

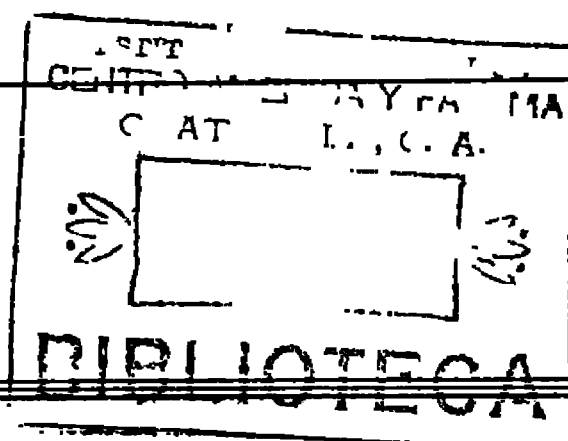
PROCEEDINGS OF THE
INTERNATIONAL CONFERENCE
ON

MARINE RESOURCES
OF THE PACIFIC

Patricio M. Arana (Editor)
1983

TRABAJOS PRESENTADOS
A LA CONFERENCIA
INTERNACIONAL SOBRE

RECURSOS MARINOS
DEL PACIFICO



Fortificación de Azúcar con Aceite de Hígado de Tiburón, para Alimentación Humana

ARMANDO LACERA RUA
*Universidad Tecnológica del Magdalena,
Santa Marta, Colombia*

LUIS A. MEJÍA, MARIO R. MOLINA Y RICARDO BRESSANI
*Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, Guatemala. C.A.*

Resumen: En este trabajo se evaluó la posibilidad de fortificar azúcar para consumo humano con aceite de hígado del tiburón negro (*Delatius licha*).

Durante la fortificación de azúcar con vitamina A utilizando aceite de hígado de tiburón se prepararon Premezclas con aceite comercial de hígado de tiburón (Pre-mezclas I y II) y con el aceite de tiburón negro crudo (Pre-mezcla III), deodorizado con tratamiento por 5 minutos (Pre-mezcla IV) y por 10 minutos (Pre-mezcla V) de vapor. Las tres últimas pre-mezclas proporcionaron una concentración entre 15 y 16.5 mcg/g en el azúcar fortificada, población de Guatemala. La variación en la potencia vitamínica encontrada en las pre-mezclas durante los meses de almacenamiento, quizás se debió a una mala distribución por efectos de viscosidad (Pre-mezcla III) o por posibles efectos de cristalización (Pre-mezcla IV y V). Los azúcares fortificados mostraron una mayor estabilidad que sus respectivas pre-mezclas durante el almacenamiento. El calentamiento durante 4 horas (105 - 110°C) de los azúcares fortificados III, IV y V sólo logró disminuir un 15% de la potencia inicial de la vitamina A, lo cual garantiza su estabilidad durante la preparación de bebidas y demás elementos calientes. Las pruebas organolépticas no detectaron diferencias significativas entre un azúcar fortificado comercialmente y los tres azúcares fortificados con aceite de hígado de tiburón negro, tanto en bebida caliente (café) como fría (limonada).

INTRODUCCIÓN

Es conocido en forma axiomática, el deficiente aprovechamiento de los recursos pesqueros por parte de los países de América Latina, con muy pocas excepciones. Aún más, gran parte de los esfuerzos tecnológicos se ven disminuidos significativamente por falta de implementación para transformar todas aquellas partes de la materia prima denominadas simplemente "desechos" o "desperdicios".

El tiburón es un recurso pesquero que se caracteriza por prestarse al aprovechamiento de todas sus partes: aletas, piel, carne, hígado

y dientes, por lo cual la rentabilidad de la pesca del tiburón debe basarse en el aprovechamiento de todo el animal, lo cual no se efectúa en nuestros países.

Con la presente investigación se intentó aprovechar el hígado del tiburón para la extracción de aceite y utilizarlo como fuente de vitamina "A" para la alimentación humana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite de los hígados del tibu-

rón negro (*Delatius licha*) y de tiburón tigre (*Galeocerdo cuvieri*).

2) Determinar la concentración de vitamina "A" en el aceite de hígado de las dos especies de tiburón.

3) Determinar la especie de tiburón cuyo hígado posee las mejores características para ser utilizado como fuente de aceite rico en vitamina "A" en la fortificación de azúcar.

SIGNIFICADO DEL ESTUDIO

En la actualidad, Guatemala importa en su totalidad la vitamina "A" sintética, en forma de palmitato de retinilo, se mezcla con el azúcar de consumo diario, como medida preventiva en la aparición o agudización de enfermedades relacionadas con su carencia (INCAP, 1974).

Por otro lado, es conocida la tendencia alcista en precio de todo producto derivado, directa o indirectamente, de la industria del petróleo, por lo cual se intentó con este trabajo disminuir en parte la necesidad de importar la vitamina "A" utilizada en programa de fortificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

A nivel de campo, se seleccionaron los hígados del tiburón tigre (*Galeocerdo cuvieri*) y del tiburón negro (*Delatius licha*), capturados en la zona del Pacífico Guatemalteco.

También se eligió un aceite comercial de tiburón (marca desconocida), en el puerto de San José, para propósitos comparativos.

Tratamiento del Hígado

1. Una vez capturados, los tiburones correspondientes fueron eviscerado y los hígados se colocaron en bolsas de polietileno, transportándose a la planta piloto en nevera de icopor con hielo, como medio de refrigeración.

2. Determinación de los contenidos de Humedad y de Grasa total de los Hígados.

Se pesaron entre 5 y 7 g de hígado fresco y en un vaso de precipitar de 150 ml se pusieron durante 16 horas en estufa con corriente de aire a $100 \pm 5^\circ\text{C}$; no se pudo utilizar horno al vacío debido a haberse constatado pérdidas de

aceites por efecto del mismo vacío. Después del horno, las muestras fueron colocadas en desecadores hasta peso constante para estimar la humedad total. La determinación de grasa se efectuó acorde al método oficial de la AOAC (1975) teniendo el cuidado de recoger todo el aceite del recipiente usado para la anterior determinación de humedad. Los vasos de precipitar respectivos fueron lavados exhaustivamente con éter dietílico y se agregaron los lavados a cada balón de reflujo, el cual se efectuó durante 16 horas, a 35°C (AOAC, 1975).

3. Determinación de Vitamina A en Hígados Homogeneizados.

Se homogeneizó en una mezcladora un gramo de hígado fresco con 50 ml de agua refrigerada, por dos minutos a baja revolución. Se lavaron cuidadosamente las paredes con 150 ml más de agua y se centrifugó por cinco minutos más. Se realizó filtración con gasa doble. Se tomó un ml de filtrado más un ml de KOH alcohólico y se calentó durante 30 minutos, en baño maría entre $58-60^\circ\text{C}$. La vitamina A se extrajo con un ml de ciclohexano y se agitó por un minuto, centrifugando después a 3.000 r.p.m., durante 10 minutos. Se tomó la fase de ciclohexano y se realizó una lectura espectrofotométrica inicial a 328 nanómetros, utilizando ciclohexano como blanco. La muestra y el blanco fueron irradiados durante 50 minutos con lámpara de luz ultravioleta y luego se hicieron lecturas espectrofotométricas a 328 nanómetros (ARROYAVE y DEFUNES, 1974, MEJIA *et al.* 1982).

Extracción del Aceite de Hígado de Tiburón

1. *Forma de extracción.* Los hígados partidos en pedazos muy pequeños fueron colocados en una rejilla de acero inoxidable, la cual a su vez se depositó en un recipiente también de acero inoxidable y se realizó la cocción y posteriormente se sometió a prensado simple. Como líquido de cocción se utilizó solución de KOH al 2%, con base en el peso de los hígados, con un tiempo de cocción de 30-45 minutos y una temperatura de 82°C (KREUZER y AHMED, 1978).

2. *Rendimiento en la extracción de aceite.* Se determinó para cada especie el volumen de aceite crudo producido en la extracción, por me-

dio de una probeta. Se dejó reposar por un día y luego se efectuó una centrifugación a 2.000 r.p.m.

3. *Almacenamiento*. Se conservaron los aceites protegidos de la acción del aire, polvo y luz en recipientes de vidrio oscuro y cerrados herméticamente.

Análisis Físicos y Químicos

Aceite de Hígado

Se determinó la densidad por medio de un picnómetro, el índice de refracción por refractometría simple y el índice colorimétrico por medio de un tintómetro Lovibond (PEARSON, 1976).

Igualmente, se determinó el índice de peróxidos y ácidos grasos libres, para establecer la estabilidad de cada aceite (PEARSON, 1976) así como, aproximadamente, el grado de insaturación y tamaño relativo de la cadena carbonada (PEARSON, 1976). Se analizó el contenido de materia no saponificable (PEARSON, 1976) para establecer el contenido de componentes que no eran triglicéridos.

La deodorización parcial (STANSBY, 1968) de los aceites de tiburón se realizó mediante inyección de vapor saturado (11 psi) bajo condiciones ambientales (alcanzando 93°C), durante 5 y 10 minutos como tiempos de deodorización. El agua de condensación fue extraída mediante una pipeta de vidrio acoplada a un sistema de vacío.

Se determinó el contenido de vitamina A en los aceites de hígado de tiburón, según el método espectrofotométrico de inactivación ultravioleta, utilizando como solvente ciclohexano y una longitud de onda de 328 nanómetros (ARROYAVE y DEFUNES, 1974). Se estableció asimismo la curva de tiempo de destrucción de cada uno de los aceites bajo irradiación de luz ultravioleta (MEJÍA *et al.*, 1982).

Fortificación de Azúcar con Aceite de Hígado de Tiburón

1. Preparación de las Pre-mezclas

Con el aceite comercial sin tratamiento de vapor se prepararon pre-mezclas con 55.3 y 28 ml de aceite (más 16.5 g de aceite de maní, Tabla iv), respectivamente. Se prepararon también pre-mezclas con 64 ml de aceite de hígado de tiburón negro (*Delatius licha*), crudo

(pre-mezcla iii) y tratado con 5 (pre-mezcla iv) y 10 (pre-mezcla v) minutos de vapor, respectivamente (Tabla iv).

La cantidad especificada en mililitros de aceites de tiburón se colocó en un matraz de 250 ml junto con 0.8 g del estabilizador (Rono-xan A. Hoffman - La Roche). Se agitó cada mezcla magnética poco a poco el azúcar, la Vitamina A pura y el aceite de tiburón con estabilizador.

Se realizó un mezclado continuo con el fin de lograr uniformidad. La pre-mezcla terminada se empacó en bolsas dobles de polietileno (ARROYAVE *et al.*, 1979).

2. Preparación de los Azúcares Fortificados

Se pesó exactamente un gramo de cada pre-mezcla y se mezcló lo más homogéneo, en cada caso, con 999 g de azúcar comercial no fortificada (ARROYAVE *et al.*, 1979).

Análisis Físicos y Químicos

1. Estabilidad Física

Azúcar iii: Cien mg de pre-mezcla más 10 g de azúcar pura, fueron mezclados y calentados (105-110°C) a tiempos diferentes (0, 2 y 4 horas). Se aplicó luego el procedimiento general para la determinación de vitamina A en azúcar fortificado (MEJÍA *et al.*, 1982).

Azúcar iv: Las pesadas y el proceso térmico fueron similares a la determinación de azúcar iii. Se aplicó el método general de determinación de vitamina A en azúcar fortificado (MEJÍA *et al.*, 1982) con la modificación de haber realizado una primera dilución a 100 ml con agua, luego se tomó una alícuota de un ml y se completó nuevamente a 100 con agua.

Se pesaron 100 mg de pre-mezcla más 100 gramos de azúcar y se hizo dilución directa a 100 con agua y sin realizar filtración se determinó el contenido de vitamina A (MEJÍA *et al.*, 1982).

2. Estabilidad Química de las Pre-Mezclas

Mensualmente y durante 3-5 meses se realizó, en cada una de las pre-mezclas, la determinación siguiente: se pesaron 50 mg de pre-mezcla en matraces aforados de 25 ml, agregando en porciones, 5 ml de agua a 60°C, con previa agitación y lavado total. Después de cinco minutos de contacto de agua con la pre-

mezcla, se agregó isopropanol hasta 25 ml. Se agitó el matraz vigorosamente y se depositó una alícuota de un ml en un matraz aforado de 10 ml, completándose el volumen a 10 con isopropanol. Las lecturas espectrofotométricas se hicieron a 326 milimicras y como blanco se utilizó isopropanol puro (ARROYAVE y DEFUNES, 1974).

3. Estabilidad Química de los Azúcares Fortificados

Durante cuatro meses, se realizó mensualmente en cada uno de los azúcares fortificados, el siguiente análisis: diez gramos del azúcar fortificado se disolvieron en agua caliente (60-80°C) en balones aforados de 100 ml. Aliquotas de 30 ml del azúcar en agua se colocaron en un embudo de decantación de 125 ml, agregándose 30 ml de alcohol a 85%, 250 microlitros de NaOH 12.5 N y 2 gotas de fenoltalina 1% en alcohol y se agitó enérgicamente. La capa superior se recogió en una probeta graduada de 50 ml. La capa inferior se recogió en otro embudo de decantación y se le agregó 20 ml de mezcla éter etílico-éter de petróleo (1:1), se repitió este proceso con 10 ml de esta mezcla y se completó un volumen de extracción total de 50 ml. En la probeta se agregaron 4 g de Na₂SO₄ anhidro, se agitó por inversión y se dejó reposar. Se tomó una alícuota de 2 ml y se colocó en un tubo de 7 ml, se le pasó corriente de nitrógeno hasta evaporación total de la mezcla éter etílico-éter de petróleo. Luego se le agregaron al residuo 2 ml de ciclohexano y se agitó durante dos minutos. La lectura espectrofotométrica se realizó a 328 milimicras; como blanco se utilizó ciclohexano (ARROYAVE y DEFUNES, 1974; MEJÍA *et al.*, 1982).

4. Aceptación Organoléptica de los Azúcares Fortificados en bebida caliente (Café)

Se utilizó un panel integrado por 23 personas del INCAP (estudiantes de nutrición, estudiantes de post-grado en ciencia y Tecnología de Alimentos, Secretarías y Conserjes). La distribución por personas de las bebidas preparadas con los azúcares fortificados (incluyendo una comercial) se realizó al azar, degustando cada semana, hasta completar los cuatro azúcares. Se utilizó el test de Cochran (MARASCU-

LO y MC SWEENEY, 1979) para determinar la aceptabilidad en los azúcares fortificados.

En bebida fría (Limonada)

El panel utilizado estuvo integrado por las mismas 23 personas del ensayo anterior y la prueba se realizó bajo idénticas condiciones de distribución, tiempo de degustación y análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Materia Prima

Características de los Hígados de Tiburón. Los resultados del contenido porcentual de humedad, extracto etéreo, concentración vitamínica en hígado fresco homogeneizado y volumen de extracción de aceite (ml/100 gramos) durante la caracterización de los hígados de tiburón negro (*Delatius licha*) y tiburón tigre (*Galeocerdo cuvieri*) se presentan en la Tabla 1.

Se observa que existe una relación inversa entre los contenidos de humedad (en base humedad) y extracto etéreo (en base seca) de los hígados de las dos especies de tiburón. Al tiburón negro le correspondió el máximo de humedad (49.12%), aproximadamente el doble de la humedad del tiburón tigre (25.50%). Por otro lado, el extracto etéreo del hígado de tiburón negro (35.50%) es aproximadamente la mitad del correspondiente al tiburón tigre (67.23%). Sin embargo, aunque las cantidades absolutas de aceite extraídas por 100 gramos de hígado (base humedad) sean diferentes para las dos especies, resulta de igual magnitud la recuperación de aceite al referir ésta a la cantidad respectiva del extracto etéreo (en base seca) (39.72% en el tiburón negro y 38.82% en el tiburón tigre).

En relación a la concentración de vitamina A en los hígados homogeneizados, es notable la concentración de vitamina A (base humedad) en el hígado de tiburón negro, en una proporción 3 veces mayor a la del tiburón tigre (489,406 y 165,307 microgramos de vitamina A/100 g, respectivamente).

Deodorización parcial de los aceites de Hígado. Esta operación se realizó en los aceites de hígado de tiburón negro y tiburón tigre, durante 5 y 10 minutos (Tabla II). No se ensayaron más tiempos en virtud de los volúmenes de agua de condensación observados a los

Tabla I
ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LOS HIGADOS
DE TIBURON NEGRO Y TIBURON TIGRE

Componente	Hígado	
	Tiburón Negro (<i>Delatus licha</i>)	Tiburón Tigre (<i>Galeocerdo cuvieri</i>)
Humedad, % (Base Húmeda)	49 12	25 50
Extracto Etéreo, % (Base Seca)	35.50	67 23
U.I. Vit A/100 g (Hígado Homogenei- zado)	1,629,722 (489,421 07 microgra- mos Vit. A/100 g)	550,472 (165,397 microgramo Vit. A/100 g)
Acete Extraído del hígado con KOH 2% (ml/100 g)	14.10	26 1

Tabla II
CONTENIDO DE VIT. A EN ACEITES DE HIGADO DE TIBURON,
CON EXPOSICION A VAPOR DE AGUA (11 psi, 93°C)

Tiempo de vapor de agua (Min)	Acete de Hígado					
	Comercial		Tiburón Negro		Tiburón Tigre	
	U I Vit A	microgr	U I Vit A	microgr	U I Vit A	microgr
0	88,465	26,566	4,030,050	1,210,225	987,951	296,682
5	—	—	4,163,081	1,250,174	1,134,679	340,744
10	—	—	4,538,697	1,362,972	1,105,334	331,932

10 minutos de tratamiento. En general, la concentración de vitamina A (microgramo /dl) en los aceites no disminuyó, sino al contrario mejoró con el aumento del tiempo de inyección de vapor.

Quizás esto se deba al efecto beneficioso del vapor en el rompimiento de micelas existentes en los aceites crudos, y que tal como se observó, se depositan al fono del recipiente y son fácilmente eliminadas luego por filtración.

Se nota la gran diferencia en el contenido de vitamina A en las 3 clases de aceites. El bajísimo valor de vitamina A en el aceite co-

mercial puede deberse a haber utilizado una especie de tiburón con alto contenido de aceite extraíble pero de baja concentración vitamínica, pero que por condiciones comerciales haya sido mezclado con aceite lavador, tipo aceite de bacalao (SIANSBY, 1968)

Se deduce claramente, con base en los resultados de rendimiento (14.10 ml/100 g de hígado), que el tiburón negro es una especie de tiburón con hígado de bajo contenido de aceite extraíble pero con una alta concentración de vitamina A (1,210,225 microgramos vitA/dl), cuatro veces mayor a la del tiburón tigre (296,682 microgramos vitA/dl), al cual se

puede considerar, por consiguiente, como una especie con hígado de alto contenido de aceite extraíble y bajo contenido de vitamina A.

Curvas de tiempo de destrucción de Vitamina A en aceite de Hígado de Tiburón bajo irradiación de Luz U.V.

Estas curvas fueron determinadas tanto en el aceite comercial de hígado de tiburón como en los homogeneizados y en los aceites de hígado de los tiburones negro y tigre (Figuras 1, 2 y 3). Por los datos mostrados en la Figura 1, se puede deducir que el tiempo necesario para destrucción total de la vitamina A bajo irradiación con luz U.V. es de 50 minutos, tanto en el aceite comercial como en los homogeneizados.

Por encima de este tiempo hay pequeños ascensos y descensos posiblemente debidos a compuestos formados por una interacción solvente-pigmento de los aceites, que puede ser catalizada por la luz U.V. Se observa que este tiempo de destrucción es independiente de la especie de tiburón y de la forma de extracción de aceite de hígado (por homogeneización o por extracción con KOH) (Figura 1).

Así mismo, a partir de las Figuras 2 y 3 se deduce que el tiempo de destrucción es independiente también del tiempo de inyección de vapor. Quizás, entonces, sean las características químicas y físicas de los triglicéridos y demás componentes los factores que más acondicionen el tiempo de destrucción de la vitamina A presente en el aceite de los hígados analizados.

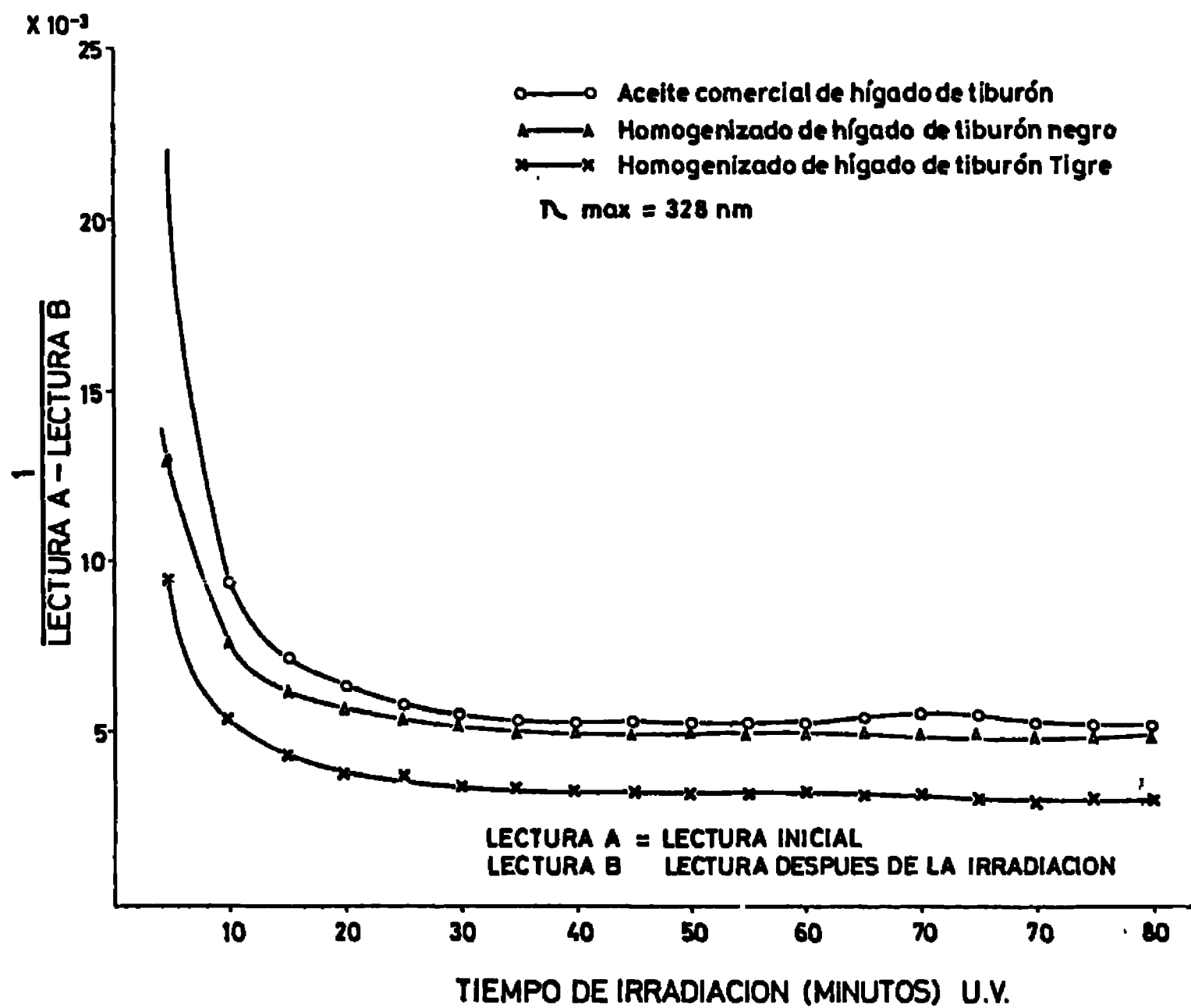


Fig. 1. Curva de destrucción de vitamina "A" en aceite comercial de hígado de tiburón, en hígados homogeneizados de tiburones negro y tigre sometidos a luz ultravioleta por diferentes tiempos.

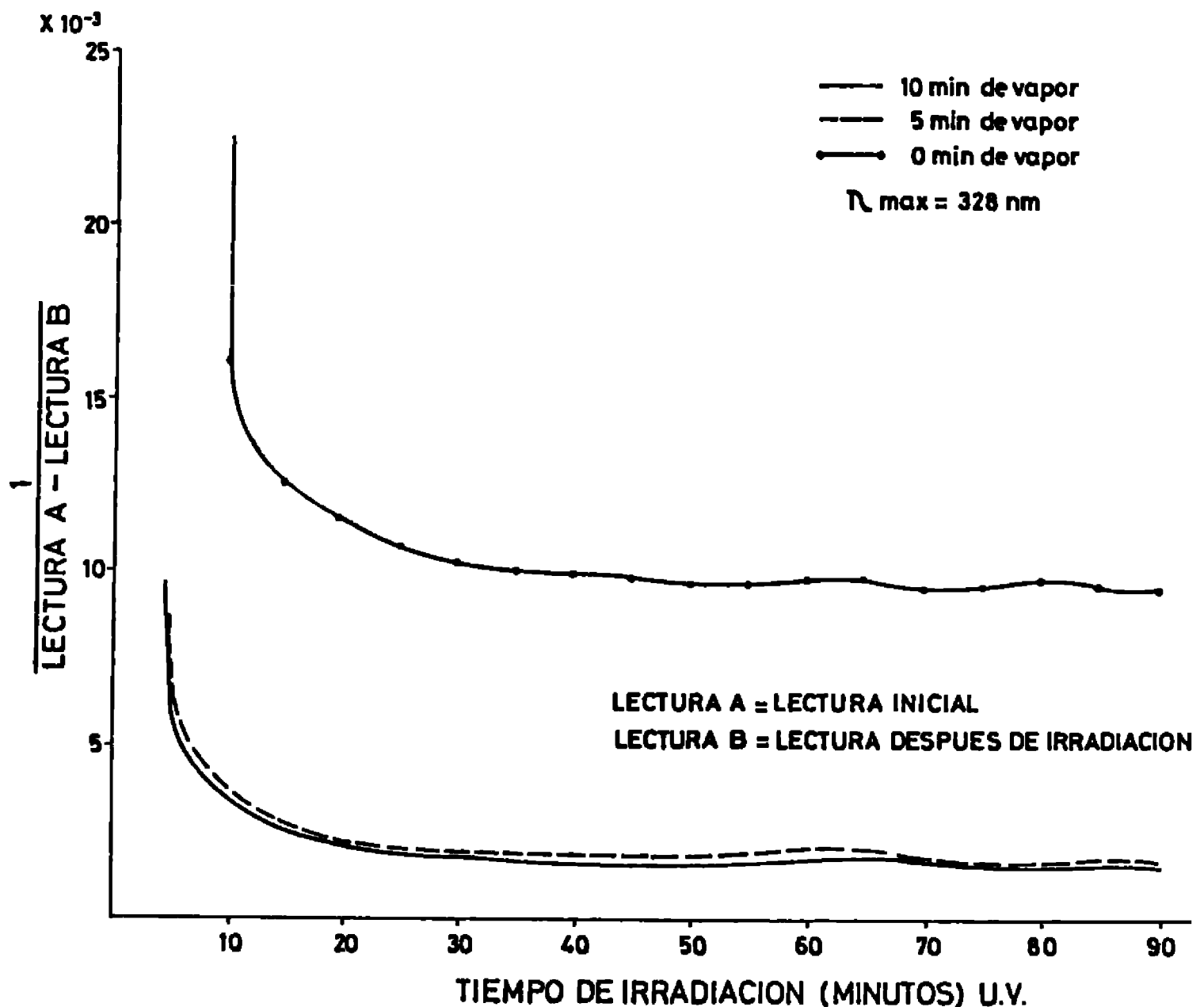


Fig. 2. Curva de destrucción de vitamina "A" en aceite de hígado de tiburón (*Delatius licha*) tratado a diferentes tiempos con vapor de agua, y sometido a irradiación con luz ultravioleta por diferentes períodos.

Propiedades Físicas y Químicas de los Aceites de Hígado de Tiburón

Las propiedades físicas (densidad, índice de refracción, color) y químicas (ácidos grasos libres, índice de peróxido, índice de saponificación, material no saponificable e índice de yodo) de los aceites se presentan en la Tabla III.

La menor densidad la presentó el aceite comercial (0.904 g/ml) y la mayor el aceite de tiburón tigre con 5 minutos de vapor (0.934). En general existe un aumento de la densidad en los aceites sujetos al tratamiento de vapor, debido posiblemente a la adhesión de películas de agua en la fase aceitosa (STANSBY, 1968).

El menor valor de índice de refracción (1.47031) fue determinado en el aceite comercial de hígado de tiburón, mientras que los

otros aceites, independientemente de la especie de tiburón y del tratamiento con vapor, mostraron un mayor e idéntico valor de índice de refracción, 1.48036, similar al del aceite de sábalo americano (*Menhaden*) (STANSBY, 1968).

El análisis de color utilizando el tintómetro demostró que el color predominante en los aceites es el amarillo, seguido del rojo de menor intensidad. Significa una gran concentración de pigmentos amarillos tipo carotenoides, por ejemplo, beta-caroteno (FISHER *et al.*, 1951, STRAIN, 1944). En la interpretación visual del color se consideró la intensidad de coloración anaranjada del aceite como la combinación rojo y amarillo iniciales. A partir de la tintometría se puede inferir asimismo qué tipos de materiales se requieren para la decolo-

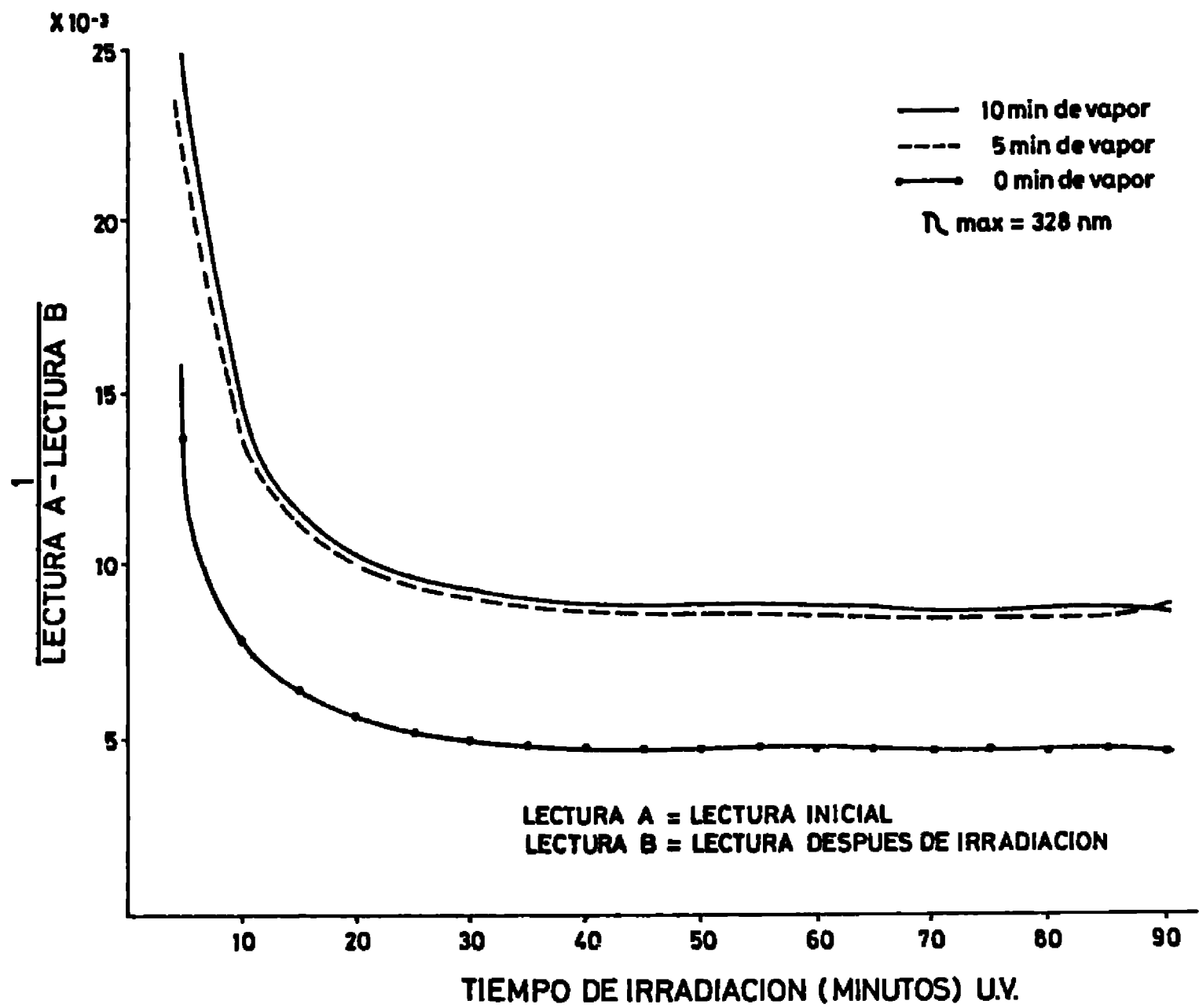


Fig. 3. Curva de destrucción de vitamina "A" en aceite de hígado de tiburón tigre (*Galeocerdo cuvieri*) tratado a diferentes tiempos con vapor de agua, y sometido a irradiación con luz ultravioleta por diferentes períodos.

ración (blanqueado) de los aceites de hígado de tiburón.

Desde este punto de vista, los aceites comerciales, A.H.T.N.* crudo y A.H.T.T.**, con 10 minutos de vapor son los que necesitan menos blanqueado (BAILEY, 1948).

El mayor valor de ácidos grasos libres (A.G.L.) lo presentó el aceite comercial y el menor el aceite crudo de hígado de tiburón negro. Existe un incremento en los contenidos de A.G.L., en el aceite de hígado de tiburón negro (A.H.T.N.) y en el aceite de hígado de tiburón tigre (A.H.T.T.), con el tratamiento de vapor, lo cual sugiere incrementos en la tasa de hidrólisis por el calor en los aceites durante la deodorización parcial. El agua de condensación formada durante esta opera-

ción también es un factor que hay que tener en cuenta por la posibilidad de formación de emulsiones permanentes de aceite en agua de difícil remoción durante los procesos de filtración y centrifugación (STANSBY, 1968); pero que tienen efectos deletéreos durante el almacenamiento.

Sólo el aceite comercial de hígado de tiburón se encuentra cercano al intervalo 0.5-1.5% (como ácido oléico) donde la acidez de la mayoría de los aceites comienza a ser notable al paladar, aunque algunos aceites completamente rancios sólo muestran un mínimo de acidez (PEARSON, 1976).

Los índices de saponificación de los aceites se encuentran entre 11.422 (A.H.T.T., con cinco minutos de vapor) y 182.66 (A.H.T.N., con 10 minutos de vapor). El A.H.T.N. incrementó el índice de saponificación con el trata-

*A.H.T.N. = Aceite de hígado de Tiburón Negro
**A.H.T.T. = Aceite de hígado de Tiburón Tigre

Tabla III
PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE ACEITES DE HIGADO DE TIBURON

Componente	Aceite uno	Aceite dos	Aceite tres	Aceite cuatro	Aceite cinco	Aceite seis	Aceite siete
Densidad (g/c.c.)	0.904	0.919	0.925	0.925	0.917	0.934	0.924
Tintometría:							
Rojo	0.90	1.7	1.1	1.0	1.9	2.6	1.2
Amarillo	4.0	21.0	30.0	30.0	30.0	30.0	12.0
Interpretación visual:							
Anaranjado	0.9	1.7	1.1	1.0	1.9	2.6	1.20
Amarillo	3.1	19.3	28.9	29.0	28.1	27.4	10.8
Índice de Refracción (N _D ²⁰)	1.47031	1.48164	1.48036	1.48036	1.48036	1.48036	1.48036
A.G.L. (como % de ácido oléico)	0.463	0.097	0.118	0.126	0.157	0.172	0.186
Índice de Peróxido (CO ₂ /							
Kg muestra)	64.02	51.50	35.12	35.60	30.11	48.66	26.70
Índice de Saponificación							
mgr KOH	151.18	164.15	176.18	182.66	177.43	158.68	114.22
Materia No Saponificable %	3.65	2.83	5.88	6.12	2.43	2.25	2.19
Índice de Yodo	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.	Máx. - Mín.
(Método de Hanus)	68.48-65.33	115.33-112.0	111.39-99.12	113.63-104.61	103.72-97.20	135.80-114.48	142.0-137.11

Uno: Aceite Comercial de Hígado de Tiburón
 Dos: Aceite Crudo de Hígado de Tiburón Negro (A.H.T.N.)
 Tres: A.H.T.N., con 5 minutos de vapor
 Cuatro: A.H.T.N., con 10 minutos de vapor

Cinco: Aceite Crudo de Hígado de Tiburón Tigre (A.N.T.N.)
 Seis: A.H.T.T. con 5 minutos de vapor
 Siete: A.H.T.T., con 10 minutos de vapor
 A.G.L: Ácidos Grasos Libres

miento de vapor, pero el A.H.T.T. lo disminuyó con dicho tratamiento. El comportamiento de A.H.T.N. puede explicarse con base en el aumento, con la inyección de vapor, de A.G.L. de menor peso molecular promedio, los cuales son necesarios neutralizar junto con los ácidos grasos (ésteres) (JENKINS *et al.*, 1951, PEARSON, 1976). La disminución del índice de saponificación con el tratamiento de vapor en el A.H.T. indica un aumento en el peso molecular promedio de los A.G.L. y de los ácidos grasos combinados en forma de glicéridos (JENKINS *et al.*, 1951, PEARSON, 1976).

Los porcentajes de materia no saponificable (M.N.S) cubren un intervalo entre 2.19 (A.H.T.T., con 10 minutos de vapor) y 6.12 (A.H.T.N., con 10 minutos de vapor). La M.N.S. en los aceites puede deberse a la presencia de alcoholes superiores (alcoholes químico, batílico y selácico), hidrocarburos (escualeno) y colesterol (BALAKRISHNAN and CHATTOPADHYAY, 1979, BANKS, 1939). Existe un incremento del contenido de M.N.S. en el A.H.T.N., con el tiempo de inyección de vapor, lo que indica también el posible rompimiento de sus emulsiones en la fase aceitosa por el calor, haciéndolas fácilmente extraíbles después de la determinación del índice de saponificación (PEARSON, 1976). La aplicación de vapor prácticamente no tuvo efectos sobre el contenido de M.N.S. en el A.H.T.T. Estos resultados concuerdan con la mayor aparición de pigmentos durante el homogeneizado del hígado y determinación de vitamina A, en el A.H.T.N.

El menor valor de índice de yodo (I.Y.) fue representado por el aceite comercial (68.48-65.33) y el mayor por A.H.T.T. (142.00-137.11). Los tratamientos de vapor no tuvieron, aparentemente, efectos en los I.Y., con la excepción del bajo valor presentado por el A.H.T.T. (103.72-97.20). La proporción de ácidos grasos no saturados que están presentes en el A.H.T.N., en estado libre y/o combinados (JENKINS *et al.*, 1951), es menor que la proporción correspondiente en el A.H.T.T., según se desprende de los respectivos valores de I.Y. y A.G.L.

Los valores de índice de peróxido (I.P.) están comprendidos entre 26.70 y 64.02 (m.e.q. peróxido O₂/kg de aceite). Acorde a la

literatura ninguno de los aceites presentó un estado óptimo de fescura, debido a que los valores de peróxido son mayores de 10 m.e.q./kg (PEARSON, 1976).

Hay un efecto positivo con la inyección de vapor en los aceites, con excepción del resultado del A.H.T.T. con 5 minutos de vapor. Los valores son mayores o ligeramente menores a 40 m.e.q./kg, valor donde con frecuencia comienza a ser notable un gusto a rancio (PEARSON, 1976). Pero hay que tener en cuenta en la interpretación de estos datos que los aceites fueron sometidos a un período de almacenamiento de siete meses, condición favorable para la formación de peróxidos (véase A.G.L.).

Composición Básica de las Pre-Mezclas de los Azúcares Fortificados

En la Tabla IV se presentan los ingredientes de las pre-mezclas I y II (aceite comercial) y III, IV y V (A.H.T.N.), crudo, con cinco y diez minutos de vapor, respectivamente.

Las pre-mezclas I y II fueron preparadas al comienzo de la presente investigación con el fin de fijar las condiciones más adecuadas para la fortificación. Las pre-mezclas III, IV y V se realizaron de tal forma que se obtuviera una concentración de vitamina A de 15,015-16,517/g en la pre-mezcla y de 15-17 microgramo/g en el azúcar fortificado diseñada para el programa nacional de fortificación de azúcar con vitamina A en Guatemala (ARROYAVE, *et al.*, 1979).

La escogencia del aceite de tiburón negro para la fortificación final se realizó con base en sus menores valores de A.G.L. e índice de yodo y a su mayor concentración de vitamina A, que facilitó una sustitución mayor de la vitamina comercial. La sustitución es del orden del 10% con base en el peso original de vitamina A comercial en las pre-mezclas (210 g) y del 5% con base con el contenido de vitamina A en el aceite (ARROYAVE *et al.*, 1979). También elaboraron pre-mezclas con 75 y 100 ml de aceite, las cuales mostraron una apariencia pastosa, altamente viscosa; lo que implica un problema para obtener una mayor sustitución de vitamina A comercial por la del aceite de tiburón negro.

Tabla IV
COMPOSICION BASICA DE LAS PRE-MEZCLAS PARA FORTIFICACION
DE AZUCAR CON ACEITE DE HIGADO DE TIBURON

Ingredientes	Pre-Mezcla				
	I	II*	III	IV	V
g					
Palmitato de Retinol ¹	160.76	143.93	190.0	190.0	190.0
Aceite de Hígado	25 (28ml)	50 (56ml)	58.8 (64ml)	59.2 (64ml)	59.2 (64ml)
Estabilizador	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Azúcar	814.14	789.47	751.10	750.7	750.7
TOTAL	1000	1000	1000	1000	1000
U.I. Vit. A	40,280,000	36,000,000	50,079,232**	52,500,000**	50,404,766**
Microgramo Vit. A	12,096,096	10,810,810	15,761,110	15,765,766	15,760,524

*Incluye 16.5 g de aceite de maní
**Aproximadamente el 5% de esta cantidad proviene del aceite de hígado de tiburón
I y II con aceite comercial de hígado de tiburón
III, IV y V con aceite de tiburón negro (crudo, con 5 y 10 minutos de vapor).
¹Basf, Alemania
Ronoxan A de Hoffman - La Roche

Potencia y Estabilidad vitamínicas de las pre-mezclas y del Azúcar Fortificado durante su almacenaje, en base a la concentración inicial respectiva

La variación de la concentración de vitamina A en las pre-mezclas, a diferentes tiempos de almacenaje se presentan en la Tabla v. Las pre-mezclas I y II no mostraron pérdidas apreciables durante los meses de almacenaje, dado que la variación en los valores parece estar comprendida dentro del error experimental de la propia determinación.

La pre-mezcla III mostró una variación de un 17.37% al primer mes, de 11.80% a los dos meses y 7.30% a los tres meses; las variaciones en la premezcla IV fueron de 6.37% en el primer mes, de 27.76% en el segundo mes y de 9.70% al tercer mes, la pre-mezcla V tuvo variación en el primer mes de 23.24%, en el segundo mes de 29.62% y de 18.30% en el tercer mes. Las diferencias obtenidas durante el almacenaje de la pre-mezcla II no son considerables y pueden deberse a un muestreo inapropiado causado por una deficiente distribución de vitamina en la pre-mezcla debido a la viscosidad propia del aceite. En la variación de la potencia de vitamina A de las pre-mezclas IV y V pueden considerarse diferentes aspectos.

Como se mencionó, el agua de condensación en el aceite quizás sea un factor importante, debido a que se observó un endurecimiento en las pre-mezclas, causado quizás por una cristalización, por lo que la homogeneización de las muestras usadas en las determinaciones durante el almacenaje es un factor importante.

Desde este punto de vista, las variaciones deben considerarse sólo como un problema físico momentáneo en las pre-mezclas. El efecto del etéreo por oxidación u otros fenómenos físico-momentáneo en las pre-mezclas. El efecto de la naturaleza química de insaturación de los ácidos grasos combinados y libres en el A.H.T.N.; pero estos efectos no parecen haber surgido en las pre-mezclas I, II y III en igualdad de condiciones de preparación, almacenamiento y análisis.

La potencia y estabilidad vitamínica de los azúcares fortificados con las pre-mezclas I, II, III, IV y V se resumen en la Tabla v. Los azúcares fortificados II y III mostraron gran estabilidad durante los tres primeros meses de almacenamiento. Al cuarto mes las variaciones fueron 44.05 y 36.38%, respectivamente. En los azúcares fortificados III y IV es notable la estabilidad durante el primer y tercer mes de almacenamiento. En ambos casos. los valores obtenidos en la determinación inicial deben considerarse debido a una deficiente homoge-

Tabla V
POTENCIA Y ESTABILIDAD VITAMINICAS DE AZUCARES
FORTIFICADOS CON A.H.D.T.* MÁS VIT. A (BASF)

Tiempo de Almacenaje (meses)	Azúcar Fortificada					
	I		II		A.F.I.S.	
	A**	B***	A**	B***	A**	B***
0	74.72	22.35	80.12	24.06	51.55	15.48
1	75.84	22.78	66.50	19.79	44.02	13.22
3	66.18	19.87	77.11	23.11	39.03	11.72
4	41.64	12.51	50.98	15.31	32.94	9.90

	Azúcar Fortificada					
	III		IV		V	
	A	B	A	B	A	B
0	60.17	18.07	81.54	24.50	49.50	14.83
1	44.97	13.50	47.82	14.36	46.87	14.07
3	44.65	13.41	42.91	12.89	34.36	10.32

*Aceite de Hígado de Tiburón
**U.I. Vit. A/g de azúcar
***Microgr. Vit. A/g de azúcar
A.F.I.S. Azúcar fortificada preparada en el ingenio "El Salto", con Vit. "A" (Palmitato de retinol) comercial.

neización con el efecto ulterior de haber tomado una muestra no representativa.

Se comprobó este hecho, pues durante la prueba de estabilidad a los tres meses del azúcar fortificada IV, con 10 gramos de muestra (INCAP, 1974) el valor de la determinación fue de 8.95 mcg/g; pero al escoger 20 g de muestra, con el objetivo de disminuir el error de distribución, la determinación fue de 12.89 mcg/g. Por otro lado, los valores de estabilidad al primer y tercer mes de almacenamiento se correlacionan más con los de 15.04 y 15.77 mcg/g de azúcar obtenidos con las pre-mezclas II y III (Tabla IV). En el azúcar fortificada V también hubo gran estabilidad al primer mes de almacenamiento, con pérdidas del 30% al tercer mes, similar al comportamiento durante el almacenamiento de una muestra de azúcar fortificada con 15 microgramos de vitamina A comercial en el ingenio El Salto (pérdidas de potencia de vitamina A de 14.6% al primer mes y de 24.3% al tercer mes).

Se deduce claramente que la estabilidad de los azúcares fortificados es mayor que el de la respectiva pre-mezcla; por otro lado, las pre-mezclas y azúcares fortificados II y III de-

muestran que en un menor índice de yodo es necesario para obtener gran estabilidad durante el almacenaje (Tablas III, V y VI). Las características de olor y presentación de los azúcares fortificados resultaron excelentes y se observó un mejoramiento del "Olor a Azúcar" conforme transcurrían los meses de almacenamiento; mejoramiento más pronunciado en los azúcares fortificados con aceite de hígado sometidos a inyección de vapor. Quizás este mejoramiento se deba a la obtención de una volatilización de los A.G.L., u otros compuestos responsables del olor, a través del tiempo. Las pre-mezclas sí retuvieron, en mayor o menor grado, el olor característico de los aceites y algo de la consistencia pastosa, que no fueron óbice para la preparación de un azúcar fortificada de apariencia netamente cristalina.

*Estabilidad al Calor
de Azúcares Fortificados*

Las potencias vitamínicas de los azúcares fortificados con A.H.T.N. (crudo y con 5 minutos de vapor), sometidos a una temperatura entre 105 y 110°C por diferentes tiempos, se pre-

sentan en la Tabla vi. El calentamiento durante 4 horas sólo disminuyó en un 15% la potencia vitamínica de la concentración inicial del azúcar fortificada, preparada a partir de la pre-mezcla iii. El ensayo de estabilidad térmica con el azúcar fortificada iv demostró una vez más la importancia de la toma de muestra y forma de análisis.

Tabla VI
DETERMINACION DE POTENCIA
DE VIT. A EN AZUCAR FORTIFICADA
CON ACEITE DE HIGADO
DE TIBURON NEGRO A 105-110°C

Tiempo de Calentamiento (hr)	U.I. Vit. A/g azúcar	Microgr Vit. A/g azúcar
AZUCAR III		
0	408.50	122.67
2	385.0	116.0
4	347.0	104.18
AZUCAR IV*		
0	38.16	11.46
2	10.0	3.00
4	3.17	1.0
AZUCAR IV**		
0	38.16	11.46
1/2	39.3	11.80
2	40.07	12.03

*Se utilizaron 10 g de muestra y se efectuó filtración
**Se utilizaron 20 g de muestra y no se efectuó filtración

Durante las tres primeras determinaciones, con 10 gramos de muestra, fueron adsorbidos agregados aceitosos al papel durante la filtración. Es así que el valor obtenido a las 4 horas de calentamiento (1.0 mcg vit. A/g) reflejaba una pérdida de 91.7% potencia de vitamina A. Sin embargo, cuando se realizó el análisis con 20 gramos de azúcar y sin filtración no se pudo demostrar ninguna pérdida durante las dos horas de calentamiento. Por lo cual es necesario implementar una mejor forma de mezclado para obtener una mayor distribución y efectuar una adecuada dilución de la pre-mezcla en el resto del azúcar. Estos resultados sugieren que el tratamiento térmico

suministrado a los azúcares fortificados con A.H.T.N., durante las preparaciones de bebida y demás alimentos para la población, no tendría efectos negativos en la potencia de la vitamina A. Las pruebas físicas cualitativas realizadas en bebida caliente (café) no mostraron nada anormal en lo que concierne a disolución y dispersión del azúcar en el líquido caliente. En limonadas sometidas a 8-10°C por refrigeración durante 24 a 36 horas, se observaron pequeños agregados aceitosos, lo que sugiere una incompleta dispersión en frío.

Aceptación Organoléptica de los Azúcares Fortificados

1. En Bebida Caliente (Café)

Para el análisis de los resultados se utilizó el test de Cochran (MARASCUILLO y Mc SWEENEY, 1979). Los resultados, sobre puntaje de 23, fueron de 23 para el azúcar comercial y 22 para los azúcares fortificados iii, iv y v, respectivamente. Los resultados muestran que no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en el sabor del café endulzado con las cuatro clases de azúcares.

2. En Bebida Fría (Limonada)

La Limonada endulzada con el azúcar comercial y los azúcares fortificados iii y iv obtuvo una puntuación de 22; mientras aquella endulzada con el azúcar fortificado iv obtuvo una puntuación de 23. Estos resultados demostraron también que no existen diferencias significativas ($P > 0.05$) en el sabor de la limonada cuando se endulza con cualquiera de las cuatro clases de azúcar.

Ambas pruebas de degustación sugieren, en primera instancia, la poca importancia de la deodorización parcial del aceite de hígado de tiburón negro a los niveles de aceite utilizados. Sin embargo, además de disminuir olores desagradables en el aceite y en las pre-mezclas, la deodorización disminuyó también los niveles de índices de peróxido y permitió una mejor determinación de la vitamina A (por rompimiento de micelas); pero hay que tener en mente los posibles efectos de la condensación del vapor en el aceite sobre una posible cristalización de las pre-mezclas y azúcar fortificada.

CONCLUSIONES

La eficiencia de extracción de aceite en el hígado de tiburón negro (*Delatius licha*) es similar a la encontrada para el hígado del tiburón Tigre (*Galeocerdo cuvieri*), cuando se expresa en base al contenido del extracto etéreo de cada una de las dos especies. Existen diferencias en el contenido de vitamina A en homogeneizado y aceite de hígado de los tiburones negro y tigre (3 y 4 veces mayores en muestras del primer material).

Existe una total independencia entre el tiempo de destrucción de vitamina A por radiación de luz ultravioleta, especie de tiburón, forma de extracción y tiempo de inyección de vapor durante la deodorización parcial de los aceites. Se sugiere, por lo tanto, que las características químicas y físicas de los triglicéridos son los factores de mayor importancia en el citado tiempo de destrucción de la vitamina A.

La escogencia del aceite de tiburón negro (*Delatius licha*), para la fortificación de azúcar con vitamina A, se basó en sus menores valores ácidos grasos libres (A.G.L.) e índice de yodo, y mayor concentración de vitamina A. La sustitución de la vitamina A comercial por la proveniente del aceite de hígado de dicha especie de tiburón es del orden del 10%, en base al peso original de vitamina A comercial y del 5% en base a las U.I. de dicha vitamina; una sustitución mayor presentaría problemas relacionados con la viscosidad del aceite.

Durante el almacenamiento de premezcla de azúcar fortificada con vitamina A usando el aceite de hígado de tiburón, se observó cristalización en aquellas preparadas con el aceite parcialmente deodorizado, por lo que la homogeneización es un aspecto importante para la toma de muestra y determinación de vitamina A, sea en las pre-mezclas o en el azúcar fortificado, el cual presentó una mayor estabilidad en relación a las premezclas originales. Un menor índice de yodo probó ser un factor necesario para obtener estabilidad durante los meses de almacenamiento de la pre-mezcla o del azúcar.

El calentamiento entre 105-110°C, durante 4 horas del azúcar fortificado sólo logró disminuir en 15% la potencia vitamínica, lo que sugiere una gran estabilidad durante la preparación de bebidas y otros alimentos calientes.

El azúcar fortificado con vitamina A usando aceite sometido a inyección de vapor, mostró durante el almacenamiento un mejoramiento en las características de olor y presentación; quizás debido a efectuarse una volatilización de A.G.L. durante este tiempo, proceso que no se observó en el caso de las premezclas.

No hubo diferencias significativas entre los sabores de bebidas calientes (café) y fría (limonada), endulzadas con azúcares fortificados con aceite de hígado de tiburón negro, y azúcar comercial fortificado con la vitamina A comercial.

RECOMENDACIONES

El método de extracción de aceite de hígado de tiburón utilizado en este trabajo reúne los aspectos de temperatura óptimos; sin embargo, sería conveniente encontrar alternativas tecnológicas de diseño que mejoren la eficiencia de recuperación del aceite de hígado de tiburón extraído.

Efectuar estudios más detallados sobre la tecnología de fortificación de azúcar usando el aceite de hígado de tiburón con la finalidad de mejorar la apariencia de las pre-mezclas y poder obtener así una mayor sustitución de vitamina A comercial por la contenida en los aceites de hígado de tiburón negro; a estos esfuerzos debería acompañarse la búsqueda de otras especies de tiburón con un contenido mayor de vitamina A en su aceite.

Implementar mejoras en el proceso de deodorización parcial del aceite de hígado de tiburón por inyección de vapor, con el fin de corregir la tendencia a cristalización presentada por las pre-mezclas preparadas, posiblemente debido a la acción del agua de condensación.

BIBLIOGRAFÍA

- ARROYAVE, G., J.R. AGUILAR, M. FLORES y M.A. GUZMÁN, 1979. Evaluación del programa nacional de fortificación de azúcar con vitamina "A". Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., USA.
- ARROYAVE, G. y G. DEFUNES, 1974. Enriquecimiento de azúcar con vitamina "A". Método para la

- determinación cuantitativa de retinol en azúcar blanca de mesa
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), 1975. Official methods of the AOAC. 12 ed. Washington D.C. 1094 pp
- BAILEY, A E , 1948 Cottonseed and cottonseed products Their chemistry and chemical technology Interscience Publisher Inc., New York, London. 936 pp
- BALAKRISHNAN, N and A B CHATTOPADHYAY, 1979 II Development of pickled products from fish. En Proceeding of the first Indian Convention of food Scientist and Technologists. II N° Inst , Mysore, India
- BANKS, S A , 1939 II Rancidity in fat Food Investigational Report H.M. Stationery office, London, 49 pp
- FISHER, L R , S K KOM and S Y. THOMPSON, 1951 Distribution of vitamin "A" in the organs of marine crustacea. Biochem. J , 49
- INSTITUTE OF NUTRITION OF CENTRAL AMERICA AND PANAMA (INCAP) 1974 Fortification of sugar with vitamin "A" in Central America and Panama. Guatemala, Central America, 34 pp
- JENKINS, G L., A G. DU MEZ, J E CHRISTIAN y G P. HAGER 1951. Química farmacéutica cuantitativa. Editorial Atlante, S.A. México D F. 496 pp
- KREUZER, R. y R AHMED, 1978 Aprovechamiento y comercialización del tiburón. FAO CCL UNC-TAD/GATT, Rome
- MARSCUILO, L.A and M Mc SWEENEY, 1979 Non parametric and distribution-free-methods for the social science. Brooks/Cole Publishing Company, Monterey, California
- MEJÍA, L A , H. FLÓREZ, C O. CHISCHESTER, G ARROYAVE, J GLOVER and J A. OLSON, 1982 Chemical methodology for the assement of vitamine a consultative group The Nutrition Foundation, New York, (en prensa)
- PEARSON, D , 1976. The chemical analysis of foods 7th ed Longman Group Limited, London
- SIANSBY, M.E., 1968. Tecnología de la industria pesquera Editorial Acribia, Zaragoza
- SIRRAIN, H H , 1944 Chloroplast pigments Ann. Rev Biochem , 13. 591-610