n-6</b>	14,85 ± 0,11 <sup>ac</sup>	14,16 ± 0,08 <sup>abc</sup>	14,16 ± 0,17 <sup>abc</sup>	15,39 ± 0,09 <sup>a</sup>	13,15 ± 0,65 <sup>bc</sup>	12,79 ± 0,07 <sup>b</sup>	12,90 ± 0,18 <sup>b</sup>	13,65 ± 0,04 <sup>bc</sup>	13,26 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>Total AGPI n-3</b>	30,70 ± 0,33 <sup>a</sup>	29,09 ± 0,47 <sup>ab</sup>	29,26 ± 0,15 <sup>ab</sup>	28,02 ± 0,37 <sup>abc</sup>	27,01 ± 1,21 <sup>bc</sup>	27,20 ± 0,19 <sup>bc</sup>	25,80 ± 0,32 <sup>c</sup>	25,09 ± 0,14 <sup>c</sup>	25,39 ± 0,33 <sup>c</sup>
<b>Otros</b>	1,54 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,11 <sup>a</sup>	3,28 ± 0,08 <sup>bc</sup>	2,14 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,80 ± 0,05 <sup>b</sup>	3,95 ± 0,04 <sup>d</sup>	2,97 ± 0,30 <sup>bc</sup>	3,53 ± 0,33 <sup>cd</sup>	3,03 ± 0,18 <sup>bc</sup>

\*Los valores corresponden a media ± DE (por duplicado). ANOVA, dentro de cada AG, los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey, p < 0,05).

## ANEXO 15

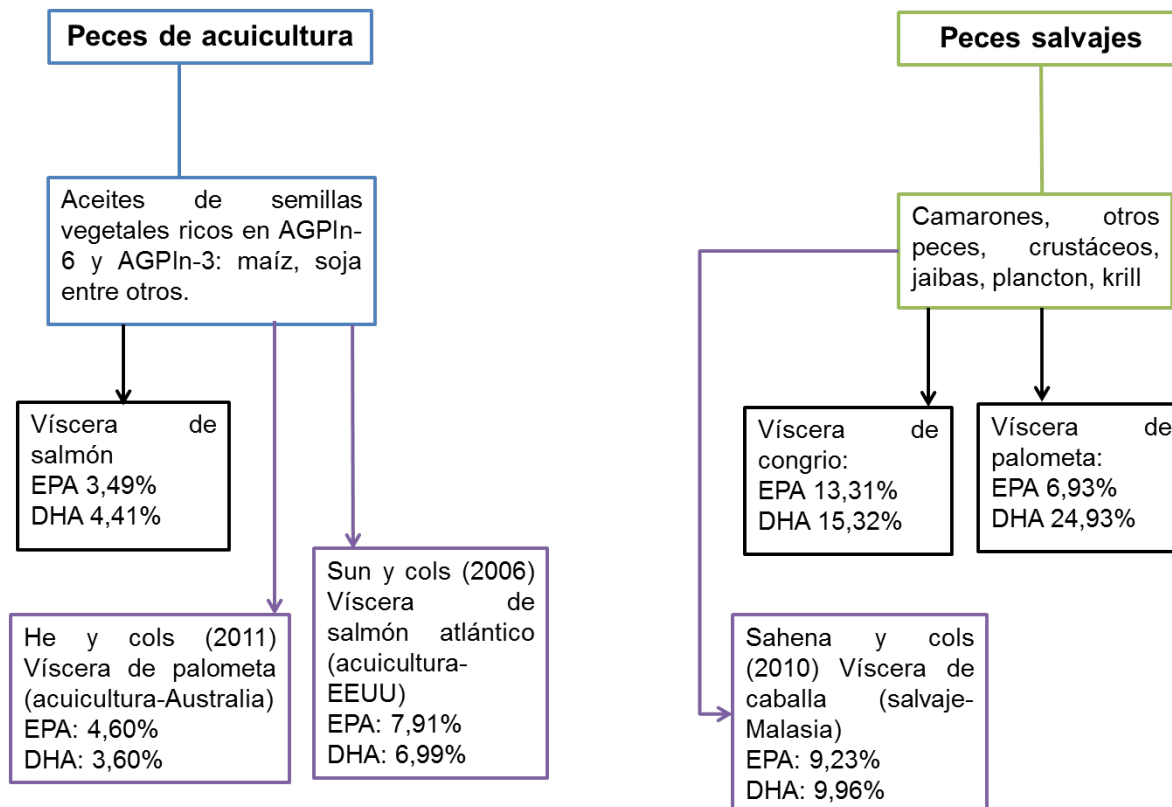
**Figura 5:** Contenido en EPA, DHA, AL Y ALA de subproductos de palometa, congrio y salmón.



\*Los valores corresponden a media  $\pm$  DE, ANOVA. Dentro de cada ácido graso (EPA, DHA, AL, ALA) los valores que comparten la misma letra no indican diferencias significativas (prueba de Tukey,  $p < 0,05$ ).

## ANEXO 16

**Figura 6:** Esquema comparativo del contenido en EPA y DHA en vísceras de pescado de acuicultura y salvaje en función de la alimentación.



\*Recuadros negros: porcentaje de EPA y DHA sobre el total de ácidos grasos obtenidos en esta investigación.

\*Recuadros púrpura: porcentaje de EPA y DHA sobre el total de ácidos grasos obtenidos en proyectos de otros autores.

