

# Caracterización físicoquímica y nutricional del aceite de hígado de chucho *Myliobastis goodei* extraído mediante hidrólisis enzimática

Lamas Daniela, Vittone Marina, Massa Agueda

*El presente trabajo ha sido aprobado para su publicación el 31-03-2022 por NOTA GDE.*

Citar como:

Lamas D, Vittone M, Massa A. 2022. Extracción y caracterización de aceite de hígado de chucho *Myliobastis goodei* mediante hidrólisis enzimática. Inf Invest INIDEP N° 033/22, 10 pp.



# Extracción y caracterización de aceite de hígado de chucho *Myliobatis goodei* mediante hidrólisis enzimática

Lamas Daniela<sup>1,2</sup>, Vittone Marina<sup>1</sup>, Massa Agueda<sup>1,2</sup>

1-Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Paseo Victoria Ocampo N° 1, Escollera Norte, B7602HSA - Mar del Plata, Argentina; 2- Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IIMyC-CONICET), Argentina.

## Resumen

En las últimas décadas, se ha impulsado el desarrollo de procesos biotecnológicos para la extracción de aceites de pescado. Estas técnicas, además de ser más eficientes que los procesos tradicionales, no tienen impacto negativo sobre el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento de la extracción de aceite de hígados de chucho (*Myliobatis goodei*) utilizando las enzimas comerciales Alcalase® 2.4 L y Purazyme AS 60 L. Los tratamientos se realizaron en un reactor batch termostatzado, a 55 °C con una concentración de enzima del 2 %, y la adición de NaOH 1M para controlar el pH. Después de 1 hora de reacción la temperatura se aumentó a 85 °C durante 10 minutos para inactivar la enzima. El producto obtenido fue centrifugado, congelado y separado en las distintas fracciones, siendo el aceite la fase superior. El rendimiento del aceite fue mayor al 80 % con ambas enzimas. En ambos aceites los parámetros fisicoquímicos obtenidos como humedad, densidad, color, valor peróxido e índice de anisidina los ubican dentro de los estándares de calidad de aceites de pescado crudo. El perfil de ácidos grasos presentó un alto contenido de poliinsaturados de la serie Omega 3, siendo los valores de los índices aterogénicos y trombogénicos aceptables para el consumo humano. Los resultados obtenidos, sugieren que el aprovechamiento de los subproductos de esta especie para la obtención de aceites es una alternativa válida que contribuye con el manejo sostenible de este recurso pesquero.

## Palabras Clave

*Myliobatis goodei*, aprovechamiento de subproductos, aceite, EPA y DHA

## Introducción

En los últimos tiempos hay una notable tendencia en impulsar el crecimiento del consumo mundial de pescado que ha ido acompañada de muchos cambios fundamentales en las formas en que los consumidores eligen, compran, preparan y consumen los productos pesqueros. La globalización del pescado y los productos pesqueros, promovida por una mayor liberalización del comercio y los avances en las tecnologías de elaboración y transporte de alimentos, ha ampliado las cadenas de suministro. Sin embargo, en Argentina, la ingesta de productos marinos con 5 Kg per cápita anual (SOFÍA 2018), es insuficiente para cubrir las necesidades de ácidos grasos poliinsaturados de la serie Omega 3 (PUFAs n-3) requeridas en la ingesta diaria, por lo que resulta necesario contribuir a esta corriente promoviendo el desarrollo de nuevos productos valorizando especies tradicionales y revalorizando los subproductos y descartes pesqueros. En este sentido, en la actualidad existe un gran interés por la comercialización de especies cartilaginosas que se refleja en la evolución sostenida de los desembarques y en los altos valores comerciales que adquirieron sus productos, principalmente de las aletas, en los mercados nacionales e internacionales (Massa *et al.*, 2004; Hozbor & Massa, 2011; Galindez *et al.*, 2016). La comercialización de estos productos, genera un alto porcentaje de subproductos que contienen proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerales y lípidos ricos en ácidos grasos esenciales (Álvarez *et al.*, 2018, Lamas & Massa, 2019). Dentro de las vísceras, los hígados de peces cartilaginosos contienen grandes cantidades de aceite rico en PUFAs n-3 que son importantes en la dieta humana y resultan de interés comercial y científico (Navarro García *et al.*, 2004, Tufan *et al.*, 2013., Ozyilmaz & Oksuz, 2015, Lamas & Massa, 2017, 2019)

El aceite de pescado es la fuente más importante de PUFAs n-3, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA). Estos ácidos grasos presentan varios beneficios para la salud humana, siendo esenciales para el desarrollo y la funcionalidad de órganos vitales y procesos metabólicos (Boran *et al.*, 2006). Diferentes metodologías han sido propuestas para extraer aceites de subproductos pesqueros. El método comúnmente utilizado es la extracción por prensado húmedo que consiste en cocción, prensado y centrifugado, y genera grandes volúmenes de aceite crudo (Bonilla

Mendez & Concha, 2018). Sin embargo, las condiciones drásticas de temperatura y presión utilizadas en el proceso pueden modificar parcialmente los PUFAs presentes, debido a reacciones de degradación como la hidrólisis y la oxidación (Linder, *et al.*, 2005; Mbatia *et al.*, 2010). La extracción por solventes, es aplicada por lo general para propósitos analíticos, pero no para producción industrial, debido al uso de sustancias con restricciones para la industria alimentaria (Rubio-Rodríguez *et al.*, 2012), el tiempo prolongado requerido y las grandes cantidades de solvente residual que genera (Adeoti & Hawboldt, 2014; Sahena *et al.*, 2010). La extracción mediante fluidos supercríticos es una tecnología emergente, que presenta ventajas como el uso de temperaturas moderadas, ambiente libre de oxígeno y extracción de lípidos de baja polaridad, lo cual evita la extracción de impurezas (Rubio-Rodríguez *et al.*, 2012). La hidrólisis enzimática generalmente utiliza una proteasa que libera el aceite de los componentes solubles en fases acuosa y sedimentos y utiliza condiciones suaves de temperatura y pH (Lamas & Massa 2019; Głowacz-Rozynska *et al.*, 2016). Por último, la extracción mediante ensilaje químico emplea ácidos inorgánicos y orgánicos, mientras que el ensilado biológico se elabora mediante fermentación microbiana (Ferraz de Arruda *et al.*, 2007). Estos procesos son una buena alternativa a los métodos tradicionales, dado que previenen reacciones indeseables como la oxidación y permiten recuperar ingredientes funcionales (Ferraz de Arruda *et al.*, 2007; Rai *et al.*, 2010; Rubio-Rodríguez *et al.*, 2012; Głowacz Rozynska *et al.*, 2016). En este contexto, el objetivo general de este trabajo fue evaluar el rendimiento de la extracción enzimática de aceite a partir de hígados de chucho (*Myliobatis goodei*) utilizando las enzimas comerciales Alcalase® 2.4 L y Purazyme AS 60 L. Además, se analizaron las características nutricionales y tecnológicas de los aceites obtenidos.

## **Materiales y métodos**

### **Muestras biológicas**

Para extraer el aceite se utilizaron hígados de distintos individuos de chucho *Myliobatis goodei*. Los ejemplares fueron obtenidos de campañas de investigación realizadas por el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero durante el año 2018. Los hígados de cada ejemplar fueron separados, acondicionados en bolsas de polietileno y congelados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , hasta su uso. Para la extracción de aceite se utilizaron 2 lotes de  $n=7$  hígados cada uno, y a cada lote se le aplicaron los tratamientos de extracción con las 2 enzimas.

### **Caracterización de la materia prima**

Las proteínas se determinaron por el método Kjeldahl, (AOAC, 240.27; 1990), para la transformación del nitrógeno en proteína bruta se utilizó el factor conversión  $N*6,25$ . La humedad se cuantificó mediante desecación en estufa a temperatura de  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante (AOAC, 952.08; 1990). Las cenizas se determinaron por calcinación en mufla a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  de temperatura, hasta la obtención de cenizas blancas y peso constante (AOAC, 938.08; 1990). Los lípidos fueron extraídos y cuantificados por el método de Bligh & Dyer, (1959). Los extractos lipídicos de todas las muestras fueron almacenados en Eppendorf y conservados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior uso.

### **Procedimiento de extracción de aceite**

Para la extracción lipídica por hidrólisis enzimática se utilizaron 2 enzimas: la enzima Alcalase® 2.4 L una endopeptidasa de *Bacillus licheniformis* de grado alimenticio y la enzima Purazyme AS 60 L, una serinproteasa alcalina de *Bacillus licheniformis*. Ambas enzimas son consideradas GRAS (Generally Recognized as Safe) para la modificación de proteínas y producción de alimentos para mascotas, entre otras aplicaciones.

La hidrólisis se realizó en un reactor termostatzado con agitación constante. Se mezclaron partes iguales de hígados triturados y agua destilada a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se estabilizó en las condiciones óptimas de las enzimas utilizadas ( $\text{pH } 8,0 \pm 0,3$  y temperatura en  $55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). El proceso de hidrólisis se inició con el agregado de la proteasa (relación enzima-materia prima: 2 %), siendo el pH controlado con la adición de NaOH 1M. La reacción enzimática tuvo una duración de 1 hora y

posteriormente la temperatura se aumentó a 85 °C durante 10 minutos para inactivar la enzima. El hidrolizado se centrifugó a 20000 g durante 30 minutos a 4 °C. Después de la centrifugación, los tubos se colocaron en posición vertical en freezer (a -20 °C) y todas las fracciones, lodos (o fases insolubles precipitadas), la fase proteica y oleosa fueron separadas.

### Estudio de la fase lipídica

#### *Rendimiento:*

A fin de evaluar el rendimiento del proceso enzimático se determinó la cantidad de aceite extraído. El mismo se expresó como el porcentaje del aceite crudo extraído enzimáticamente (WOEM) en relación con el contenido de aceite en los residuos obtenidos por el método de Bligh & Dyer (WOBD).

$$\text{Rendimiento\%} = (\text{WOEM} / \text{WOBD}) * 100$$

#### *Caracterización*

Los índices físicos de calidad determinados fueron: humedad y contenido de material volátil mediante el método de la estufa de vacío (AOCS Ja 2a-46,2009), densidad relativa determinada utilizando un picnómetro calibrado a 20 °C, y color medido en escala de color Gardner (Gardner-Delta Color Comparator (AOCS Td 1a-64, 2009).

Para evaluar la estabilidad oxidativa se determinó el índice de acidez mediante la técnica oficial (AOCS Ca 5a - 40., 2009), el valor peróxido (PV) (AOCS Cd 8-53., 2009) como indicador de compuestos de oxidación primarios, y el índice de anisidina (IA) (IUPAC Method 2.504) que pone de manifiesto los compuestos secundarios de oxidación, como aldehídos y cetonas. La oxidación total se determinó mediante el índice TOTOX, de oxidación total (sumatoria 2PV+IA).

Para caracterizar nutricionalmente los aceites obtenidos, se determinó el perfil de ácidos grasos. Una alícuota de cada muestra de aceite fue metilada según la norma ISO 12966-2 (International Organization for Standardization, 2017). El aceite fue disuelto con isooctano hasta una concentración de 1 mg/ml en un tubo de vidrio, seguidamente se le adicionaron 0,5 ml de KOH/MeOH (2 mol/l). La mezcla fue agitada con vortex durante 1 minuto y se le agregó NaCl (solución saturada al 40 %) en igual volumen que el isooctano. Esta solución se agitó nuevamente por 10 segundos y la fase superior se transfirió a un tubo limpio. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME, del inglés Fatty Acid Methyl Esters) fueron separados e identificados en un cromatógrafo gaseoso Shimadzu® GC-2010, equipado con un inyector split ( $T^{\circ} = 250^{\circ} \text{C}$ ; tasa de split = 5,0), una columna capilar de sílica fundida Omegawax Supelco® 320 (30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno, 0,25  $\mu\text{m}$  de espesor del film de la fase estacionaria) y un detector de ionización a la llama (FID, del inglés Flame Ionization Detector,  $T^{\circ} = 260^{\circ} \text{C}$ ). El programa de temperatura utilizado en la columna comenzó con un valor de 50 °C, seguido de un incremento de 55 °C min<sup>-1</sup> hasta 200 °C, sosteniendo esta última temperatura durante 14 minutos, siendo helio el gas portador empleado. La corrida cromatográfica tuvo una duración total de 40 minutos. Para identificar los ácidos grasos, se emplearon estándares comerciales de ácidos grasos de organismos marinos (Supelco® FAME Mix C4-C24 + PUFA No 1 Marine Source) Los cromatogramas resultantes se analizaron con el Software GCsolution (Shimadzu®).

#### *Calidad nutricional de los lípidos:*

A partir de los datos sobre la composición de ácidos grasos, se determinaron el índice aterogénico (AI) y el índice trombogénico (TI) según Ulbricht & Southgate (1991). El cálculo se realizó a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\text{AI} = 12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0 / [\sum \text{MUFAs} + \text{PUFA } n-6 + \text{PUFA } n-3]$$

$$TI = (14: 0 + 16: 0 + 18: 0) / [0,5 \times \sum MUFA_s + 0,5 \times PUFA_{n-6} + 3 \times PUFA_{n-3} + PUFA_{n-3} / PUFA_{n-6}]$$

### Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por duplicado, y se expresaron como valor medio  $\pm$  desvío estándar.

## Resultados y Discusión

### Características físicas y químicas de los hígados

En la Tabla 1 se presenta la composición proximal de los hígados de *Myliobastis goodei*. El contenido de humedad obtenido, fue inferior a valores reportados previamente en hígados de otras especies cartilaginosas (Massa *et al.*, 2011, Lamas & Massa, 2019). El porcentaje de cenizas resultó inferior a los datos reportados para hígados de *Zearaja flavirostris* y *Atlantoraja castelnaui* (Lamas & Massa, 2019). Asimismo, el contenido de proteínas estuvo por debajo de otras especies de rayas capturadas en las costas bonaerenses (Massa *et al.*, 2011, Massa *et al.*, 2013, Lamas & Massa, 2019). El contenido graso de 62,36 % representó el componente mayoritario, encontrándose por encima de todos los valores reportados para hígados de especies cartilaginosas del atlántico sudoccidental (Massa *et al.*, 2013, Lamas & Massa, 2019). Incluso, reportes previos sobre esta misma especie extraídas de la misma zona, arrojaron valores inferiores de lípidos (Massa *et al.*, 2011), esto puede asociarse a las condiciones fisiológicas de los peces (tipo de alimentación, estadio gonadal, entre otros).

Tabla 1. Composición proximal de los hígados de *Myliobastis goodei*.

| Muestra | Humedad%         | Cenizas%        | Proteínas%      | Lípidos%         |
|---------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Hígados | 29,59 $\pm$ 0,36 | 0,43 $\pm$ 0,03 | 7,65 $\pm$ 0,33 | 62,36 $\pm$ 0,13 |

Los resultados se expresan como valor medio  $\pm$  desvío estándar (n=4).

### Rendimiento de la extracción de aceites

El rendimiento porcentual, calculado a partir del contenido inicial de aceite establecido en la determinación de la composición proximal de la materia prima, fue del 86,47 % con la enzima Alcalase® 2.4 L y del 83,01 % con la enzima Purazyme AS 60 L. Estos datos son similares a valores informados en trabajos previos utilizando las mismas condiciones de hidrólisis y la misma proteasa (Purazyme AS 60 L) para la recuperación de aceite a partir de hígado de raya (Lamas & Massa, 2019) y de hígado de abadejo (Massa *et al.*, 2013). Asimismo, son concordantes con los resultados encontrados por Gbogouri *et al.*, (2006) para aceite extraído de cabezas de salmón mediante el uso de solución de enzimas de grado alimentario (Alcalase® 2.4 L, Neutrasa® Protamex®). Rubio Rodríguez *et al.*, (2012) reportaron rendimientos cercanos al 100 % trabajando con residuos de salmón y la enzima Alcalase® 2.4 L. Por otro lado, Głowacz-Rozynska *et al.* (2016) consiguieron extraer solamente el 70 % de aceite, mediante extracción con proteasas sobre cabezas de salmón *Salmo salar*. También Daza & Pariasca, (2017) obtuvieron un rendimiento de extracción del 65,24 % utilizando Protamex a partir de residuos frescos de anchoveta (*Engraulis ringens*). En general, las diferencias se asocian a diferente composición de la materia prima de partida.

### Caracterización fisicoquímica de los aceites obtenidos

La Tabla 2 muestra la caracterización fisicoquímica de los aceites obtenidos. El índice de acidez es un parámetro de calidad importante, que está relacionado con la presencia de ácidos grasos libres (AGL), que se forman principalmente por hidrólisis de triacilgliceroles y otros compuestos no lipídicos como el ácido acético que se produce durante la degradación de la materia prima. De esta manera, la acidez depende de varios factores relacionados con la composición del aceite, con el procedimiento de extracción y frescura de la materia prima. Los valores de acidez de todas las muestras se encontraron por debajo de los límites establecidos por el CODEX (2017) para aceites de hígado de pescado aptos para consumo humano. Los valores de acidez resultaron altos pero se ubican

dentro de los estándares de calidad para aceites crudos de pescado aptos para nutrición de peces señalados por Masson, (1994).

Para evaluar la estabilidad oxidativa de los aceites de refinación es importante incluir el índice de peróxido (IP), (De Greyt y Kellens, 2005). El IP mide la oxidación o el grado de rancidez en el momento de la prueba. El IP mostró valores elevados, lo que sugiere que los aceites requieren ser tratados con antioxidantes para evitar la oxidación inmediata. A pesar de que el IP es una medida corriente de la oxidación de los lípidos, su uso está limitado a las etapas iniciales de dicha reacción. El índice de anisidina (IA) determina los productos de oxidación secundaria (CODEX, 2017). El valor del IA de las muestras fue aproximadamente 10, lo cual refleja un grado de frescura aceptable según Masson (1994). Se han establecido múltiples límites y estándares de calidad en el aceite de pescado para la alimentación de peces según los cuales un aceite fresco debe presentar niveles de peróxidos entre 3,9 y 5 meq O<sub>2</sub>/kg, un IA entre 10-20; un aceite oxidado presenta niveles entre 7 y 26 meq O<sub>2</sub>/kg y 25–30 de anisidina.

El valor TOTOX es un buen indicador del deterioro de los aceites que relaciona el PV y el IA para determinar el grado total de oxidación del aceite debido a la oxidación tanto primaria y secundaria (Shahidi & Wanasundara, 2002). El valor TOTOX en esta investigación se encuentra en el límite que establece el CODEX (2017) para aceites de este tipo. Estos resultados indican que este tipo de aceites debe ser adicionado inmediatamente con antioxidantes permitidos para tal fin para evitar el proceso de oxidación.

Tabla 2. Comparación del producto obtenido con las diferentes enzimas.

| Parámetros                              | Muestras                 |                         |
|---|--------------------------|-------------------------|
|   | Alcalase 2.4L            | Purazyme AS 60 L        |
| Acidez (mg KOH/g)                       | 2,38±0,13 <sup>a</sup>   | 2,36±0,12 <sup>a</sup>  |
| Índice peróxido (meqO <sub>2</sub> /kg) | 7,07±1,23 <sup>b</sup>   | 9,53±0,85 <sup>a</sup>  |
| Índice de anisidina                     | 10,98±1,42 <sup>c</sup>  | 10,16±1,65 <sup>b</sup> |
| TOTOX                                   | 25,12                    | 29,22                   |
| <b>Índices físicos</b>                  |                          |                         |
| Humedad (g/100g)                        | 0,89±0,020 <sup>a</sup>  | 0,86±0,070 <sup>b</sup> |
| Color (escala Gardner)                  | 6-7                      | 7-8                     |
| Densidad (kg/m <sup>3</sup> )           | 924,20±2,20 <sup>b</sup> | 921,8±3,10 <sup>a</sup> |

Los resultados se expresan como valor medio ± desvío estándar (n=2).

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas evaluadas por el test de Duncan (P < 0.05).

El contenido de humedad promedio de todos los aceites extraídos fue cercano al 1 %. Este valor está por encima del rango establecido por Masson, (1994) para aceites crudos aptos para nutrición animal y de peces. Sin embargo, cabe destacar que el aceite crudo, generalmente, es sometido a un paso de secado durante el proceso de refinado antes de su comercialización. El color de los aceites crudos obtenidos fue diferente para ambas enzimas. Las muestras obtenidas con Alcalase 2.4 L mostraron valores de 6 a 7 en la escala Gardner presentando una tonalidad amarillenta, translúcida y brillante. El aceite obtenido con Purazyme AS 60 L resultó ligeramente más oscuro, aunque la tonalidad también era amarillenta. Todos los aceites se ubicaron dentro de los estándares de calidad de aceites de pescado crudo que indican valores máximos para la escala Gardner de 14 (Bimbo, 1998). La densidad de los aceites obtenidos no mostró diferencias significativas, arrojando valores dentro del rango esperado para este tipo de aceites, 0,90 – 0,93 gr/ml (Ardiles Falcón & Mozo Malca, 2017).

### Perfil nutricional de los aceites

La tabla 3 muestra la distribución del perfil de ácidos grasos de los aceites estudiados. Ambas muestras exhibieron el mismo patrón de ácidos grasos, resultando la menor proporción de la fracción de saturados (SFAs) seguida de la fracción de monosaturados (MUFAs) y por último los poliinsaturados (PUFAs). Las fracciones no presentaron diferencias significativas.

Tabla 3. Contenido de ácidos grasos de las muestras de aceite de hígado de *Myliobastis goodei*.

| ÁCIDO GRASO                      | Alcalasa 2.4 L | Purazyme AS 60 L |
|----------------------------------|----------------|------------------|
| C14:0 mirístico                  | 4,11           | 4,23             |
| C15:0 pentadecanoico             | 0,54           | 0,62             |
| C16:0 palmítico                  | 19,22          | 20,14            |
| C17:0 heptadecanoico             | 0,11           | 0,13             |
| C18:0 esteárico                  | 3,77           | 2,97             |
| C20:0 araquídico                 | 0,16           | 0,17             |
| C22:0 behenico                   | 2,11           | 2,54             |
| C23:0 tricosanoico               | 0,23           | 0,22             |
| C 24:0 lignocérico               | 0,11           | 0,08             |
| <b>Σ SFA</b>                     | <b>30,36</b>   | <b>31,1</b>      |
| C14:1 miristoleico               | 0,19           | 0,23             |
| C15:1 pentadecenoico             | 0,04           | 0,03             |
| C16:1 palmitoleico               | 8,9            | 8,32             |
| C 17:1 heptadecenoico            | 0,18           | 0,12             |
| C 18:1n9 oleico                  | 19,14          | 18,55            |
| C 18:1n7c+t vaccenico            | 0,41           | 0,53             |
| C 18:2n6c+t linoleico            | 1              | 0,96             |
| C 20:1n9 gonodoico               | 2,54           | 2,67             |
| C 22:1n9 erucico                 | 0,11           | 0,09             |
| C 22:1n11 cetoleico              | 0,31           | 0,33             |
| <b>Σ MUFA</b>                    | <b>32,82</b>   | <b>31,83</b>     |
| C 18:3n6 $\gamma$ -linolenico    | 0,98           | 0,77             |
| C 18:3n3 $\alpha$ -linolénico    | 0,58           | 0,52             |
| C 18:4n3 estearidónico           | 1,65           | 1,58             |
| C 20:2n6 eicosadienoico          | 0,19           | 0,21             |
| C 20:3n6 eicosatrienoico         | 0,74           | 0,67             |
| C 20:4n6 araquidónico            | 1,22           | 1,31             |
| C 20:3n3                         | 0,57           | 0,58             |
| C 20:5n-3 eicosapentanoico (EPA) | 7,88           | 8,64             |
| C22:2 docosadienoico             | 0,23           | 0,24             |
| C 22:5n3 docosapentaenoico (DHA) | 0,07           | 0,09             |
| C 2:6 n-3 docosahexaenoico       | 19,9           | 18,64            |
| <b>Σ PUFA</b>                    | <b>34,01</b>   | <b>33,25</b>     |
| <b>Σ n-6</b>                     | <b>3,36</b>    | <b>3,2</b>       |
| <b>Σ n-3</b>                     | <b>30,65</b>   | <b>30,05</b>     |

Los resultados se expresan como valor medio  $\pm$  desvío estándar (n=4).

Dentro de los SFA, ambos aceites mostraron predominancia del ácido palmítico, seguido del mirístico y el esteárico. Esto resulta de interés, dado que los ácidos grasos palmítico y esteárico pueden ser utilizados como fuente de energía (Navarro-García *et al.*, 2014). Dentro de los MUFA los ácidos grasos predominantes fueron el oleico y palmitoleico, lo que también constituye un hallazgo importante, ya que las dietas ricas en ácido oleico se asocian a la reducción de riesgo en el desarrollo de diabetes tipo 2, según lo investigado por Kien *et al.* (2013). Ambos aceites mostraron un contenido de PUFA considerable siendo los principales componentes el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5 n-3) y el docosahexaenoico (DHA, 22: 6 n-3).

Existe suficiente evidencia que demuestra que los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de tipo n-3 como el EPA y el DHA son de notable importancia. Se ha demostrado que los PUFA n-3 tienen eficacia antiarterosclerótica y pueden reducir enfermedades del sistema circulatorio (Martínez-González & Badimon 2006, De Caterina, 2011). Esto se basa principalmente en la inhibición de la síntesis de vasoagresivos de baja densidad, lipoproteínas (LDL) y la aceleración de la eliminación de LDL. Además, no muestran acción sobre las lipoproteínas vasoprotectoras de alta densidad (HDL) o incluso aumentan su producción de HDL, disminuyen triacilgliceroles séricos totales, cambiando el equilibrio de eicosanoides a favor de las fracciones antiagregantes, reducen la agregación plaquetaria, la prolongación del tiempo de sangrado y la presión arterial. Los PUFA n-3 también pueden contribuir a la prevención de la enfermedad de Alzheimer (Gu *et al.*, 2010) y la degeneración relacionada con la edad (Hodge *et al.*, 2006). Asimismo, el consumo de estos ácidos grasos por parte de mujeres embarazadas contribuye al correcto desarrollo y la salud del feto y del recién nacido (Noakes *et al.*, 2012; Palmer *et al.*, 2012).

Además, los índices aterogénicos (IA) y trombogénicos (IT) de ambos aceites resultaron inferiores a 1. Este valor de índice de aterogenicidad obtenido, indica la baja capacidad potencial del aceite de chucho para formar placas de ateroma. El (IA): definido como la razón del contenido de los ácidos grasos capaces de aumentar los niveles de colesterol sérico está relacionado con el contenido alto de ácidos láurico, mirístico y palmítico, mientras que MUFAs y PUFAs tienen acción protectora (Ulbricht y Southgate, 1991). Los valores de IA obtenidos son inferiores a lo reportado por otros autores para aceites obtenidos de otras especies pesqueras como lubina (Santaella *et al.*, 2007) y raya (Turan *et al.*, 2007). Por otro lado, los valores de IT coinciden con los datos de contenido en ácidos grasos n-3, que producen eicosanoides de baja capacidad proagregante, como el tromboxano A<sub>3</sub> (TXA<sub>3</sub>) (Pérez *et al.*, 2005).

Los valores obtenidos indican que los aceites de chucho extraídos mediante métodos enzimáticos son una buena fuente de PUFAs n-3, componentes reconocidos por sus beneficios para la salud. Estos efectos están relacionados con que el EPA es el precursor de las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, y el DHA es un componente de la membrana fosfolipídica del cerebro y las células de la retina. En consecuencia, ambos los aceites extraídos podrían ser beneficiosos para la dieta humana ya que sus componentes presentan acciones destacadas en la prevención de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de la cognición respectivamente (Fournier *et al.*, 2007; Zhong *et al.*, 2007).

## Conclusiones

Los resultados del presente trabajo indican que el rendimiento de la extracción de aceite de hígados de chucho fue mayor al 80 % con ambas enzimas estudiadas y las características físico-químicas mostraron valores dentro de los parámetros establecidos para aceites crudos obtenidos de hígado de especies pesqueras. El aceite de hígado de *Myliobatis goodei* posee un perfil nutricional de ácidos grasos significativo que puede presentar beneficios para la salud humana. El contenido en PUFAs de la serie Omega-3 fue mayor al 30 %, destacándose el contenido de EPA y DHA. De esta manera, el aprovechamiento del hígado de esta especie podría constituirse en una alternativa tecnológica válida y económicamente competitiva contribuyendo a la valorización de los subproductos pesqueros y a la utilización sostenible de este recurso.

## Bibliografía

- ADEOTI IA, HAWBOLDT K. 2014. A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Biomass Bioenerg.* 63: 330–340.
- ÁLVAREZ C, LÉLU P, LYNCH SA, TIWARI BK. 2018. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. *LWT*, 88:210-216.
- [AOAC] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 1990. Official Methods of Analysis. AOAC INTERNATIONAL - 16<sup>th</sup> Ed. Washington DC.



- [AOCS] AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. 2009. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, AOCS Press, Champaign, US.
- ARDILES FALCÓN NE, MOZO MALCA VJ. 2017. Determinación del tiempo de vida útil del aceite crudo de pescado usando antioxidantes sintéticos y naturales mediante uso del Rancimat. Universidad Nacional del Santa Facultad de Ingeniería Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial del Perú. Tesis, 186 pp. <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/2795/42936.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- BIMBO AP. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. Inform. 9: 473–483.
- BLIGH EG, DYER WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
- BONILLA-MÉNDEZ JR, HOYOS-CONCHA JL. 2018. Methods of extraction, refining and concentration of fish oil as a source of omega-3 fatty acids. Corpoica Cienc. Tecnol. Agrop. 19: 621-644.
- BORAN G, KARAÇAM H, BORAN M. 2006. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. Food Chem. 98(4):693-698.
- [CODEX] CODEX ALIMENTARIUS. 2017. Norma para aceite de pescado. CXS. 329: 6.
- DAZA T, ARANDA D. 2017. Extracción y caracterización del aceite crudo obtenido de un hidrolizado enzimático de residuos frescos de anchoveta (*Engraulis ringens*). An. Cient. 78(1):34-42.
- DE CATERINA R. 2011. N-3 fatty acids in cardiovascular disease. N. Engl. J. Med. 364:2439-2450.
- FERRAZ DE ARRUDA L, BORGHESI R, OETTERER M. 2007. Use of fish waste as silage: a review. Braz. Arch Biol. Technol. 50(5):879-886.
- DE GREYT W, KELLENS M. 2005. Deodorization. En: Bailey'S Industrial Oil and Fat Products: Processing and Technologies. Vol. 5, 6th ed. Shahidi, F. (Ed.). New Jersey, NJ: Wiley Interscience. pp. 352–357
- FOURNIER V, DESTAILLATS F, HUG B, GOLAY PA, JOFFRE F, JUANEDA P. 2007. Quantification of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid geometrical isomers formed during fish oil deodorization by gas–liquid chromatography. J. Chromat. A. 1154: 353–359.
- GALINDEZ, EJ. 2016. Reproducción de peces cartilagosos. Una revisión de algunas adaptaciones reproductivas. Cs Morfol. 18(1): 20-33.
- GBOGOURI GA, LINDER M, FANNI J, PARMENTIER M. 2006. Analysis of lipids extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial proteolytic enzymes. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 108: 766–775.
- GŁOWACZ-ROZYNSKA A, TYNEK M, MALINOWSKA-PANCZYK E, MARTYSIAK ZUROWSKA D, PAWŁOWICZ R, KOŁODZIEJSKA I. 2016. Comparison of oil yield and quality obtained by different extraction procedures from salmon (*Salmo salar*) processing byproducts. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 118:1759–1767.
- GU Y, NIEVES JW, STERN Y, LUCHSINGER JA, SCARMEAS N. 2010. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. Arch. Neurol. 67:699–706.
- HODGE WG, SCHACHTER HM, BARNES D, PAN Y, LOWCOCK EC, ZHANG L, SAMPSON M,
- [ISO] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. 2011. Geneva, Switzerland: Animal and Vegetable Fats and Oils –Gas Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters – Part 2.
- KIEN CL, BUNN JY, POYNTER ME, STEVENS R, BAIN J, IKAYEVA O, FUKAGAWA NK, CHAMPAGNE CM, CRAIN KI, KOVES TR, MUOIO DR. 2013. A lipidomics analysis of the relationship between dietary fatty acid composition and insulin sensitivity in young adults. Diabetes 62:1054–1063.
- LAMAS D., MASSA A. 2017. Enzymatic degumming of ray liver oil using phospholipase a1: efficiency, yield and effect on physicochemical parameters. Int. J. Bioorg. Chem. 2(3):87-93.
- LAMAS D, MASSA A. 2019. Ray liver oils obtained by different methodologies: characterization and refining. J. Aquat. Food Prod. Technol. 1–15.
- LINDER M, FANNI J, PARMENTIER M. 2005. Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by lipases. Mar. Biotechnol. 7(1):70–76.
- MARTÍNEZ-GONZÁLEZ J, BADIMON L. 2006. Estatinas y ácidos grasos omega-3. Disminución de la mortalidad cardiovascular. Rev Esp Cardiol Supl. 6:20-30
- MASSA A, LUCÍFORA LO, HOZBOR NM. 2004. Condrictios de las Región Costera Bonaerense y Uruguay. En: Los espacios marítimos argentinos y sus recursos pesqueros. Tomo 4. Biología y evaluación del estado de explotación. Sanchez R and Bezzi S. (Eds.). Mar del Plata: Publicaciones especiales INIDEP. pp. 359.
- MASSA A, FERNÁNDEZ COMPÁS A, CASAGRANDE P. 2011. Determinación de la composición química y perfil de ácidos grasos de especies cartilaginosas presentes en el atlántico sudoccidental. Inf Invest INIDEP N ° 070/07.

- MASSA A, HOZBOR N. 2011. Evolución de las estimaciones de abundancia de los peces cartilagosos demersales de mayor valor comercial del Atlántico Sudoccidental, capturados entre 34° y 41° S, a profundidades menores de 50 m, En: Contribuciones sobre biología, pesca y comercialización de tiburones en la Argentina. Aportes para la elaboración del Plan de Acción Nacional, Contrib 1711, INIDEP, Mar del Plata, Argentina, pp. 193-205.
- MASSA A, VITTONI MC, FERNÁNDEZ HERRERO A, FERNÁNDEZ COMPÁS A. 2013. Recuperación de aceite a partir de hígado de abadejo aplicando distintas metodologías. Inf Invest INIDEP N° 15/08.
- MASSON LS. 1994. Criterio de calidad para materias grasas utilizadas frecuentemente en la nutrición animal y de peces. In: Control de calidad de insumos y dietas acuícola. Campos, E. (Ed.). Documento de campo N° 16. Proyecto aguila II. Mexico: FAO. pp. 77-92.
- MBATIA B, ADLERCREUTZ D, ADLERCREUTZ P, MAHADHY A, MULAA F, MATTIASSON B. 2010. Enzymatic oil extraction and positional analysis of Omega 3 fatty acids in Nile perch and salmon heads. Process. Biochem. 45(5):815- 819.
- NAVARRO-GARCÍA G, GONZALEZ-FÉLIX ML, MARQUÉS FARÍAS F., et al. 2014. Lipid content and fatty acid composition of the liver from the rajiforms *Urotrygon chilensis*, *Urobatis halleri*, *Rhinobatos glaucostigma*, *Rhinoptera steindachneri* and *Dasyatis dipeteura* captured in Sinaloa, México. Int. Food Res. J. 21(1):229-235.
- NAVARRO-GARCÍA G, PACHECO-AGUILAR R, BRINGAS-ALVARADO L, ORTEGA-GARCÍA J. 2004. Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver oil of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. Food Chem. 87:89-96.
- NOAKES P, VLACHAVA M, KREMMYDA L, DIAPER N, MILES E, ERLEWYN-LAJEUNESSE M, WILLIAMS A, GODFREY K, CALDER P. 2012. Increased intake of oily fish in pregnancy: effects on neonatal immune responses and on clinical outcomes in infants at 6 months. Am J Clin Nutr. 95:395-404.
- ÖZYILMAZ A, ÖKSÜZ A. 2015. Determination of the biochemical properties of liver oil from selected cartilaginous fish living in the northeastern Mediterranean. J. Anim. Plant Sci. 25:160-167.
- PALMER DJ, SULLIVAN T, GOLD MS, PRESCOTT SL, HEDDLE R, GIBSON R., MAKRIDES M. 2012. Effect of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on infants' allergies in first year of life: randomised controlled trial. Brit. Med J. 344:184.
- PÉREZ F, LARQUÉ E, ZAMORA S. 2005. Calidad nutritiva de los alimentos. Tratado de Nutrición. Tomo 2. Acción Médica. pp: 619-645.
- RAI AK, SWAPNA HC, BHASKAR N., HALAMI PM, SACHINDRA NM. 2010. Effect of fermentation ensilaging on recovery of oil from fresh water fish viscera. Enzyme Microb Technol. 46(1):9-13.
- RUBIO-RODRIGUEZ N, DE DIEGO SM, BELTRAN S, JAIME I. 2012. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish byproducts: A comparison with other extraction methods. J. Food Eng. 109:238-248.
- SAHENA F, ZAIDUL ISM, JINAP S, JAHURUL MHA, KHATIB A, NORULAINI NAN. 2010. Extraction of fish oil from the skin of Indian mackerel using supercritical fluids. J. Food Eng. 99(1):63-69.
- SANTAELLA M, MARTÍNEZ GRACÍA C, PERIAGO MJ. 2007. Comparación entre lubina (*Dicentrarchus labrax*) salvaje y cultivada: composición química y variación del contenido en ácidos grasos tras el cocinado. An. Vet. Murcia, 23:105-119.
- SHAHIDI F, WANASUNDARA U. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In C. C. Akoh, & D. B. Min (Eds.), Food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology. New York, EEUU.
- TUFAN B, KORAL S, KÖSE S. 2013. The variations in proximate chemical composition and fatty acid profile indifferent parts of the thornback ray (*Raja clavata*) caught from Black Sea, Turkey. J. Aquat. Food Prod. T. 22:83-95.
- TURAN H, SONMEZ G, KAYA Y. 2007. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clayata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. J. Fish. Sci. 1(2):97-103.
- ULBRICHT, TL, SOUTHGATE DA. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. Lancet 338:985-992.
- ZHONG Y, MADHUJITH T, MAHFOUZ N, SHAHIDI F. 2007. Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. Food Chem. 104:602-608.