

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**"Elaboración de Leche Pasteurizada Enriquecida con
Acidos Grasos Poliinsaturados EPA (Eicosapentaenoico)
y DHA (Docosahexaenoico) provenientes del aceite
semirrefinado de pescado"**

**Tesis para optar el título de:
Ingeniero en Industrias Alimentarias**

Br. Flor de María Vásquez Castillo

LIMA - PERU

2,001

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA – LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

“ELABORACIÓN DE LECHE PASTEURIZADA ENRIQUECIDA CON ACIDOS
GRASOS POLIINSATURADOS EPA (EICOSAPENTAENOICO) Y DHA
(DOCOSAHEXAENOICO) PROVENIENTES DEL ACEITE SEMIRREFINADO DE
PESCADO”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Flor de María Vásquez Castillo

SUSTENTADA Y APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO

Ing. Miguel Lora De Saint Paulet
Presidente

Ing. Abel Sifuentes Villanueva
Jurado

Ing. Ritva Repo Carrasco
Jurado

Ing. Fanny Ludeña Urquiza
Patrocinador

PhD. Sergio Rojas Montoya
Patrocinador

La Molina – Perú
2001

A Dios, a la Virgen María, a los Santos,
Santas y ángeles del cielo.

A mis padres: Germán y Rosa,
a mis hermanos: David, Rosario y Germán

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Fanny Ludeña U., al Dr. Sergio Rojas, patrocinadores del presente trabajo de investigación.

A la Ing. Liliana Castillo S., quien formó parte del equipo investigador por su apoyo y asesoría técnica en la realización de la presente investigación.

A la Ing. María Gárate y a todo el personal de la Planta Piloto de Leche de la UNALM.

A cada uno de los profesores, alumnos y trabajadores de la Facultad de Industrias Alimentarias.

Al Ing. Alberto Espinoza, a la familia Calmet Ríos, al Sr. Jorge Maurial.

Al Ing. Enrique Suito de la empresa Operaciones Pesqueras

A mis amigos de la Pastoral Universitaria, a la Hna. Nancy Llerena, al Rvdo. Padre Antonio Arana s.j.

A todas las personas que de una u otra manera ayudaron a la culminación del presente trabajo.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Producción de leche fresca en el Perú y el mundo	3
2.2 Producción de aceite de pescado	4
2.3 Acidos Grasos Poliinsaturados Omega-3	8
2.3.1 Fuentes de ácidos grasos Omega-3	9
2.3.2 Síntesis de EPA y DHA a partir de precursores de menor tamaño e instauración	12
2.3.3 Competencia metabólica en la formación de LCPUFA Omega-3 y Omega-6	14
2.3.4 Importancia y beneficios de los ácidos grasos Omega-3 en la salud humana	16
2.3.5 Investigaciones científicas realizadas sobre los ácidos grasos Omega-3	24
2.3.5.1 Harinas de pescado especiales	24
2.3.5.2 Huevos de codorniz de diseño con ácidos grasos Omega-3 de pescado	24
2.3.5.3 Huevos de gallina enriquecidos con ácidos grasos Omega-3 de pescado	26
2.3.5.4 Leche de vaca enriquecida con ácidos grasos Omega-3 de harina de pescado	27
2.4 Procesamiento de leche pasteurizada	28
2.5 Procesamiento para la obtención de aceite semirrefinado de pescado	30
2.5.1 Desgomado	30
2.5.2 Neutralizado	32
2.5.3 Blanqueado	32

2.5.4	Winterización	33
2.5.5	Hidrogenación	33
2.5.6	Deodorización	33
2.6	Análisis físico-químicos	34
2.6.1	Leche pasteurizada	34
2.6.1.1	Densidad	34
2.6.1.2	pH	35
2.6.1.3	Grasa	35
2.6.1.4	Acidez titulable	38
2.6.1.5	Colesterol	38
2.6.2	Aceite de semirrefinado de pescado	38
2.6.2.1	Índice de Peróxido	38
2.6.2.2	Acidez titulable	39
2.6.2.3	Composición de ácidos grasos	39
2.6.2.4	Colesterol	39
III.	MATERIALES Y METODOS	40
3.1	Materia prima e insumos	40
3.1.1	Materia Prima	40
3.1.2	Insumos	40
3.2	Reactivos, Materiales y equipos	40
3.2.1	Reactivos	40
3.2.2	Materiales	41
3.2.3	Equipos	42
3.3	Parte experimental	42
3.3.1	Elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de laboratorio	42
3.3.1.1	Recepción de la leche fresca	44
3.3.1.2	Acondicionamiento de la leche	44
3.3.1.3	Mezclado	44
3.3.1.4	Pasteurización	44

3.3.1.5	Envasado	45
3.3.1.6	Almacenamiento	45
3.3.2	Elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de planta piloto	45
3.3.2.1	Tratamientos preliminares	45
3.3.2.1.1	Recepción	45
3.3.2.1.2	Acondicionamiento	45
3.3.2.1.3	Homogeneización	47
3.3.2.1.4	Pasteurización	48
3.3.2.1.5	Envasado	48
3.3.2.1.6	Almacenamiento	48
3.3.2.2	Tratamiento definitivo	49
3.4	Métodos de análisis	49
3.4.1	Leche	49
3.4.1.1	Densidad	49
3.4.1.2	pH	50
3.4.1.3	Grasa	51
3.4.1.4	Acidez Titulable	51
3.4.2	Aceite semirrefinado de pescado	52
3.4.2.1	Índice de peróxido	52
3.4.2.2	Acidez Libre	53
3.4.2.3	Composición de ácidos grasos	54
3.4.3	Tratamiento definitivo	54
3.4.4	Controles durante el almacenamiento	55
3.4.5	Evaluación sensorial	55
3.4.6	Análisis estadístico	55
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
4.1	Características de la materia prima	57
4.1.1	Leche fresca	57
4.1.2	Aceite semirrefinado de pescado	57

4.2	Resultado de los tratamientos a nivel laboratorio	60
4.2.1	Resultados de la evaluación sensorial	60
4.3	Resultado de los tratamientos a nivel de planta piloto	62
4.3.1	Tratamientos preliminares	62
4.3.1.1	Análisis fisicoquímicos durante su almacenamiento	62
4.3.1.2	Resultados de la evaluación sensorial	66
4.3.2	Tratamiento definitivo	68
4.3.2.1	Características del tratamiento definitivo	70
4.3.2.2	Análisis fisicoquímico durante su almacenamiento	72
4.3.2.3	Evaluación sensorial	74
V.	CONCLUSIONES	76
VI.	RECOMENDACIONES	78
VII.	BIBLIOGRAFÍA	79
VIII.	ANEXOS	84
1.	Leche y productos lácteos. Leche cruda. Requisitos de calidad, físicos, químicos y microbiológicos. NTP 202.001-1998	85
2.	Aceite semirrefinado de pescado. Requisitos NTP 312.009-1985.	86
3.	Leche pasteurizada. Requisitos NTP ITINTEC 202.086-1987	87
4.	Hoja de evaluación para la prueba de determinación de grado de satisfacción con escalas hedónicas verbales.	88
5.	Hoja de evaluación para la prueba de preferencia	89
6.	Prueba de Friedman aplicada a escalas hedónicas verbales	90
7.	Tabla de significancia para prueba de 2 muestras	92
8.	Análisis Estadístico de los resultados de la evaluación sensorial de los tratamientos a nivel de laboratorio	93
9.	Análisis estadístico de los resultados de la evaluación sensorial de	

los tratamientos preliminares.

96

INDICE DE CUADROS

Nº	Título	Pág.
	Producción de leche en el Perú 1995-2000 (TM) Ene-Dic	4
2	Producción de aceite crudo de pescado de PESCAPERU, según puerto, 1993-1997 (TM)	6
3	Producción principal de PESCAPERU 1990-1997 (miles de TM)	6
4	Venta de productos de PESCAPERU, 1990 - 1997 (miles de TM)	7
5	Composición de EPA y DHA y colesterol en 100 g de porción comestible de algunas especies marinas	10
6	Composición de ácidos grasos de algunos aceites de pescado disponibles comercialmente	11
7	Principales ácidos grasos de los glicéridos de la leche	37
8	Tratamientos preliminares a nivel de planta piloto para la elaboración de leche pasteurizada con ácidos grasos EPA y DHA	47
9	Características fisicoquímicas de la leche fresca utilizada en las 3 etapas del desarrollo de la presente investigación	57
10	Características fisicoquímicas del aceite semirrefinado de pescado	58
11	Composición en ácidos grasos del aceite semirrefinado de pescado (ASRP)	59
12	Resultados de la prueba de escalas hedónicas verbales del tratamiento de laboratorio para el nivel óptimo de aceite semirrefinado de pescado a utilizar (0,2, 0,3, 0,4%)	61
13	Variación de pH de los tratamientos preliminares durante el almacenamiento	62
14	Variación de acidez de los tratamientos preliminares durante el almacenamiento	64
15	Resultados de la prueba de escalas hedónicas verbales de los	

	tratamientos preliminares a nivel de planta piloto	67
16	Análisis fisicoquímicos del tratamiento definitivo	70
17	Composición de ácidos grasos del tratamiento definitivo	71
18	Variación de pH del tratamiento definitivo durante el almacenamiento	72
19	Variación de acidez del tratamiento definitivo durante el almacenamiento	73

INDICE DE FIGURAS

Nº	Título	Pág
	Producción de leche en el mundo al año 1997	
2	Principales países productores de aceite de pescado a nivel mundial al año 1998	4
3	Esquema de la estructura química de los ácidos grasos EPA y DHA	8
4	Esquema de la estructura química de los ácidos linoleico y linolénico	9
5	Biosíntesis de LCPUFA Omega-3	14
6	Competencia metabólica en la formación de LCPUFA omega-6 y LCPUFA omega-3	16
7	Flujo de obtención de aceite de pescado	31
8	Diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con ácidos grasos EPA y DHA a nivel de laboratorio	43
9	Diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de planta piloto “tratamientos preliminares”	46
10	Variación de pH de los tratamientos preliminares durante el almacenamiento	63
11	Variación de acidez de los tratamientos preliminares durante el almacenamiento	65
12	Elaboración de leche pasteurizada con EPA y DHA a nivel de planta piloto “tratamiento definitivo”	69
13	Variación de pH del “tratamiento definitivo” durante el almacenamiento	73
14	Variación de acidez del “tratamiento definitivo” durante el almacenamiento	74

SUMMARY

The present essay was carried out in the Milk Pilot Plant of the “Universidad Nacional Agraria La Molina” setting down the following objectives: to determine the level of Omega-3 polyunsaturated fatty acids: EPA and DHA in milk so that it is sensorially acceptable for consumers; to determine the influence of the presence of preservatives (C and E vitamins, and artificial flavor) in the flavor properties; and to determine the storage time during which the product conserves its physico-chemical and sensorial properties at laboratory level and at Pilot Plant level.

In the laboratory study there were 3 levels of SFO (semirefined fish oil) tested: 0.2, 0.3 and 0.4% in milk semiskimmed (2.4% of fat), those that would have 67, 100 and 134 mg of EPA and DHA respectively in 100 ml of milk. These levels were evaluated sensorily with verbal hedonic scales, and analyzed with the statistical Friedman test. The results indicated that the best acceptance was with the level of 0.2% of ASRP.

At the Plant Pilot level, 7 treatments were evaluated with addition of semirefined fish oil, vitamins and artificial flavor to the milk and a treatment only with milk, which were evaluated sensorily with verbal hedonic scales to be compared statistically by

Friedman test. These results indicated that exist significant differences between the 7 treatments and the control, highlighting the treatment of milk with 0,2% of SFO, E vitamin (160 mg/L.) and artificial flavor (1,25 g/L) as the one that had bigger acceptance followed by the control.

Lastly this treatment was compared with the pasteurized milk "La Molina" (3% of fat) by means of flavor test with the participation of 80 panelists, getting 77,5% of preference for the pasteurized milk "La Molina."

The storage was in refrigeration (7 °C) for a period of 12 days for the definitive treatment, during which were controled acidity and pH . being determined that the milk conserved a good state until the tenth day.

The definitive treatment contained 2,34 mg of EPA and DHA for 100 ml of milk. However, the content rises to 61 mg of Omega-3 polyunsaturated fatty acids in 100 ml of milk when the linolenic and docosapentaenoic acids are considered, coming closer to the values of the milk "Latte Prima Crescita" and "Parmalat Plus" elaborated in Italy that show by each 100 ml , 70 to 80 mg of Omega-3 polyunsaturated fatty acids (EPA + DHA + linolenic acid).

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Planta Piloto de Leche de la Universidad Nacional Agraria La Molina estableciéndose los siguientes objetivos: determinar el nivel de ácidos grasos poliinsaturados Omega-3: EPA y DHA en la leche de manera que ésta sea organolépticamente aceptable por el público consumidor; determinar la influencia de la presencia de aditivos (vitaminas C, E y saborizante) en las propiedades de sabor; y determinar el tiempo de almacenamiento durante el cual el producto conserve sus propiedades físicoquímicas y organolépticas a nivel de laboratorio y de planta piloto.

En el estudio a nivel laboratorio, se evaluaron 3 “niveles” de ASRP (aceite semirrefinado de pescado) (0,2, 0,3 y 0,4%) en leche semidescremada (2,4% de grasa), los que en 100 ml de leche tendrían 67, 100, 134 mg de EPA y DHA respectivamente. Estos niveles fueron evaluados sensorialmente mediante una prueba sensorial de grado de satisfacción con escalas hedónicas verbales, y analizadas con la prueba estadística de Friedman. Los resultados indicaron que la mejor aceptación se obtuvo con el nivel de 0,2% de ASRP.

Posteriormente, a nivel de Planta Piloto, se evaluaron 7 tratamientos con adición a la leche de aceite semirrefinado de pescado, vitaminas y saborizante y un tratamiento en blanco solamente con leche, los cuales se evaluaron sensorialmente con escalas hedónicas verbales para ser comparados estadísticamente mediante la prueba de Friedman. Estos resultados indicaron que existen diferencias significativas entre los 7 tratamientos y el control, destacando el tratamiento de leche con 0,2% de ASRP, vitamina E (160 mg/L.) y saborizante (1,25 g/L) como el que tuvo mayor aceptación seguido del control.

Por último se comparó este tratamiento con la leche pasteurizada "La Molina"

(3% de grasa) en cuanto a sabor mediante una prueba de preferencia con la participación de 80 panelistas, obteniéndose como resultado una preferencia de 77,5% por la leche pasteurizada "La Molina".

El almacenamiento se llevó a cabo en refrigeración (7 °C) por un período de 12 días para el tratamiento definitivo, durante los cuales se realizaron los respectivos controles de acidez y pH, determinándose que la leche se conserva en buen estado hasta el décimo día.

El tratamiento definitivo contenía 2,34 mg de EPA y DHA por 100 ml de leche. Sin embargo, el contenido se eleva a 61 mg de ácidos grasos n-3 en 100 ml de leche al considerar el ácido linolénico y el ácido docosapentaenoico, acercándose a los valores de las leches "Latte Prima Crescita" y "Parmalat Plus" elaborados en Italia que muestran, por cada 100 ml, 70 a 80 mg de ácidos grasos Omega-3 (EPA + DHA + ácido linolénico).

I. INTRODUCCIÓN

El creciente interés demostrado en las propiedades alimenticias y farmacológicas descritas de los ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 contenidos en los aceites de pescado ha conducido a la realización de estudios para mejorar las características químicas y organolépticas de estos aceites y a desarrollar fracciones puras o altamente concentradas de algunos ácidos grasos Omega-3. Los efectos beneficiosos en la salud humana: desarrollo del cerebro, del sistema nervioso central, retina; así como, prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares (alto nivel de triglicéridos, alto nivel de colesterol, alta presión arterial), enfermedades inflamatorias (artritis reumatoidea, psoriasis, ciertas formas de cáncer) atribuidos a los aceites marinos se relacionan principalmente a su alto contenido relativo de ácido eicosapentanoico (EPA) y de ácido docosahexaenoico (DHA) que alcanza valores entre 24 - 33% del total de ácidos grasos del aceite de pescado.

En estudios sobre la producción de leche fresca obtenida de vacas alimentadas con harina de pescado se obtuvo niveles significativos de dichos ácidos Omega-3 en la medida que se aumentaba el suplemento proteico en base a harina de pescado (Wright *et al.*, 1997).

Recientemente, se encuentra en el mercado el producto leche evaporada Nestlé Omega Plus con ácidos Omega-3 (ácido linolénico) y Omega-6 (ácido linoléico) provenientes de fuentes vegetales como son el aceite de canola y el aceite de maíz, respectivamente.

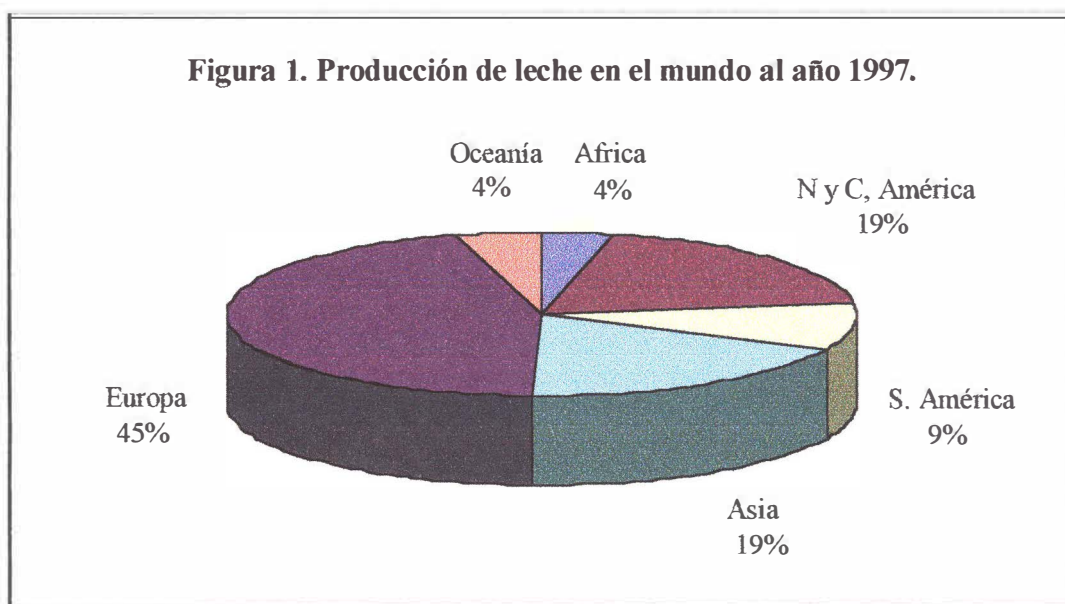
Este marco de referencia estimula a iniciar en nuestra universidad, investigaciones sobre la producción de leche pasteurizada enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA presentes en el insumo marino nacional,

aceite de pescado semirrefinado. Los principales objetivos de este trabajo de investigación fueron: lograr un nivel óptimo de ácidos grasos Omega-3 (EPA y DHA) en la leche, que ésta sea de aceptación del consumidor y conserve en almacenamiento sus propiedades físico-químicas y organolépticas.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Producción de leche fresca en el Perú y el Mundo

A nivel mundial la producción de leche fresca registrada el año 1997 (FAO, 1997) fue de 471 794 miles de toneladas métricas, con un mayor porcentaje en Europa en relación a los otros continentes. Por su parte el continente sudamericano presentó aproximadamente un 9% de la producción mundial que equivale a 42 517 miles de toneladas (Figura 1).



Fuente: FAO Anuario Producción Vol. 51 1997

En el Cuadro 1 se muestra la producción de leche en el Perú durante los últimos 5 años.

Cuadro 1. Producción de Leche en el Perú -1995-2000. (TM) Ene-Dic

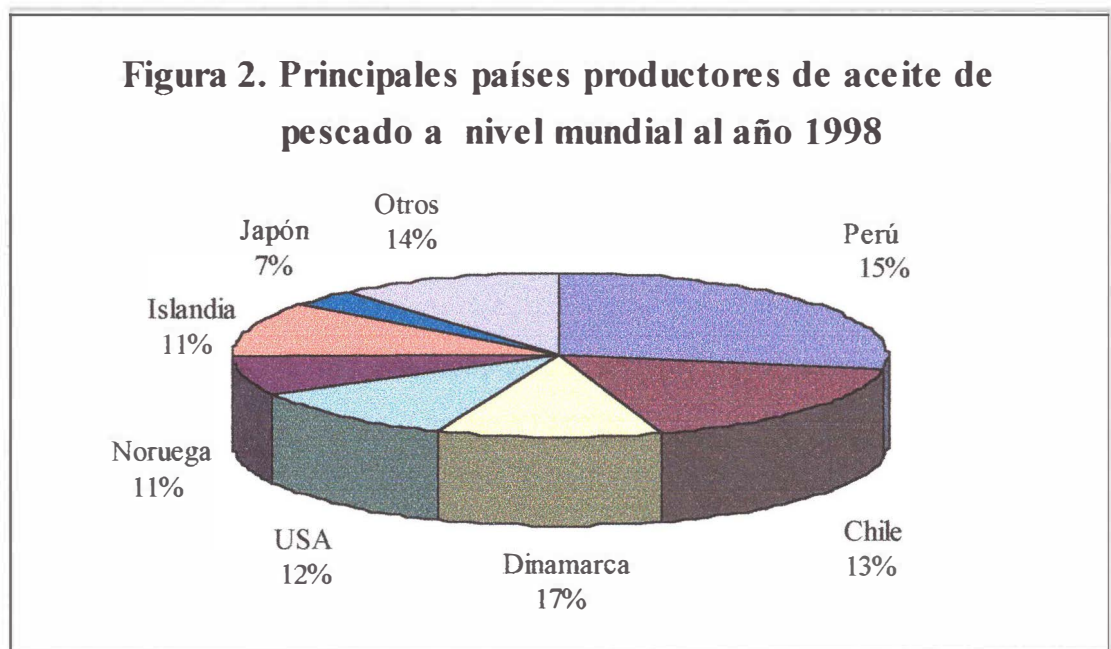
1995	1996	1997	1998	1999	2000*
857 518	904 865	948 049	998 082	1 013 263	1 067 000

*Datos de Anuario El Comercio 2000-2001

Fuente. Ministerio de Agricultura (1995-2000)

2.2 Producción de aceite de pescado

Según la FAO (2000) la producción mundial de aceite de pescado en 1998 fue de 821 195 toneladas siendo el Perú el segundo productor de este insumo con un 15% aproximadamente de la producción mundial (Figura 2).



Fuente: FAO (2000)

Sin embargo en 1999 la producción mundial de aceite de pescado fue de 990 mil toneladas, de los cuales 25 mil toneladas (2,53%) se utilizaron como fuentes de “ácidos Omega-3”, para la producción de suplementos de ácidos grasos Omega-3, principalmente cápsulas de aceite de pescado, de gran uso para la protección

cardiovascular del hombre. En Perú la producción de aceite de pescado fue de 250 mil toneladas en 1999. Se usaron 120 mil (48%) para la elaboración de margarinas y aceites compuestos (Bololanik, 1999). El Perú es en la actualidad el primer productor de ácidos Omega-3 de pescado cuyo uso debe orientarse a la producción de alimentos que beneficien la salud humana. (Rojas, 2000).

El mercado local ofrece “aceite de pescado crudo”, “aceite de pescado acidulado” y “aceite de pescado semirrefinado”, para su incorporación, como fuentes de ácidos grasos Omega-3 en la dieta de animales y la consiguiente producción de alimentos enriquecidos con dichos ácidos (Rojas, 2000).

El aceite de pescado crudo contiene en promedio 26,53% de ácidos Omega-3 (EPA 15,07% + DHA 11,46%), el aceite acidulado 20,19% (EPA 11,57% + DHA 8,62%) y el aceite semirrefinado 33,47% (EPA 20,94% y DHA 12,53%). Del total de ácidos Omega-3, presentes en los aceites de pescado, 60% corresponden a EPA y 40% a DHA (Rojas, 2000).

Los valores de ácido linoleico (Omega-6) son, en la misma secuencia, 1,19, 4,03 y 0,79% y los de ácido oleico (Omega-9) 13,08, 15,71 y 18,13% (Rojas, 2000).

El contenido de colesterol del aceite de pescado, en general, está entre 0,5 y 0,7% (Hjaltason, 1989).

A nivel nacional, se detalla la producción de aceite crudo de pescado en los principales puertos del Perú por parte de la empresa PESCAPERU (Cuadro 2), así como los principales productos derivados de este insumo (Cuadro 3).

En el Cuadro 4 se muestra las ventas de los principales productos de PESCAPERU y sus exportaciones.

Cuadro 2. Producción de Aceite Crudo de Pescado de PESCAPERU, según puerto, 1993-1997 (TM)

Puerto	1993	1994	1995	1996	1997
TOTAL	90 276	113 226	71 036	30 175	25 569
Chicama	3 090	10 643	-	-	-
Chimbote	3 604	8 199	1 340	6 763	1 496
Huarmey	2 838	2 377	1 091	2 823	-
Supé	8 167	13 647	3 016	2 115	-
Huacho	6 155	10 531	2 335	3 756	-
Chancay	6 852	8 829	3 701	3 410	21
Callao	6 377	11 224	9 617	4 169	1 242
Tambo de Mora	13 920	8 024	7 823	1 283	2 301
Pisco	19 522	21 274	18 887	803	6 660
Atico	1 054	2 418	799	-	-
La Planchada	1 545	3 580	910	-	-
Mollendo	1 851	1 483	540	-	-
Ilo	15 301	10 997	20 077	5 053	13 849

Fuente: Webb (1999)

Cuadro 3. Producción principal de PESCAPERU, 1990 - 1997(Miles de TM)

Año	Aceite crudo de pescado	Aceite semirrefinado	Acidos grasos
1992	513,4	74,0	6,3
1993	544,2	90,3	9,2
1994	597,8	113,2	14,0
1995	334,9	71,0	8,5
1996	140,4	30,2	0,5
1997	142,8	25,5	0,2

Fuente: Webb (1999)

Cuadro 4. VENTA DE PRODUCTOS DE PESCAPERU, 1990-1997**(Miles de TM)**

Consumo interno

Año	Aceite crudo de pescado	Aceite semirrefinado	Acidos grasos
1990	24,4	26,4	0,3
1991	27,6	15,9	0,0
1992	18,8	5,1	-
1993	1,6	2,7	0,4
1994	3,2	1,8	0,6
1995	6,9	2,3	1,0
1996	2,2	0,4	-
1997	3,3	0,2	-

Exportaciones

Año	Aceite crudo de pescado	Aceite semirrefinado	Acidos grasos
1990	12,8	4,0	-
1991	15,4	18,5	-
1992	19,1	-	-
1993	81,6	6,7	-
1994	86,6	9,1	-
1995	62,0	9,9	-
1996	23,4	-	-
1997	26,4	-	-

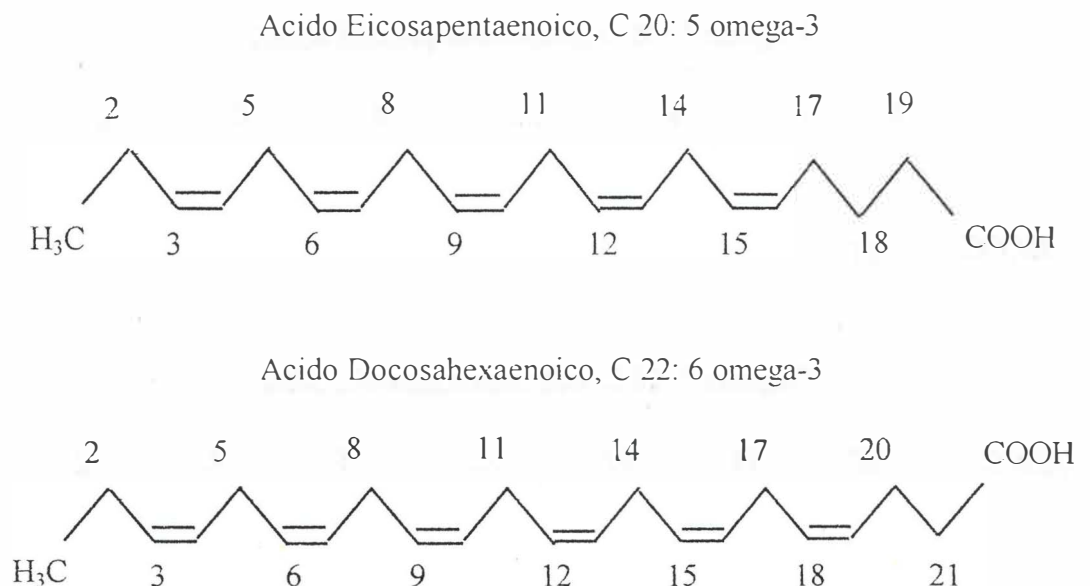
Fuente: Webb (1999)

2.3 Ácidos Grasos Poli-insaturados Omega-3

Los ácidos grasos insaturados de importancia biológica se clasifican en Omega-3, Omega-6, Omega-9, según la posición 3, 6 y 9 del primer doble enlace respecto al grupo metilo terminal de la molécula del ácido graso. De los ácidos grasos de la serie Omega-3, el ácido linolénico (18:3), de 18 carbonos y 3 dobles enlaces, es un ácido graso esencial para ciertas funciones biológicas de los organismos superiores y es esencial porque no es sintetizado por los mismos, y por lo tanto debe ser obtenido mediante la ingesta (Barroeta, 1994; citado por Castillo 1,996).

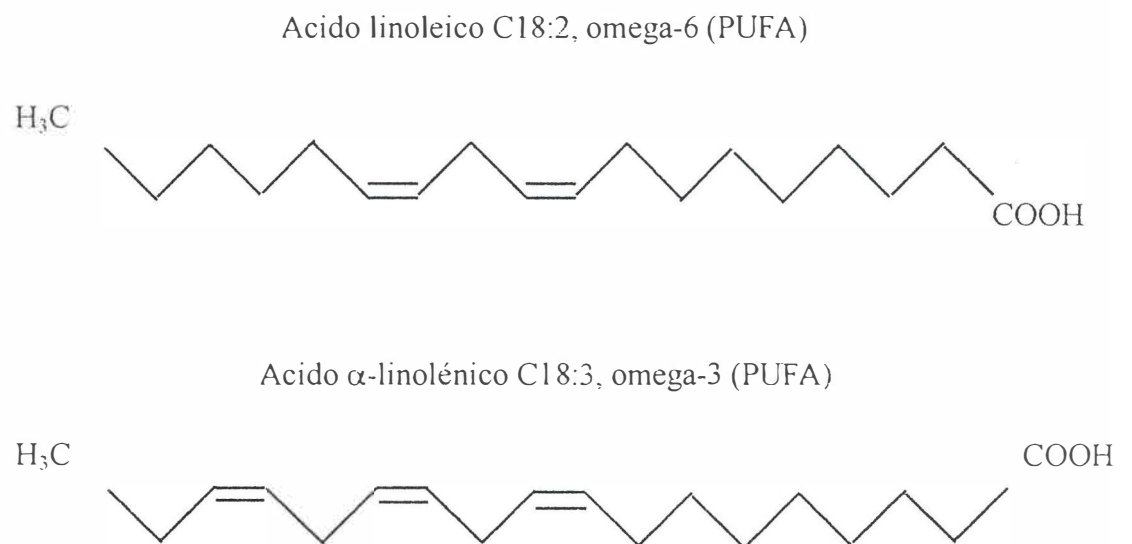
El ácido linoleico (18:2 Omega-6) también es dependiente de la ingesta, ya que no puede ser sintetizado por el organismo como lo señala Bender (1995). Así mismo, los aceites de pescado de la familia de ácidos grasos Omega-3 poseen ácidos grasos poliinsaturados de cadena más larga y con más posiciones insaturadas de sus cadenas. Así los ácidos grasos EPA y DHA, de 20 y 22 carbonos (Fig.3) poseen 5 y 6 posiciones insaturadas, respectivamente (Stansby, 1991).

Figura 3. Esquema de la estructura química de los ácidos grasos EPA y DHA.



De los ácidos grasos de la familia Omega - 6, el ácido linoleico (18:2), de 18 carbonos y 2 dobles enlaces, como se muestra en la Figura 4, es ácido graso esencial representante de esta serie (Stansby, 1991).

Figura 4. Esquema de la estructura de los ácidos linoleico y linolénico



2.3.1 Fuentes de los ácidos grasos Omega-3

Los ácidos grasos Omega-3, EPA y DHA están presentes en el aceite de pescado, en particular de las especies sardina, anchoveta, caballa, jurel, etc. En el Cuadro 5 se muestra la composición de estos ácidos grasos así como colesterol en algunas especies marinas.

El origen de los Omega-3 se encuentra en los organismos celulares simples del fito y el zooplancton. En general, cuanto más frío es el mar donde los peces viven y se alimentan de plancton, tanto mayor el contenido de Omega - 3 en su grasa y por consiguiente, el pescado se constituye en la fuente de Omega - 3 más importante para el hombre (Rojas, 1999).

Cuadro 5. Composición de EPA, DHA y colesterol en 100 g de porción comestible de algunas especies marinas

Especie	EPA (mg)	DHA (mg)	EPA + DHA (mg)	Colesterol (mg)
Atún	1070	2280	3350	-
Arenque	2700	450	3150	90
Anguila ahumada	1185	1700	2885	165
Salmón	700	2140	2840	35
Anguila	1015	1450	2465	140
Arenque en salazón	855	1355	2210	-
Caballa	690	1300	1990	70
Sardina	660	930	1590	140
Sardina en aceite	100	1240	1340	-
Sorgo picudo	450	860	1310	40
Hipogloso	190	500	690	90
Arenque ahumado	120	490	610	150
Siluro	150	390	540	-
Anchoa	210	290	500	55
Trucha	150	335	485	-
Coregono	200	230	430	135
Bogavante	280	130	410	-
Gallineta nórdica	270	130	400	35
Mugil	40	350	390	140
Langostino	215	150	365	65
Carpa	210	85	295	70
Carbonero	60	215	275	140
Langosta	170	80	250	65
Lucio	65	175	240	70
Calamar	100	140	240	140
Solla	135	70	205	65
Lenguado	35	160	195	50
Merluza	60	110	170	-
Lucioperca	105	55	160	-
Mejillón	50	100	150	125
Platija	80	60	140	50
Bacalao	35	55	90	45
Cangrejo de río	60	10	70	160
Ostra	40	10	50	125

Fuente: Senser (1999)

En el mercado nacional se tiene aceites crudos con aproximadamente 26% de ácidos grasos Omega-3, aceites semirrefinados con 24 a 33% o más de 30% de ácidos grasos Omega-3, aceites acidulados con alrededor de 20% de ácidos grasos Omega-3 (Rojas, 1999). Algunos aceites vegetales contienen cantidades apreciables de otro ácido graso de la serie Omega-3 conocido como ácido linolénico. Los aceites de linaza, canola y soya contienen aproximadamente 57, 8 y 7% de este ácido, respectivamente pero carecen totalmente de EPA y DHA (Rojas, 1999).

En el Cuadro 6 se observa la composición de ácidos grasos de algunos aceites disponibles comercialmente.

Cuadro 6. Composición de ácidos grasos de algunos aceites de pescado disponibles comercialmente

Acidos Grasos	Anchoveta Peruana	Pilchard ⁽¹⁾ (S. Africa)	Menhaden ⁽¹⁾ (USA)	Islandia	
				Herrimg ⁽²⁾	Capelina ⁽²⁾
14:0	7,5	7,8	10,5	8,3	7,0
16:0	17,5	15,3	21,5	14,1	12,8
16:1	9,0	8,5	14,2	8,0	10,5
18:0	4,0	3,7	3,4	1,7	1,1
18:1	11,6	9,3	10,3	15,8	15,3
20:1	1,6	2,5	1,2	9,5	16,4
20:5n-3	17,0	19,3	15,1	9,2	7,3
22:1	1,2	3,1	0,1	16,0	18,4
22:6n-3	8,8	6,5	6,5	7,3	4,1

(1) Datos publicados por Dr. Ackman, Investigaciones Pesqueras y Laboratorio Tecnológico, Universidad Técnica de Nueva Escocia, Canadá.

(2) Datos no publicados por Dr. Haraldsson, Universidad de Islandia.

Fuente: Haraldsson, 1989; citado por Jiménez, 2000.

Como se puede observar, mayor porcentaje de EPA y DHA se encuentran en el aceite de anchoveta peruana y de pilchard o sardina de Sud Africa, en ambos casos es de 25,8%.

2.3.2 Síntesis de EPA y DHA a partir de precursores de menor tamaño e insaturación

Los tejidos que tienen la capacidad para biosintetizar LCPUFA (ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga) omega-3 en el hombre (hígado, gónadas y en menor escala cerebro y tejido adiposo), lo hacen a partir del precursor ácido alfa linolénico (C18:3 omega-3). Este ácido graso esencial llega a las células aportado por la dieta y transportado en las LDL (lipoproteína de baja densidad). Una vez en el interior de la célula, y después que se produce la desintegración de la LDL, el ácido alfa linolénico es concentrado en una fracción subcelular de estructura membranosa conocida como retículo endoplasmático liso. En las membranas de este sistema se encuentra un grupo de enzimas identificadas como desaturasas y elongasas. Estas enzimas, como su nombre lo indica, serán las encargadas de aumentar el número de dobles enlaces (las desaturasas) y el largo de la cadena de carbonos (las elongasas) del ácido alfa linolénico, de sus derivados estructurales, y de otros ácidos de las series omega-9 y omega-6. Las enzimas más importantes que participan en este proceso son la $\Delta 6$ desaturasa, la $\Delta 5$ desaturasa y las 18 \rightarrow 20, 20 \rightarrow 22 y 22 \rightarrow 24 elongasas (los números determinan la extensión del ácido graso después de la elongación) (Sprecher *et al.*, 1995; citado por PUFA infocus,2000). De esta forma, el ácido alfa linolénico, tras sucesivas desaturaciones y elongaciones, se transforma en un ácido graso de 24 carbonos y 6 dobles enlaces (C24:6, omega-3).

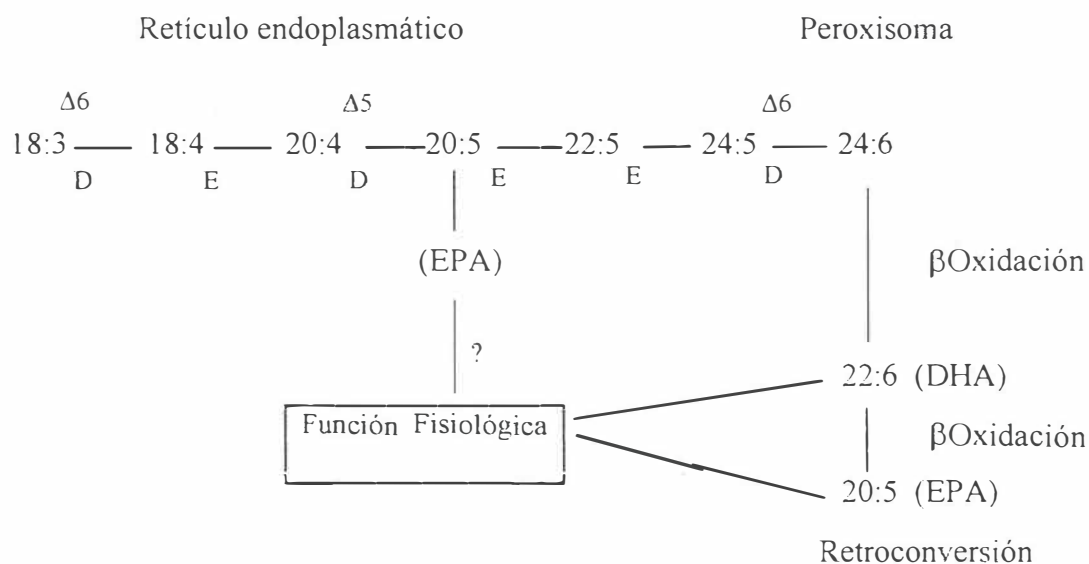
Este ácido graso puede abandonar el retículo endoplasmático, existiendo para el dos alternativas metabólicas. Una posibilidad es que su destino sea la mitocondria donde mediante la beta oxidación se puede convertir en acetil CoA y aportar

energía para la función celular (Schulz, 1991; citado por PUFA infocus 2000). Sin embargo parece poco lógico que esto ocurra considerando que la célula gasta una gran cantidad de energía en transformar el C18:3 omega-3 en C24:6 omega-3.

Efectivamente, esto no es así debido a que este ácido graso, como muchos otros LCPUFA, es un inhibidor de la acil-CoA carnitina transferasa, enzima involucrada en el transporte de los PUFA y LCPUFA hacia el interior de la mitocondria para ser beta oxidados (Spector, 1999; citado por PUFA infocus, 2000). La otra alternativa es que el C24:6 omega-3 sea transportado al peroxisoma. En este organelo el ácido graso sufre una beta oxidación parcial que lo transforma en C22:6 omega-3 (DHA). El DHA así formado puede abandonar el peroxisoma retornando al retículo endoplasmático para ser incorporado a los fosfolípidos que más tarde formarán parte de las membranas celulares. Una pequeña fracción de DHA, cuya cantidad es presumiblemente bien regulada por la célula, puede ser nuevamente beta oxidada para transformarse en EPA, el que también estaría disponible para cumplir funciones celulares. El proceso de transformación del C24:6 omega-3 a DHA y posteriormente a EPA es conocido como retroconversión (Spector, 1995; citado por PUFA infocus, 2000). Si se observa la Figura 5, la que resume la vía de conversión del ácido alfa linolénico en DHA, es posible considerar que habría dos instancias para la formación de EPA; una a partir del C20:4 omega-3, el que por efecto de la $\Delta 5$ desaturasa se transformaría a EPA y una segunda alternativa de formación a través de la retroconversión peroxisomal. No está claro si ambas vías de formación de EPA están disponibles para todas las células involucradas en este proceso.

Sin embargo, considerando que la retroconversión es un proceso que puede ser regulado en una forma más fina, sin alterar la formación del DHA, es probable que esta sea la vía metabólica que de cuenta de la formación del EPA a nivel intracelular.

Figura 5. Biosíntesis de LCPUFA Omega-3



D = Desaturasa

E = Elongasa

Fuente: PUFA infocus, 2000

2.3.3 Competencia metabólica en la formación de LCPUFA omega-3 y omega-6

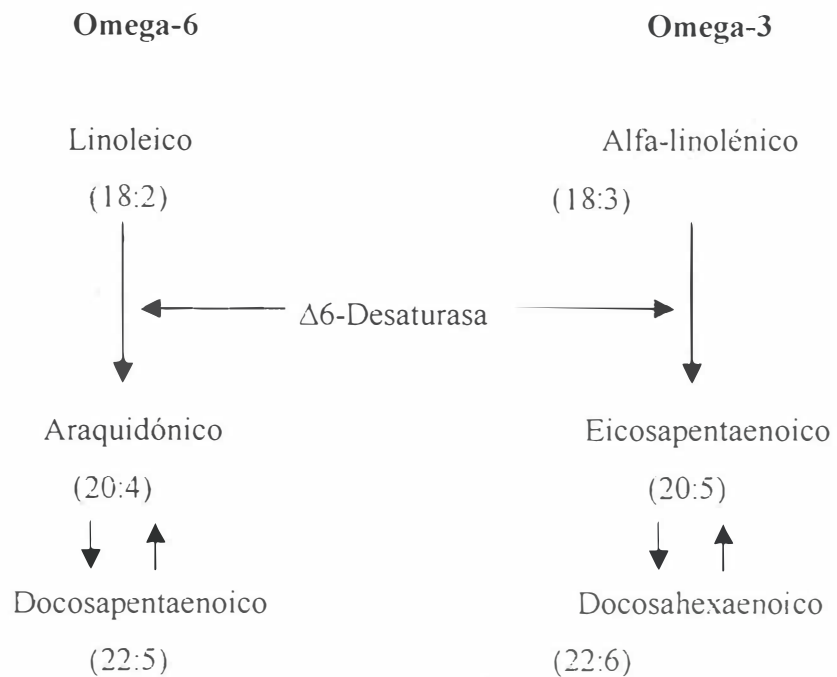
Los PUFA omega-6 de origen dietario o provenientes de los depósitos celulares, pueden seguir una transformación metabólica muy similar a la de los PUFA omega-3. Esta transformación ocurre en el retículo endoplasmático y utiliza las mismas enzimas que los PUFA omega-3 (desaturasas y elongasas). El producto final más importante de esta vía metabólica sería el ácido araquidónico (C20:4 omega-6), el que es incorporado a los fosfolípidos que forman las membranas celulares, para ser posteriormente transformados en los eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos), moléculas que ejercen importantes funciones reguladoras en los diferentes tejidos (Harris, 1997; citado por PUFA infocus, 2000). La retroconversión peroxisomal, de existir para

los LCPUFA omega-6, sería metabólicamente de poca importancia, ya que prácticamente todo el flujo de productos sería dirigido hacia la formación de ácido araquidónico. La figura 6 muestra ambos circuitos metabólicos, y donde se aprecia como comparten las mismas enzimas los derivados del ácido linoleico (C18:2,omega-6) y del ácido alfa linolénico (C18:3,omega -3).

Un análisis de la figura 6 permite concluir que debe existir un equilibrio entre el aporte de ácido linoleico y de ácido linolénico por parte de la dieta. Un exceso de ácido linoleico va a impedir, por un efecto de competencia con las desaturasas y elongasas, la transformación del ácido alfa linolénico en sus derivados de mayor largo de cadena e insaturación, con lo cual puede verse seriamente afectada la formación de EPA y de DHA. Lo mismo ocurrirá en el caso contrario, la ausencia de ácido linoleico en la dieta, o el consumo de una menor proporción de este ácido graso con respecto a la de ácido alfa linolénico, tendrá como resultado una disminución sustancial de la formación de ácido araquidónico, lo cual afectará la formación de eicosanoides derivados de este ácido graso. La competencia entre el ácido linoleico y el ácido alfa linolénico está determinada por la afinidad de la enzima $\Delta 6$ desaturasa por ambos ácidos grasos. Como la enzima tiene mayor especificidad por los ácidos grasos omega-3, requerirá menores cantidades de estos ácidos grasos que de los ácidos grasos omega-6 para generar la misma cantidad de producto (Madsen et al., 1999; citado por PUFA infocus,2000). Esto significa que idealmente debe existir una proporción mayor de ácido linoleico que de alfa-linolénico.

Esta situación ha sido muy discutida por los grupos de estudio y comités de expertos encargados de las recomendaciones nutricionales sobre el consumo de ácidos grasos dietarios. Aunque no existe un consenso absoluto, las recomendaciones van en torno a una proporción de ácidos grasos omega-6: ácidos grasos omega-3 de 5:1 hasta 10:1 (Simopoulos et al., 1999; citado por PUFA infocus,2000).

Figura 6. Competencia Metabólica en la Formación de LCPUFA Omega-6 y LCPUFA Omega-3



2.3.4 Importancia y beneficios de los ácidos grasos Omega-3 en la Salud Humana

Los ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 más importantes son el EPA (Acido Eicosa Pentaenoico) y el DHA (Acido Docosa Hexaenoico). El EPA es efectivo notoriamente contra los factores de riesgos relacionados con las enfermedades cardiovasculares. Mientras que el DHA es componente esencial del cerebro, el sistema nervioso central, la retina ocular, que contribuye a su óptimo desarrollo (Rojas, 1999).

Christie (1993) menciona que los ácidos grasos esenciales desempeñan un papel importante en trastornos mentales como la depresión y el síndrome premenstrual por lo tanto estos ácidos Omega-3 son una alternativa más natural para las

defensas psicológicas sin comprometer el sistema inmunitario en lugar de los analgésicos y los antidepresivos.

Actualmente se sabe que no todas las grasas son malas. Hay grasas “buenas” los llamados aceites Omega-3 y Omega-6, que entre otros alimentos, se encuentran en el pescado y en los aceites vegetales, se les llama esenciales porque son imprescindibles para la salud.

Son vitales para el funcionamiento del cerebro y de los vasos sanguíneos, porque son necesarias para el transporte del colesterol y porque a partir de ellas se crean las prostaglandinas.

Las prostaglandinas son sustancias de corta vida, semejantes a las hormonas, que todas las células del cuerpo fabrican para controlar una amplísima variedad de procesos metabólicos, entre ellos la respuesta inmunitaria, la presión sanguínea, el nivel del colesterol y la función y el funcionamiento cerebrales, así como también las reacciones inflamatorias y alérgicas.

En 1982 se otorgó el Premio Nobel de Medicina a los científicos que descubrieron que las prostaglandinas eran buenas para la salud.

Las prostaglandinas son buenas para una cantidad impresionante de anomalías entre ellas la enfermedad cardiaca, el cáncer, el exceso de peso, la susceptibilidad al estrés, la tensión premenstrual (TPM), la depresión, la dependencia del alcohol, la hipertensión, la inmunidad disminuida, el asma, el eccema, las cifras altas de colesterol e , incluso, la hiperactividad en los niños, un aumento de la energía y de la autoestima, unida a una menor irritabilidad y depresión.

¡Incluso hay pruebas de que estas sustancias ayudan al cuerpo a combatir el cáncer!.

Otros síntomas de deficiencias funcionales de los ácidos grasos esenciales como son el EPA y DHA incluyen la fatiga y un pesimismo que amarga el placer de

VIVIR.

Un temperamento muy sensible y de reacciones rápidas, dificultades digestivas y depresión son otros elementos que pueden complicar el cuadro.

Los problemas molestos causados por esta deficiencia incluyen enfermedades en la piel (caspa, descamación, picor y sequedad), uñas quebradizas, bultos en los pechos que duelen antes de la regla, sequedad en los ojos (que suele presentarse como una sensación de picor y cansancio cuando se conduce o se mira televisión, sequedad en la boca, alergia a ciertos alimentos, avidez por otros, cutis grasoso y “atopia”.

Atopia es el nombre de una enfermedad hereditaria muy difundida que predispone a las alergias, incluyendo el eccema atópico que es una afección de la piel caracterizada por vejiguillas muy espesas que forman manchas irregulares y rojizas, la fiebre (en un estudio se comprobó que el 80% de todos los resfriados acurrían en individuos atópicos).

Aunque, para el fin energético de los triglicéridos, no importa cuales sean sus ácidos grasos, una parte de éstos tienen otras funciones metabólicas; son los ácidos grasos esenciales y deben estar presentes en la dieta en proporción adecuada (del orden del 4% de la grasa total). Los ácidos grasos esenciales son poliinsaturados, principalmente el linoleico, linolénico y araquidónico y son necesarios para la membrana celular, sobre todo en el tejido nervioso, para el transporte del colesterol como éster insaturado, para la síntesis de la prostaglandinas, etc (Primo, 1997).

Según Primo (1997), las dietas ricas en pescados grasos Omega-3 también van asociadas a valores bajos de colesterol en sangre, lo que se descubrió por la baja incidencia de infartos en esquimales de Groenlandia consumidores de pescado; esto se debe a los ácidos grasos muy insaturados el eicosapentenoico y el docosahexaenoico.

Ambos ácidos tienen un enlace doble en el carbono 3° del extremo metilo no polar y parece que sus prostaglandinas derivadas inhiben la alteración de los capilares y la consecutiva formación de trombos.

Se sostiene que el ácido graso Omega -3 DHA se requiere para el desarrollo del cerebro y el sistema nervioso central, desde los tres meses antes del nacimiento. Es decir, durante los últimos tres meses de embarazo de las madres y a través de la placenta. La necesidad de DHA continúa después del alumbramiento. Felizmente la leche materna contiene ácidos grasos Omega-3 que son utilizados por el niño lactante. En adelante el ser humano requiere una fuente de Omega-3 en la dieta para proteger la vida, de las enfermedades cardiovasculares (alto colesterol, elevados triglicéridos y alta presión arterial), males inflamatorias (artritis reumatoidea, psoriasis, ciertas formas de cáncer), etc (Rojas,1999).

Experimentos animales según Ruitter (1999) han demostrado que el cerebro y el tejido nervioso de los animales, al igual que el de los humanos, tienen un contenido muy alto de DHA y que incluso manteniendo a estos animales con raciones deficientes de ácidos grasos Omega-3 durante generaciones sólo se consigue una modesta reducción del DHA del cerebro y del tejido nervioso. Esto sugiere que estos órganos almacenan DHA, probablemente porque es esencial para su función. Los experimentos animales sugieren que la deficiencia en ácidos grasos Omega-3 reduce la capacidad del animal para aprender y para ver adecuadamente. De estos experimentos y otros similares se puede concluir que en la grasa de la leche para lactantes, debidamente elaborada la relación 1:4 de PUFAs Omega-3 y Omega-6 es la apropiada (Ruitter, 1999)

Centrándose en el normal funcionamiento, hay que destacar las altas concentraciones de ácidos grasos Omega-3 de los lípidos de las membranas del cerebro, retina, tejido nervioso, espermatozoides, testículo y ovario de la mayoría de especies (Hunter, 1987; citado por Stansby, 1991).

Barroeta (1994) ha observado que altos niveles de ácidos grasos Omega-3 incrementan la capacidad reproductiva.

Basados en la considerable evidencia disponible podemos afirmar que los ácidos grasos Omega-3 ocupan un lugar importante en las necesidades dietéticas humanas que se han establecido en cerca de 1 g por día (Bjerve *et al.*, 1992 citado por Ruitter, 1999). La Fundación Británica para la Nutrición (British Nutrition Foundation), estima que el consumo diario de EPA+ DHA en la población europea adulta debería ser de 1,0 a 1,25 g (Newton, 1998, citado por PUFA infocus, 2000). Sin embargo esta misma institución estima que el consumo real de LCPUFA en la dieta occidental es de 0,25 g/día (PUFA infocus, 2000). Significa que estamos frente a lo que se debería considerar un “déficit nutricional” de LCPUFA omega-3 cercano a 1 g/día.

Los pacientes que sufren trastorno de los vasos sanguíneos y enfermedades inflamatorias pueden beneficiarse positivamente con la inclusión de aceites de pescado en sus dietas cuyos efectos son semejantes a los observados con ingestas de EPA y DHA de 3 g por día o más (Ruitter, 1999)

El ácido araquidónico y el EPA sirven como precursores de compuestos biológicamente activos, similares a hormonas y conocidos como eicosanoides.

Los eicosanoides tienen efectos en diversos procesos fisiológicos como es la coagulación de la sangre, presión arterial, relajamiento y dilatación vascular y respuesta inmune.

Muchos estudios clínicos, en los que se suplementó a sujetos con pescado o aceite de pescado, mostraron los efectos beneficiosos de los ácidos n-3 sobre los factores de riesgo o mortalidad de la enfermedad cardiovascular.

Estudios con animales han indicado un rol muy prometedor de los ácidos grasos

n-3 en la prevención de arritmias cardiacas y muerte debido a arresto súbito cardiaco. Esta asociación también ha sido observada en humanos.

El aceite de pescado debe usarse en lugar de o mejor aún en conjunto con aspirina, la cual también tiene efecto antitrombótico.

Se ha encontrado también que los ácidos Omega-3 reducen la presión arterial en algunos casos.

El efecto de los ácidos grasos n-3 sobre niveles o actividades de factores de coagulación es inconsistente, y en general, se requiere altos consumos de dichos ácidos para observar efectos significativos. Es posible que los ácidos n-3 puedan remplazar, o mejor suplementar los anticoagulantes usuales que se presentan después de ciertos procesos quirúrgicos, especialmente si se requiere un tratamiento con anticoagulantes por largo tiempo.

Los ácidos grasos Omega-3 son muy efectivos en el tratamiento de hipertrigliceridemia común en pacientes con diabetes.

Varios estudios han reportado mejoras en los síntomas de artritis, psoriasis, asma, colitis ulcerativa, gingivitis, enfermedad intestinal inflamatoria y muchas enfermedades autoinmunes, otros han señalado que los ácidos grasos Omega-3 podrían reducir las drogas antiinflamatorias en algunos pacientes.

En general, se requiere altos consumos de ácidos grasos Omega-3 para mejoras relativamente modestas. Las enfermedades inflamatorias requieren el uso de medicamentos antiinflamatorios por un tiempo largo, lo cual a menudo causa efectos indeseables. La posibilidad de que los ácidos grasos Omega-3 puedan reducir el uso de medicamentos en condiciones inflamatorias tendría beneficios clínicos lo cual amerita mayor investigación.

Existen evidencias que relaciona el cáncer de mamas y el de colon con disturbios en el metabolismo de eicosanoides. Esto indica que los ácidos grasos Omega-3 puedan tener un rol benéfico en prevención y tratamiento de estos cánceres (Rojas, 2000).

Está probado que el DHA aumenta la capacidad de aprendizaje y la agudeza visual (Rojas,2000).

Christie (1993) manifiesta que los doctores Hugh Sinclair, David Horrobin, Charles Bates y otros han elaborado una lista enorme de enfermedades causadas por trastornos de los ácidos grasos esenciales. A continuación se presentan, ordenadas aproximadamente en función del número de personas a quienes afectan.

- Envejecimiento
- Alergias alimentarias
- Caries dentales
- Alteraciones estéticas (arrugas en la piel, caspa, uñas quebradizas, etc)
- Depresión, irritabilidad
- Infecciones víricas (poliomelitis, síndrome de fatiga crónica o síndrome de Epstein-Barr, etc)
- Exceso de peso
- Aterosclerosis y enfermedades trombóticas
- Ateroescclerosis y enfermedad cardiaca coronaria.
- Enfermedades cerebrovasculares (ictus o apoplejía, senilidad prematura)
- Embolia pulmonar (una especie de infarto del pulmón)
- Flebitis (bloqueos provocados por coágulos).
- Cáncer de pulmón y estómago, leucemia
- Artritis reumatoidea
- Alcoholismo, cirrosis hepática
- Diabetes y sus complicaciones

- Eccema atópico, asma, fibrosis quística
- Hiperactividad infantil
- Presión sanguínea elevada
- Cálculos biliares
- Endometriosis
- Úlcera péptica
- Nefrosis y cálculos renales
- Embarazo: preeclampsia (presión sanguínea elevada), niños prematuros, etc.
- Acné
- Hernias discales y osteoporosis
- Apendicitis
- Colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable, diverticulosis.
- Esclerosis múltiple
- Enfermedades del colágeno:
- Artritis (inflamación de las arterias)
- Enfermedad de Crohn
- Esclerodermia (endurecimiento de la piel de la cara y manos)
- Espondilitis anquilosante
- Fiebre reumática
- Lupus eritematoso sistémico
- Poliartritis
- Hipercalcemia de los lactantes (exceso de calcio en la sangre)
- Síndrome de Sjögren (escasez de lágrimas y de saliva)
- Síndrome de Sjögren-Larsson (descamación de la piel, retraso mental y espasticidad al nacer)
- Esquizofrenia

2.3.5 Investigaciones científicas realizadas sobre los ácidos grasos Omega-3

2.3.5.1 Harinas de pescado especiales

La harina peruana LT-94 que contiene alrededor de 10% de grasas, un tenor de 2,5% de ácidos Omega-3 (EPA + DHA) y la harina especial de Noruega que tiene 6-10% de grasas, 2,6% de ácidos Omega-3 (EPA 0,8% y DHA 1,8%) son harinas para consumo humano. La LT-94 es comprada por Japón para elaborar galletas, parte de las cuales las dona al Perú.

En la UNA La Molina, Rojas (1994) y Jiménez (2000) han producido galletas enriquecidas con 3% de harina de pescado especial similares en calidad a las que tenían leche.

La harina Noruega se ofrece en bolsas de aluminio plastificadas con un contenido de 250 g.

Se recomienda 2-4 cucharadas por persona-día. Noruega también produce “tabletas” y “chocolates” con ácidos grasos Omega-3.

2.3.5.2 Huevos de codorniz de diseño con ácidos Omega-3 de pescado

Rojas (1998) produjo experimentalmente, por primera vez en Perú y el mundo, huevos de codorniz enriquecidos con ácidos Omega-3 de aceite y harina de pescado. El país fue seleccionado, por primera vez en 30 años, para exhibir “Huevos de codorniz con ácidos grasos omega-3” en la vitrina de Innovaciones, Salón Internacional de Alimentación (SIAL) Paris-Francia, Octubre 18-22, 1998. Dichos huevos tenían una riqueza en ácidos Omega-3 de 5,55% (EPA 18 mg y DHA 51 mg).

El valor de DHA fue de 73,5% del total de ácidos Omega-3. El nivel de ácido

linoleico de 8,56% determinó una relación n-6:n-3 de 0.65:1. También se observó un aporte de ácido oleico (n-9) de 36,43%.

En otra investigación, Rojas et al (2000) estudiaron la producción de huevos de codorniz enriquecidos con ácidos n-3 de aceite y harina de pescado.

Usaron la dieta (1) que contenía 2,65% de “aceite de pescado crudo” y 7,6% de harina “super prime” y la dieta (2) que incluía 2,65% de aceite de soya” y 7,6% de harina “super prime”.

Se encontró un nivel de ácidos Omega-3 de 0,869% (EPA 0,542% y DHA 0,327%) en la dieta (1) y de 0,259% (EPA 0,144% y DHA 0,115%) en la dieta (2). Los huevos de la dieta (1) mostraron un contenido de ácidos Omega-3 de 2,92% (EPA 0,59% y DHA 2,33%) y los de la dieta (2) 2,11% (EPA 0,28% + DHA 1,83%). Estos valores, por huevo de 11 g de peso, fueron de 41 mg en dieta (1) y 29 mg en dieta (2).

Aparentemente, el aceite de pescado estuvo asociado a una deposición de ácidos n-3 en el huevo superior en 29% en relación al aceite de soya.

Así mismo, 80,0% y 86,7% del total de Omega-3 correspondió a DHA en dietas (1) y (2) respectivamente. Se reconoce que el DHA es el ácido Omega-3 requerido por el niño durante su vida intra y extrauterina.

El nivel de ácido linoleico (n-6) de los huevos fue de 9,93 y 13,92% para dietas (1) y (2), está dentro de lo que requiere una salud normal.

Relaciones de 10:1, 30:1 ó mayores tienen asociación con enfermedades coronarias y desórdenes inflamatorios y autoinmunitarios. También es relevante el valor del ácido oleico (n-9) de los huevos de alrededor del 41%.

El contenido de colesterol del huevo proveniente de la dieta (1) fue de 40 mg por unidad (28,4 mg/g de grasa), equivalente a 0,36% y el proveniente de la dieta con aceite vegetal de 54 mg por huevo (0,49%).

2.3.5.3 Huevos de gallina enriquecidos con ácidos Omega-3 de pescado

En Perú, Rojas y Barboza (1995), en la Universidad Nacional Agraria La Molina, realizaron el primer estudio sobre producción de huevos de gallina enriquecidos con ácidos n-3 de aceite y harina de pescado. Utilizaron la dieta (1) con 2% de aceite crudo y 10% de harina de pescado, la dieta (2) con 2% de aceite acidulado y 10% de harina de pescado y la dieta (3) con 2% de aceite de pescado hidrogenado y 10% de harina de pescado; la dieta control (4) carente de aceite de pescado y la dieta control (5) libre de aceite y de harina de pescado.

Los investigadores encontraron una concentración de ácidos Omega-3 en las dietas (1) a (3) de 10,79, 8,72 y 2,57%. En los huevos obtenidos con las dietas (1) a (3) los contenidos de ácidos Omega-3 fueron de 3,82, 3,38 y 2,53% o de 229, 203 y 152 mg por unidad. Así, con aceite de pescado crudo los huevos alcanzaron un valor de ácidos Omega-3 superior en 13% en relación al aceite de pescado acidulado. Valores de Omega-3 de 203 y 299 mg por huevo logrados con aceites de pescado están de acuerdo con 218 mg reportado por Japón.

El aceite de pescado hidrogenado estuvo asociado a un nivel de ácidos n-3 de 152 mg por huevo, valor inferior en 34% en relación al aceite de pescado crudo y en 25% respecto al aceite acidulado. El aceite hidrogenado prácticamente no tuvo efecto sobre el contenido de Omega-3 del huevo ya que su valor fue similar al alcanzado con la dieta control (4) libre de aceite de pescado.

El contenido de ácido linoleico (8n-6), en huevos de las dietas (1) a (3) fue de alrededor de 14%, lo que determinó una relación n-6:n-3 de 3,6 y 5,8 : 1. Las

pruebas sensoriales realizadas revelaron que 2% de aceite de pescado crudo o acidulado no afectó la buena calidad del huevo.

Bover y Ticona (1997), según Vergara (1998), en la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de Ica, estudiaron el contenido de ácidos n-3, en huevos producidos en la Granja “La Calera” Chincha, por gallinas consumiendo la dieta (1) con 5% de aceite acidulado, la dieta (2) con 7,5% de acidulado y la dieta (3) con 10% de aceite acidulado.

Las dietas (1) a (3) fueron: 4,44, 5,00 y 7,25% ó 266, 300 y 315 mg por unidad. Así, a mayor nivel de aceite de pescado acidulado en las dietas correspondió mayor nivel de ácidos Omega-3 en los huevos. Los investigadores recomiendan usar hasta 7,5% de aceite de pescado acidulado en las dietas prácticas de gallinas ponedoras, no obstante que no se percibió sabor o aroma a pescado en ninguno de los grupos de huevos estudiados.

Pilares y Vásquez (1999), en un trabajo con gallinas, en la Universidad Nacional Enrique Guzmán y Valle, encontraron que huevos provenientes de una dieta que contenía 5% de aceite de pescado acidulado, exhibían por unidad una concentración de 187 mg de colesterol. El nivel de colesterol fue de 220 mg por huevo, cuando las gallinas consumían la dieta Control que carecía de aceite acidulado.

2.3.5.4 Leche de vaca enriquecida con ácidos Omega-3 de harina de pescado

Wright et al (1997), en Canadá, demostraron la producción de leche enriquecida con ácidos Omega-3 suministrado por “harina de pescado”. Así, encontraron en la leche valores de ácidos n-3 de 0,58, 0,80 y 1,01% para niveles bajo, medio y alto de harina de pescado. Lo más resaltante fue el aumento en la concentración de DHA en los 3 niveles de harina de pescado: 0,15, 0,28 y 0,35%. Valores medio y

alto de harina de pescado en la dieta (3,0 y 6,0 Kg/ día de suplemento proteico) resultaron en contenidos de DHA que excedieron el 0,2%, el cual es el nivel presente en la leche humana.

2.4 Procesamiento de leche pasteurizada

Según Porter (1981), el proceso de pasteurización de la leche consiste en calentar la leche por debajo del punto de ebullición pero a una temperatura suficientemente alta para matar los microorganismos patógenos y reducir el número de los demás lo bastante para que pueda ser transportada, distribuida y consumida con seguridad. La pasteurización destruye los microorganismos patógenos y el 99% de las demás bacterias presentes en la leche.

Arteaga et al (1996) describen ordenadamente las operaciones que se realizan para obtener la leche pasteurizada en la Planta Piloto de Leche de la UNALM que a continuación se mencionan:

- Recepción:

La leche llega a la Planta entre 4 °C y 12 °C, es pesada en la balanza.

- Filtrado de leche en recepción:

Mediante la presión por bombeo la leche es forzada a pasar a través de unos filtros con platos cribados diseñados para colocar láminas de papel celulosa, que impiden el paso de los elementos extraños que se han añadido por descuido durante el ordeño, almacenamiento o transporte de la leche cruda.

- Enfriado:

La leche es enfriada hasta una temperatura de 4-5 °C para la correcta operatividad del pasteurizador.

- Almacén de leche cruda:

Una vez enfriada la leche se almacena en tanques isotérmicos de acero inoxidable hasta el momento de ser procesada. Se cuenta con tanques de 1 500 L y 3 000 L que se usan sólo en caso de recibir cantidades de leche mayores a 1 500 L

- Filtrado antes del pasteurizado:

Tiene la finalidad evitar el paso de impurezas provenientes de leche reconstituida que pudieran afectar la operatividad del pasteurizador; actualmente no se reconstituye leche, sin embargo se sigue utilizando por su ubicación dentro de la línea.

- Pasteurizado - Homogenizado:

La leche es calentada en el pasteurizador hasta la temperatura de 55 °C, como lo indica Amiot, (1991) la homogeneización debe realizarse a una temperatura a la que toda la grasa esté en estado líquido porque sino, se produce el batido: para asegurar un tratamiento eficaz, hacen falta temperaturas superiores a 54 °C .Luego se homogeniza a 120 Kg/cm² y retorna al pasteurizador donde se eleva la temperatura hasta 75 °C – 80 °C por 15 segundos., siendo ésta una pasteurización HTST (alta temperatura corto tiempo) como lo indica Alais (1970) Inmediatamente después, se enfría la leche hasta 4 °C en el mismo equipo.

- Almacén de leche pasteurizada:

Se cuenta con un tanque de acero inoxidable de 2 000 L., el tiempo de permanencia en el mismo es como máximo 1 día. Esta operación se realiza con la finalidad de alimentar adecuadamente a la embolsadora.

- Embolsado:

Se envasa la leche en bolsas de polietileno de 946 cm³, previamente esterilizadas con luz ultravioleta.

- Almacenamiento del producto final:

El producto final se almacena en una cámara de refrigeración que trabaja a 4 °C en promedio.

2.5 Procesamiento para la obtención de aceite de pescado semirrefinado

Según la Norma Técnica Peruana 312.001 (1980) define al aceite semirrefinado como el aceite crudo que ha sido sometido a procesos de neutralización, blanqueado y filtrado, hasta alcanzar los requisitos especificados para este tipo de aceite (ver Anexo 2)

El aceite de pescado crudo se obtiene como un producto secundario de los procesos de reducción del pescado (básicamente anchoveta y sardina) en harina y aceite de pescado; se incluyen procesos tales como cocinado, prensado, centrifugado, pulido y recuperaciones secundarias.

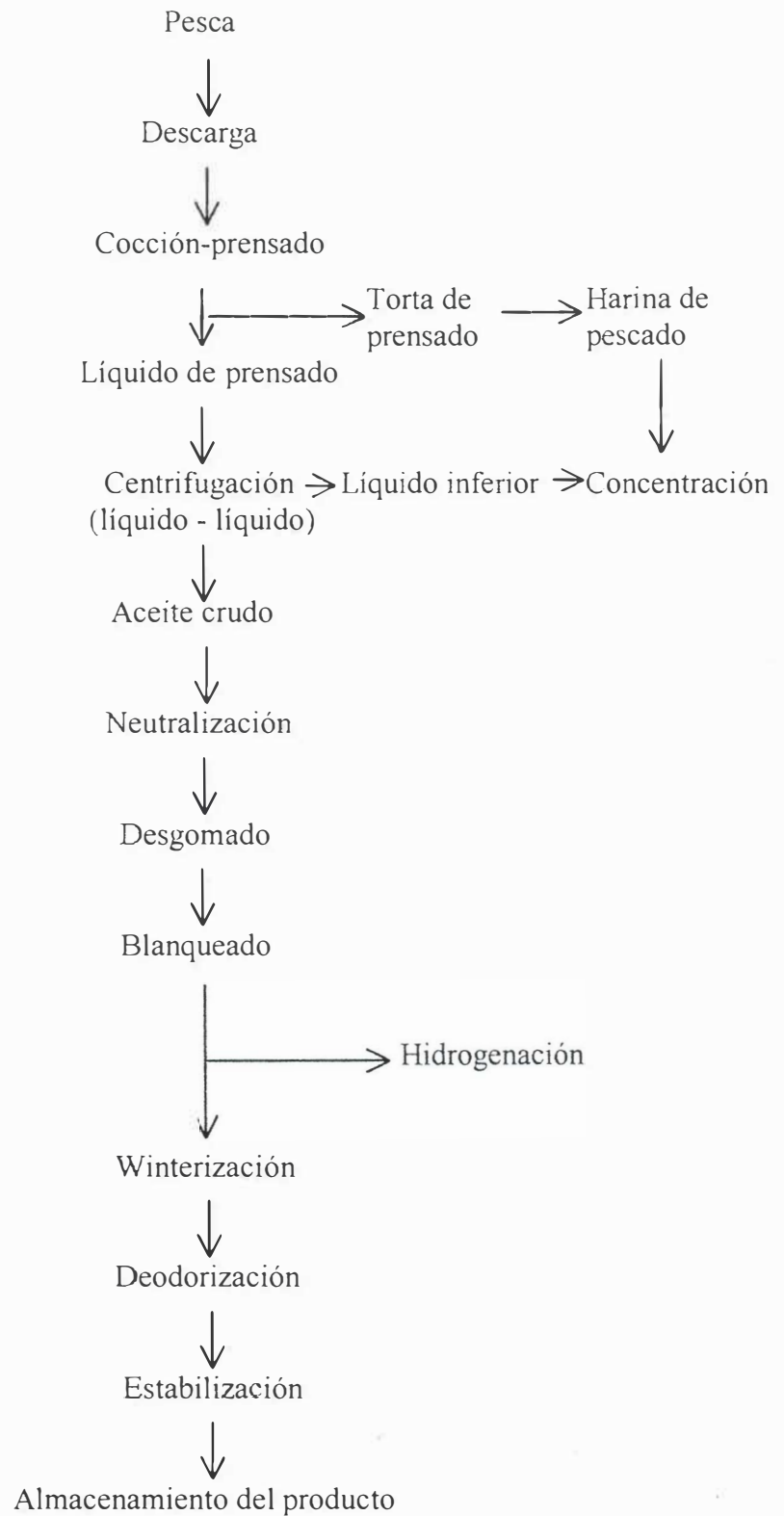
Young (1978); citado por Bimbo (1991), señala que las etapas del procesamiento usadas para refinar grasas y aceites crudos son las siguientes: desgomado, refinación alcalina, lavado, secado, blanqueado y deodorizado. Algunos autores adicionan tres operaciones más: fraccionamiento, hidrogenación e interesterificación (FAO, 1977; citado por Bimbo, 1991).

Los aceites de pescado son procesados de igual manera que los otros tipos de aceites. Un diagrama del flujo típico para el procesamiento de este aceite se muestra en la Fig. 7.

2.5.1 Desgomado

Carr (1988), citado por Bimbo (1991), define al desgomado como el tratamiento al que se someten los aceites crudos con agua, soluciones salinas o ácidos diluidos para remover gomas, fosfátidos y otras impurezas. Si estas impurezas no se retiran

Fig. 7. Flujo de Obtención del Aceite de Pescado



Fuente: Valenzuela (1993)

del aceite, ellas producen altas pérdidas durante la refinación, además de precipitar causando inconvenientes. El desgomado no es comúnmente realizado en aceites de animales o de pescado, porque éstos tienen bajo contenido de fosfátidos.

En algunas refinerías, sin embargo, un tratamiento ácido es aplicado al aceite (Bimbo, 1990)

Nilsson et al. (1989) plantean que un buen desgomado es una etapa necesaria para que el aceite pueda ser refinado físicamente.

2.5.2 Neutralización

Este proceso consiste en someter al aceite crudo a la acción de soluciones alcalinas, las que producen reacciones químicas y cambios físicos: formación de jabón por la combinación del álcali con los ácidos grasos libres, coagulación de las gomas por hidratación, degradación de los pigmentos y eliminación de la materia insoluble (Bimbo, 1990).

Bernardini (1981), menciona que el principal objetivo de esta operación es la eliminación de los ácidos grasos libres siendo muy importante ya que en esta fase se pueden producir las pérdidas más altas del aceite neutro y se puede comprometer la calidad final del producto refinado. Al respecto, Norris (1982) afirma que las pérdidas de aceite neutro están en función de la clase y cantidad de impurezas presentes en el aceite, siendo menor en los aceites de pescado que en los aceites vegetales.

2.5.3 Blanqueado

El blanqueado es realizado para mejorar el color, sabor y la estabilidad oxidativa del aceite y para remover impurezas tales como trazas de jabón. El procedimiento.

más empleado es utilizando tierras decolorantes o carbón activo, bajo particulares condiciones de trabajo como son: temperatura, tiempo de contacto y presión. Los aceites y grasas antes de someterse al proceso de decoloración deben estar libres de humedad, ya que la presencia de pequeñas cantidades de agua disminuyen la eficiencia de las tierras decolorantes (Bernardini, 1981). Young, 1985; citado por Bimbo, 1991, afirma que durante este proceso se puede reducir en un 50% el valor tottox cuando se utiliza 2% de tierra activada.

2.5.4 Winterización

Este tratamiento remueve los triglicéridos de alto punto de fusión, ceras u otros compuestos distintos de los triglicéridos (Bimbo,1990). Al respecto, Bernardini (1981) menciona que el proceso de winterización tiene por objeto separar aquellos glicéridos de alto punto de fusión que originan enturbiamiento y aumento de la viscosidad en los aceites al bajar la temperatura, consiste en precipitar en forma de cristales dichos triglicéridos, en determinadas condiciones de temperatura-tiempo y agitación.

2.5.5 Hidrogenación

Esta etapa es de gran uso en la industria de grasas comestibles y consiste en la adición directa del hidrógeno a los dobles enlaces de las cadenas de ácidos grasos (Bimbo,1990). De acuerdo con Allen (1989); citado por Bimbo (1991), existen dos razones para hidrogenar un aceite: reducir el número de dobles enlaces incrementando su estabilidad oxidativa y modificar sus características físicas de acuerdo a la utilidad del producto.

2.5.6 Deodorización

La deodorización es la última etapa del procesamiento en la refinación de aceites

comestibles. En esta etapa se eliminan compuestos indeseables presentes en las grasas naturalmente y otros producidos durante el procesamiento previo (Bimbo, 1990). Este es básicamente un proceso de destilación al vacío en donde los compuestos volátiles son eliminados del aceite, también destruye peróxidos y otros productos de la oxidación.

2.6 Análisis físico-químicos

2.6.1 Leche pasteurizada

2.6.1.1 Densidad.- Según Alais (1970) la densidad de la leche está determinada por dos factores opuestos y variables:

- Concentración de los elementos disueltos y en suspensión (sólidos no grasos), la densidad varía proporcionalmente a esta concentración.
- Proporción de materia grasa, teniendo ésta una densidad inferior a 1, la densidad global de la leche varía de manera inversa al contenido graso. Como consecuencia, la leche desnatada es más pesada que la leche entera.

La densidad de las leches individuales es variable; los valores medios se encuentran entre 1,030 y 1,033 a la temperatura de 15 °C. La densidad de las leches desnatadas se eleva por encima de 1,035. La adición de agua a la leche (aguado), disminuye evidentemente su densidad. Una leche a la vez desnatada y aguada puede tener una densidad normal, por esta razón, la medida de la densidad, no puede revelar el fraude, por sí sola.

La densidad de la leche, también, depende de la combinación de densidades entre sus diferentes componentes (en g/cc.):

Agua	1,00
Grasa	0,931

Proteína	1,346
Lactosa	1,666
Minerales	5,500

De aquí que una leche entera tendría una densidad promedio de 1,032 g/cc. Mientras que una leche descremada 1,036 g/cc. (Keating, 1986; citado por Vargas, 1989)

La densidad de la leche también se ve afectada por la temperatura, observándose que a medida que ésta se eleva, el valor absoluto de la densidad disminuye (Lora, 1996).

2.6.1.2 pH.- Según Alais (1970), la leche tiene una reacción iónica cercana a la neutralidad. La leche de vaca tiene una reacción débilmente ácida con un pH comprendido entre 6,6 y 6,8, como consecuencia de la presencia de caseína y de los aniones fosfórico y cítrico, principalmente.

También menciona que los valores de pH inferiores a 6,5 o superiores a 6,9 son anormales. El pH representa la acidez actual de la leche, de él dependen propiedades tan importantes como la estabilidad de la caseína.

Amiot (1991) menciona que el pH (acidez activa) de una leche normal varía entre 6,2 y 6,8 pero la mayoría de las leches tienen un pH comprendido entre 6,4 y 6,6. El grado de disociación aumenta con la neutralización o el pH y las sales cálcicas están menos disociadas que las sales de sodio o potasio. Por esta razón en la leche, sobre todo en medio ácido, predominan las sales de calcio que tienden a combinarse con las proteínas.

2.6.1.3 Grasa.- Según Alais (1970), la materia grasa de la leche presenta tres características:

- Gran variedad de ácidos grasos, se han identificado unos sesenta.
- Proporción de ácidos saturados igual a 2/3 y de ácidos no saturados 1/3, como término medio.
- Proporción elevada de ácidos volátiles de bajo peso molecular y, en especial, de ácido butírico en la leche de los rumiantes, de esta manera se pueden detectar los fraudes realizados en la grasa de leche y la mantequilla ya que las otras grasas utilizables no contienen más que muy poca cantidad de ácidos de esta fracción, además señala que las medias obtenidas de la leche de Francia en cuanto al ácido butírico es de 5 a 6%

Otra característica de la materia grasa es que se altera más lentamente que la lactosa, sus modificaciones no provocan grandes cambios en la estructura físico-química de la leche, pero son importantes por ser causa de la aparición de sabores desagradables. Entre las propiedades físicas de la materia grasa tenemos: Densidad (15 °C) 0,936 a 0,950, punto de fusión: 29 - 34 °C, punto de solidificación: 24 – 19 °C.

La grasa de la leche puede presentar lipólisis debido a la actividad de la lipasa normal de la leche que es aún notable a la temperatura de 0 °C, pero esta enzima se destruye en el transcurso de la pasteurización (algunos segundos a 70 °C).

En el Cuadro 7 observamos la composición de ácidos grasos en la grasa de leche, en el que se puede apreciar que los principales ácidos grasos de la grasa de la leche son el oleico, el palmítico y el esteárico, como lo reafirma Fennema, (1993).

Cuadro 7. Principales ácidos grasos de los glicéridos de la leche

Acidos grasos	Número de carbonos	Contenidos medios % en peso
Acidos grasos saturados		
Butírico	4	3,4
Caproico	6	1,3
Caprílico	8	1,2
Cáprico	10	2,2
Laúrico	12	3,9
Mirístico●	14	13,1
Palmitico	16	25,3
Esteárico	18	10,6
Araquidónico	20	1,3
Behénico	22	tr
Mono-insaturados		
Caproleico	10	0,2
Lauroleico	12	0,3
Miristoleico	14	1,3
Palmitoleico	16	3,7
Oleico	18	30,8
Vecénico, gadoleico	18	0,7
Poli-insaturados		
Linoleico	18	3,2
Araquidónico	20	1,1
Acidos de 22 C	22	tr

Fuente: Amiot (1991)

2.6.1.4 Acidez titulable.- Según Alais (1970) la acidez de valoración es la suma de cuatro reacciones. Las tres primeras representan la acidez “natural” de la leche que equivale a 18 cc. de solución normal (N/1) por litro de leche.

- Acidez debida a la caseína; alrededor de 2/5 de la acidez natural
- Acidez debida a las sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos; igualmente unos 2/5 de la acidez natural.
- Reacciones secundarias debidas a los fosfatos; sobre 1/5 de la acidez natural. Estas reacciones se han designado con el término de “over-run”
- Acidez “desarrollada”, debida al ácido láctico y a otros ácidos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa en las leches en vías de alteración.

El mismo autor menciona que diferentes muestras de leche pueden tener el mismo pH y sin embargo, mostrar acideces sensiblemente diferentes. Inversamente, leches con la misma acidez pueden tener diferente pH. También señala que los valores de acidez comprendidos entre 15 y 22 °D no dan indicaciones precisas sobre el estado de la leche.

2.6.1.5 Colesterol.- Fennema (1993) señala que la leche contiene relativamente poco colesterol, por ejemplo un vaso de leche de 227 g contiene 27 mg, es decir 11,9 mg de colesterol en 100 g de leche

Puesto que el colesterol se encuentra en la membrana del glóbulo graso, su concentración está relacionada con el contenido graso.

2.6.2 Aceite semirrefinado de pescado

2.6.2.1 Índice de peróxido.- Según Fennema (1993) los peróxidos son los productos iniciales mayoritarios de la autooxidación, y puede medirse mediante

técnicas basadas en su capacidad para liberar yodo del yoduro potásico o para oxidar los iones ferrosos o férricos. Su concentración se expresa usualmente en miliequivalentes de oxígeno por Kg de grasa. La cantidad de oxígeno que debe absorberse o los peróxidos que deben formarse para producir el enranciamiento varían con la composición del aceite (las grasas más saturadas necesitan absorber menos oxígeno para enranciarse).

2.6.2.2 Acidez titulable.- La acidez de una grasa es normalmente una medida del contenido de ácidos grasos libres presentes en el aceite, los cuales se forman por la hidrólisis de triglicéridos.

El índice de acidez se define como el número de miligramos de hidróxido potásico que se requieren para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en un gramo de grasa. El porcentaje de ácidos grasos libres, expresado como ácido oleico, es igual al índice de acidez dividido por 1,99 (Mehlenbacher, 1979).

2.6.2.3 Composición de ácidos grasos.- En 1981 Portocarrero señala el contenido de EPA en aceite crudo de anchoveta de 16,70% y DHA 4,37%.

2.6.2.4 Colesterol.- Según Hjaltason, 1989 el contenido de colesterol en el aceite de pescado es de aproximadamente 0,5 –0,7%.

III. MATERIALES Y METODOS

El presente experimento se llevó a cabo en la Planta Piloto de Leche de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.1. Materia Prima e Insumos

3.1.1 Materia Prima

- a) Leche entera fresca, proveniente de la Unidad Experimental de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- b) Aceite semirrefinado de pescado proporcionado por la Empresa Operaciones Pesqueras

3.1.2 Insumos

- Saborizante de Leche fresca SD 15790, Montana S.A.
- Ascorbato de sodio cristalizado (sal sódica de Vitamina C), Lab. Roche
- Vitamina E 50 W.S., Lab. Aventis

3.2 Reactivos, Materiales y Equipos

3.2.1 Reactivos

- Acido acético glacial, q.p., p.a, Merck.
- Cloroformo, p.a. 99% pureza, Merck.
- Ioduro de potasio neutro, p.a., 99,5% pureza, Merck.
- Agua destilada

- Tiosulfato de sodio pentahidratado, p.a. , Merck.
- Benceno, 99,5% pureza, Carlo Erba.
- Etanol absoluto, p.a. 99,8% pureza, Merck.
- Fenolftaleína, Carlo Erba.
- Hidróxido de potasio, en lentejas, puro, Merck.
- Hidróxido de sodio, en lentejas, puro, Merck.
- Metanol, p.a. , 99,5% pureza, Merck.
- Eter de petróleo, q.p., p.a., INDUQUIMICA, S.R.
- Alcohol amílico puro, de densidad 0,813 a 0,815, medida a una temperatura de 15°C, y de punto de ebullición entre 128 °C y 132 °C.
- Acido sulfúrico, de densidad 1,820 a 1,825, medida a la temperatura de 15 °C.

3.2.2 Materiales

- Termómetro 0 – 100 °C
- Butirómetro de Gerber
- Material de vidrio de Laboratorio
- Pipetas graduadas de 10 ml, 1 ml
- Pipeta volumétrica de 11 ml.
- Erlenmeyer
- Titulador
- Lactodensímetro Quevenne, calibración 20°C
- Envases de polietileno de 1L, 0,20 L
- Alupol
- Ollas, jarras, cocina eléctrica, licuadora, cucharas

3.2.3 Equipos

- Balanza analítica marca OHAUS Analytical Plus .
- Baño maría Yamato, modelo BS - 44, Nro 110
- Cromatógrafo de gases Hitachi, modelo 162 equipado con FID (detector de ionización de llama de hidrógeno).
- Estufa Ikeda Scientific Co. Ltda., tipo 445
- Homogenizadora Rannie Homogenisers Homo - MIC Model LAB 150 L/hr.
- Marmita de pasteurización (acero inoxidable) de 40 litros de capacidad.

3.3. Parte Experimental

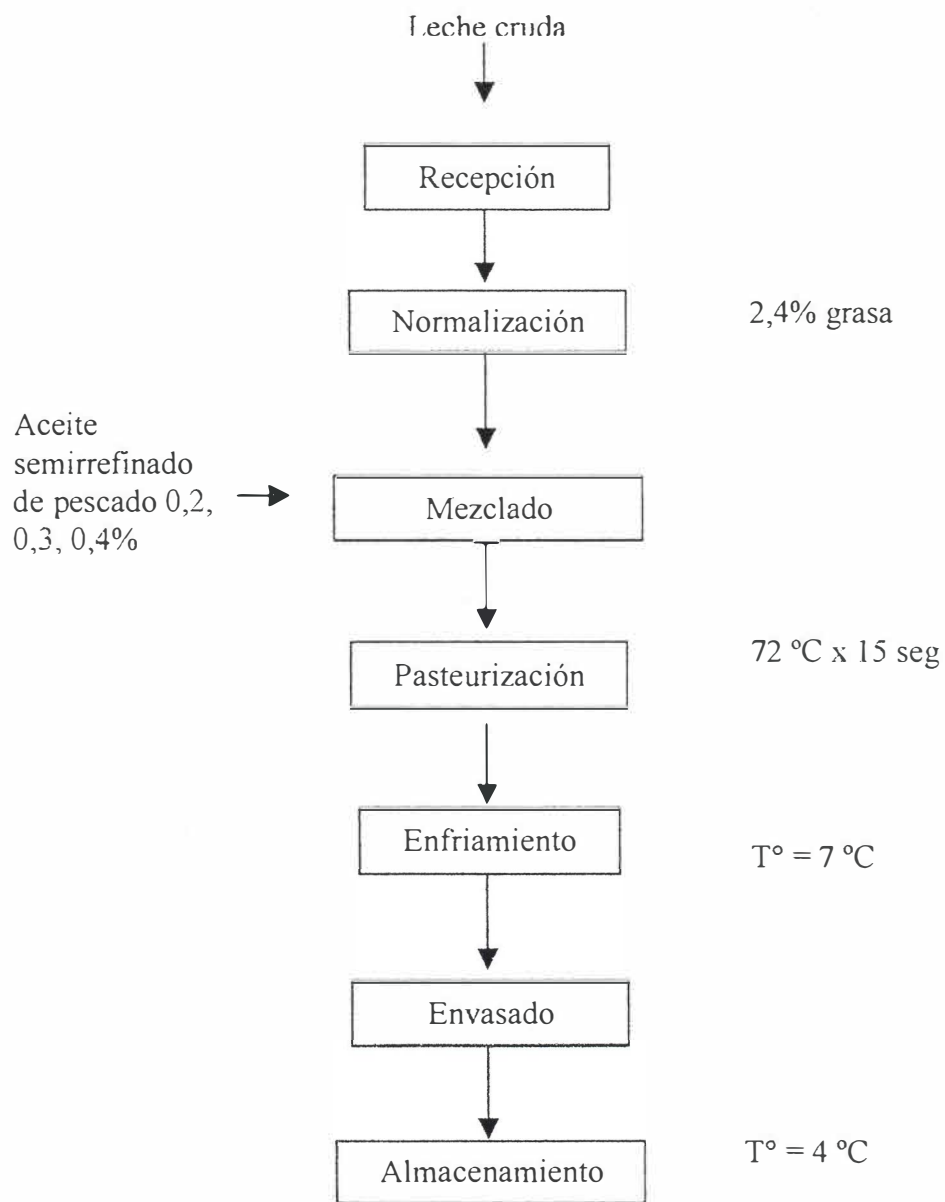
El presente trabajo de investigación se realizó en dos etapas: una a nivel laboratorio y la segunda a nivel de planta piloto que comprendía, el tratamiento preliminar y el tratamiento definitivo.

3.3.1 Elaboración de Leche Pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de Laboratorio

En la Figura 8 se muestra el diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con ácidos grasos EPA y DHA a nivel de laboratorio, cuyas operaciones se describen a continuación.

Estos tratamientos fueron evaluados mediante análisis sensorial, no se realizaron análisis físicoquímicos en esta etapa, por que el objetivo era determinar el porcentaje óptimo de aceite semirrefinado de pescado en el cual el sabor a pescado no sea detectado.

Figura 8: Diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con ácidos grasos EPA¹ y DHA² a nivel de laboratorio



¹EPA: Acido Eicosapentaenoico

²DHA: Acido Docosaheptaenoico

3.3.1.1 Recepción de la leche fresca

Al recepcionar la leche se procedió a medir sus características fisicoquímicas: densidad, grasa y acidez para asegurar la buena calidad de la leche y su cumplimiento con los requisitos de la NTP 202:001 1998 (ver Anexo 1). Se realizó la normalización de la leche para llevarla a un porcentaje de grasa de 2,4%.

3.3.1.2 Acondicionamiento de la leche.

Luego se procedió a calentarla a 55 °C para la adición del aceite semirrefinado de pescado. Las dosis de aceite empleadas para la evaluación fueron de: 0,2 , 0,3 y 0,4%, las que en 100 ml de leche tendrían teóricamente: 67, 100 y 134 mg de EPA y DHA respectivamente. Se consideró estos valores teniendo en cuenta que leches comerciales producidas en Italia (Parmalat Plus y Latte Prima Crescita) contienen entre 70 a 80 mg de EPA , DHA y LNA (ácido linolénico) en 100 ml de producto terminado.

3.3.1.3 Mezclado

Esta operación se realizó por medio de una licuadora por 3 minutos a la velocidad máxima.

3.3.1.4 Pasteurización.

Se realizó la pasteurización en una olla calentada por una cocina eléctrica a la temperatura de 72 °C durante 15 segundos. Inmediatamente se enfrió en baño maría hasta alcanzar la temperatura de 7 °C.

3.3.1.5 Envasado

Se envasó en botellías de plástico de 1 L

3.3.1.6 Almacenamiento

Cada uno de los tratamientos respectivamente codificados se almacenaron a una temperatura de 4 °C en cámara de refrigeración, y al tercer día se realizó la evaluación sensorial, considerándose que es el tiempo promedio en que el producto terminado llega al consumidor final.

3.3.2. Elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de Planta Piloto

3.3.2.1. Tratamientos preliminares

En la Figura 9 se muestra el Diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA y DHA a nivel de planta piloto “tratamientos preliminares” cuyas operaciones se detallan a continuación:

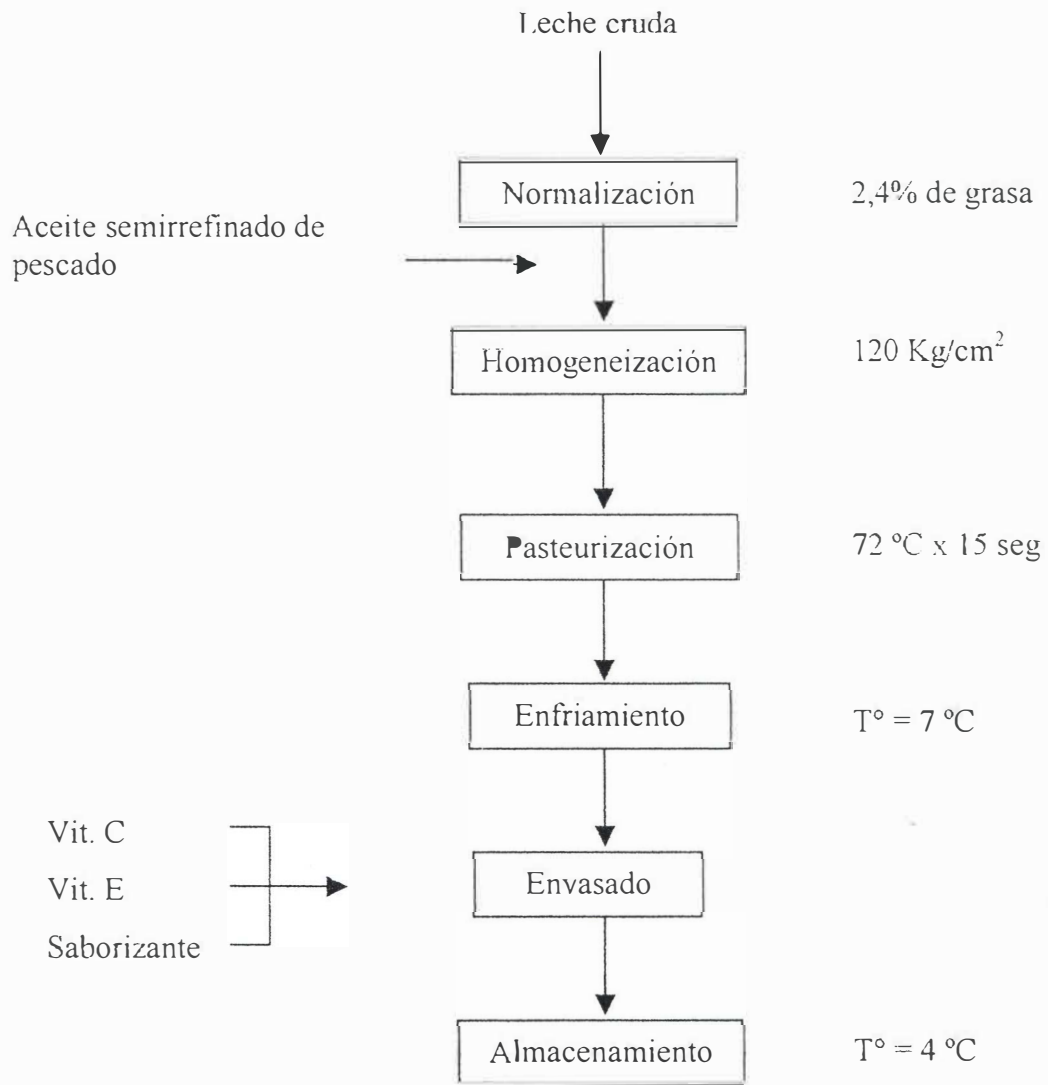
3.3.2.1.1 Recepción

Se recibió la leche y se midió sus propiedades físicoquímicas (Acidez, densidad y grasa). Se normalizó la grasa a 2,4%.

3.3.2.1.2 Acondicionamiento

Se calentó la leche a 55 °C y se le añadió el aceite de pescado semirrefinado (la dosis que se utilizó fue seleccionada en base a los resultados de la evaluación sensorial que se obtuvieron a nivel de laboratorio).

Figura 9: Diagrama de flujo para la elaboración de leche pasteurizada enriquecida con EPA¹ y DHA² a nivel de planta piloto "tratamientos preliminares³".



¹EPA: ácido eicosapentaenoico

²DHA: ácido docosahexaenoico

³tratamientos preliminares: Ver Cuadro 8

3.3.2.1.3 Homogeneización

Esta operación se realizó en una homogenizadora con un presión de 120 Kg/m² y a una temperatura de 55 °C.

3.3.2.1.4 Pasteurización

Se pasteurizó a 72 °C por 15 segundos. Posteriormente se enfrió la leche a 7 °C y se añadió los aditivos de acuerdo al Cuadro 8.

Cuadro 8. Tratamientos Preliminares a nivel de Planta Piloto para la Elaboración de Leche Pasteurizada con ácidos grasos EPA y DHA.

Tratamiento	Leche	ASRP 0,2%	Vit. C ^a 280 mg/L	Vit. E ^b 160 mg/L	Saborizante ^c 1,25 g/L
Control	X				
1	X	X			
2	X	X	X		
3	X	X	X		X
4	X	X		X	
5	X	X		X	X
6	X	X	X	X	
7	X	X	X	X	X

^a Según Bender (1995), los requerimientos de vitamina C varían entre 30-80 mg/día para adultos, además señala que ingestas elevadas de esta vitamina ayudan a la absorción de hierro por lo que se tomó 70 mg/día como dosis a adicionar a la leche considerando que el público consume en promedio 1 taza (250 ml) de leche diario.

^b Bender (1995) señala que niveles beneficiosos de vitamina E son del orden de

17 a 40 mg de α -tocoferol/día por lo que se tomó 40 mg/día para estos tratamientos siguiendo el mismo concepto que en ^a.

^c La dosis de 1,25 g/L de saborizante es la recomendada por la empresa fabricante.

Se adicionó las vitaminas C y E por su efecto antioxidante como lo señala Bender (1995) con la finalidad de mejorar el sabor y lograr mayor conservación de la leche durante almacenamiento.

Según ROCHE (2000) la vitamina C actúa como amortiguador entre el aire y el alimento sensible al aire, evitando de esta manera su oxidación y por consiguiente su enranciamiento y mal sabor.

Además actúa reforzando los efectos y la duración de la actividad de otros antioxidantes como la vitamina E (Tolonen, 1995).

La vitamina E se le adicionó a la leche que contenía aceite semirrefinado de pescado ya que como menciona Tolonen, (1995): Muchos alimentos que contienen grasas poliinsaturadas que tienden a enranciarse se le adiciona vitamina E.

3.3.2.1.5 Envasado

Se envasó en botellas de plástico de 1 L y en 6 botellitas de 0,2 L para su evaluación durante el almacenamiento.

3.3.2.1.6 Almacenamiento

Se almacenó en cámara de refrigeración a 4 °C. Al tercer día se realizó la evaluación sensorial. Los análisis físico-químicos: pH y acidez se determinaron cada 2 días, por un período total de 13 días.

3.3.2.2. Tratamiento definitivo

Las operaciones realizadas para obtener el “tratamiento definitivo”, siguieron los mismos pasos para la elaboración de los “tratamientos preliminares”, con la diferencia que los aditivos correspondientes: vitamina E (160 mg/L) y saborizantes (1,25 g/L) se añadieron en el paso de acondicionamiento de la leche (antes de la homogeneización), para que estos aditivos puedan disolverse fácilmente, en lugar de adicionarlos luego del enfriamiento, durante el envasado. El envasado se realizó en botellas de plástico de 1 litro y en 12 botellas pequeñas de 0,2 litros para su evaluación durante el almacenamiento que fue de 12 días en los cuales se midió pH y acidez diariamente.

3.4 Métodos de análisis

3.4.1 Leche

3.4.1.1 Densidad

Según Lora (1996), establece el siguiente procedimiento para determinar la densidad de la leche:

- Se toma la muestra representativa en una probeta.
- Se introduce el lactodensímetro en la leche, teniendo cuidado de que éste flote libremente y que no se presente espuma pegada a la espiga.
- Se determina la temperatura de la leche y se comprueba que ésta esté comprendida en el rango de 10 a 20 °C.
- Se efectúa la lectura en la espiga del lactodensímetro en el punto más alto que alcanza el menisco.
- De estar la temperatura a 15 °C la lectura será exacta y no ha de requerir ajustes adicionales.

- De ser la temperatura superior o inferior a 15 °C y estar comprendida entre 10 y 20 °C se procederá a corregir el valor de la densidad agregando o restando por cada grado por encima o debajo de 15 °C el factor 0,0002.
- Ejemplo: Sea que la lectura se ha efectuado a 18 °C y resultó ser 1,032 la densidad corregida a 15 °C será:

1,032	+	(18-15)	x	0,0002	=	1,0326
Lectura		diferencia de		factor		Lectura
		temperatura				corregida
- De ser la lectura inferior a 15 °C habrá que corregir restando.

3.4.1.2 pH

Según Lora (1996) el pH mide la concentración hidrogeniónica, expresando simplemente la potencia de la acidez, existe correlación entre pH y la acidez titulable, aunque no es de extrañar variaciones manifiestas.

Estas determinaciones se hacen con potenciómetros o por colorímetros.

El pH (acidez activa) de una leche normal varía entre 6,2 y 6,8, pero la mayoría de las leches tienen un pH comprendido entre 6,4 y 6,6 (Amiot, 1991).

Alais (1970) manifiesta que la leche tiene una reacción iónica cercana a la neutralidad. La leche de vaca tiene una reacción débilmente ácida un pH comprendido entre 6,6 y 6,8, como consecuencia de la presencia de caseína y de los aniones fosfórico y cítrico principalmente.

El pH no es un valor constante, sino que puede variar en el curso del ciclo de lactación y bajo la influencia de la alimentación.

En lo que se refiere a la leche de vaca, deben considerarse como anormales los valores de pH inferiores a 6,5 o superiores a 6,9. El calostro de vaca tiene un pH más bajo a causa de su elevado contenido de proteínas.

La leche humana es neutra o ligeramente alcalina, variando su pH de 7 a 7,5. Los valores de pH representan un estado y son más significativos que los valores de la acidez, especialmente en lo que a la estabilidad de la leche se refiere.

3.4.1.3 Grasa

Lora (1996) describe el siguiente procedimiento para la determinación de la grasa según el método de Gerber:

- Se toma 10 cc. de ácido sulfúrico en el butirómetro
- El ácido sulfúrico debe ser del tipo comercial con una densidad de 1,820 a 1,825.
- Agregar 11 cc. De leche con precaución.
- Agregar 1 cc. De alcohol amílico
- Tapar el butirómetro
- Mezclar el contenido del butirómetro mediante sucesivas inversiones.
- Centrifugar por 5 minutos a 1,200 rpm.
- Efectuar la lectura

3.4.1.4 Acidez Titulable

Lora (1996) describe los siguientes pasos para la determinación de la acidez de la leche:

- Se toma un vaso de preferencia de fondo blanco y se agrega 9 ml de leche, luego se agrega 2 o 3 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína al 1% y se procede a titular con soda 0,1 N dejando caer gota a gota la solución hasta conseguir el primer tono rosado persistente por medio minuto.
- Entonces se efectúa la lectura, teniéndose en cuenta que cada décima de

centímetro cúbico de gasto de solución de soda 0,1N equivale a 0,01% de ácido láctico ó 1°Dórníc.

3.4.2 Aceite semirrefinado de pescado

3.4.2.1 Índice de peróxido

Según la NTP ITINTEC 209.006 describe el siguiente procedimiento :

- Se pesan $5,0 \pm 0,05$ gr de muestra se introducen en el frasco erlenmeyer (250 ml). Se adiciona 30 ml de solución de ácido acético y cloroformo y se tapa se remueve el frasco hasta que la muestra se disuelva en la solución.
- Se agrega 0,5 ml de solución saturada de yoduro de potasio, es preferible usar la pipeta volumétrica de 0,5 ml.
- Se agita la solución por un período exacto de 1 minuto y luego se agrega 30 ml de agua destilada.
- Se titula con solución de tiosulfato de sodio 0,1 N, agregándose gradualmente y en agitación vigorosa. Se continúa la titulación hasta que el color amarillo haya casi desaparecido. Se adiciona 0,5 ml de solución de almidón indicador. Se continua la titulación agitando el frasco vigorosamente cerca del frasco final para liberar todo el yodo de la solución en cloroformo sedimentado.
- Se agrega el tiosulfato gota a gota hasta que el color azul desaparezca.
- Si la titulación es menor que 0,5 ml se repite la determinación usando la solución de tiosulfato de sodio 0,01 N.
- Se conduce simultáneamente una determinación en blanco de los reactivos.
- El titulo en blanco no debe exceder de 0,1 ml de solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.

El valor de peróxido se calcula de la siguiente manera:

Valor de peróxido como miliequivalente de peróxido por 1000 gr de muestra.

$$\frac{S \times N \times 1000}{\text{Peso de la muestra}}$$

S = ml de solución de tiosulfato de sodio usado en la titulación

N = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

3.4.2.2 Acidez libre

La NTP ITINTEC 209.005 describe el siguiente procedimiento para hallar la acidez de los aceites y grasas comestibles:

- Se colocan 50 ml de alcohol en el erlenmeyer de 250 ml y se adicionan unas pocas gotas de la muestra. Se agregan 2 ml de solución indicadora de fenolftaleina y se calienta en baño maría a una temperatura de 60 °C a 65°C.
- Se adiciona hidróxido de sodio 0,1 N, gota a gota, agitando fuertemente hasta que se obtenga el tenue color rosado permanente.
- Se agregan 50,4 g de muestra, se calienta de 60 °C a 65°C y se titula con hidróxido de sodio 0,1N, agitando fuertemente hasta obtener un tenue color rosado permanente. Este color debe ser de la misma intensidad que el obtenido en el alcohol antes de adicionarle los 56,4 g de muestra y debe persistir por espacio de 30 segundos. El color debe ser observado en la capa alcohólica que queda sobre la muestra después de haberse permitido decantar, generalmente la muestra decanta suficientemente en 1 minuto.
- El cálculo del porcentaje de acidez libre se calcula expresándolo como ácido oleico en porcentaje de la siguiente manera:

$$\text{A.L. \%} = \frac{\text{ml de álcali} \times \text{N } 28,2}{\text{Peso de la muestra}}$$

3.4.2.3 Composición de ácidos grasos

La composición en ácidos grasos del aceite de pescado fue determinada mediante la cromatografía gas-líquido según el método descrito por Vigneron et al (1973) después de la metil esterificación con hidróxido de sodio-metanol 100 mg de aceite fueron disueltos en 1ml de éter de petróleo en un tubo de ensayo y se agregó 0,2 ml de NaOH 3N en metanol, fueron agitados por 10 segundos y colocados en baño maría a 50 °C, luego se agregó 0,2 ml de HCl 3N en metanol, se agitó en un vortex y se dejó reposar por 5 minutos, inyectándose en el cromatógrafo 2 ul del sobrenadante.

Las condiciones usadas en el cromatógrafo gas – líquido fueron las siguientes: columna de vidrio de 2 m de longitud y 3 mm de diámetro interno, empacada con 15% DEGS/UNIPORT B 60 – 80 de malla.

La temperatura de la columna fue programada de 160- 120 °C a razón de 1 °C/ min y el flujo del gas nitrógeno fue de 20 ml/min. La cuantificación de los ácidos grasos determinados se realizó mediante un integrador electrónico adosado al cromatógrafo.

3.4.3 Tratamiento definitivo

La Densidad, Acidez y Grasa se determinó de acuerdo a la metodología de Lora (1996) descrita anteriormente.

Para determinar la composición de ácidos grasos del producto final se empleó el método: ISO 5509-1978-ISO 5508:1990.

Para determinar el colesterol se empleó el método AOAC (1993).

3.4.4 Controles durante el almacenamiento

El control de pH y acidez fue cada 2 días (interdiario) durante trece días para los tratamientos preliminares.

Para el tratamiento definitivo los controles de pH y acidez fue diario durante los doce días.

La evaluación sensorial para los tratamientos a nivel laboratorio, preliminares y definitivos se realizó al tercer día, considerándose ese día como el tiempo promedio en que el producto terminado llega al consumidor

3.4.5 Evaluación Sensorial

Para determinar el porcentaje de aceite de pescado semirrefinado óptimo en la leche se realizó la Prueba de Determinación del Grado de Satisfacción con Escalas Hedónicas Verbales cuya ficha para su evaluación se encuentra en el Anexo 4 con un panel no entrenado de 30 jueces. El mismo método se empleó para determinar el mejor sabor entre los ocho tratamientos, en los que incluía adición de vitamina E, C y saborizante (Anzaldúa, 1994).

El tratamiento que resultó ser el mejor entre los ocho se le analizó sensorialmente mediante una prueba de preferencia cuya ficha para su evaluación se encuentra en el Anexo 5 comparándola con la leche pasteurizada La Molina, contándose con un panel de 80 jueces no entrenados (Anzaldúa, 1994).

3.4.6 Análisis estadístico

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados mediante la prueba de determinación del grado de satisfacción con escalas hedónicas verbales, se empleó la Prueba de Friedman (Anexo 6) (Ureña, 1999).

Para determinar el producto que tenía mayor preferencia por el público

consumidor se interpretó las respuestas mediante la tabla de la prueba de 2 muestras (ver Anexo 7), como recomienda Anzaldúa (1994).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características de la Materia Prima

4.1.1 Leche fresca

A continuación en el Cuadro 9 se describe las características de la leche fresca utilizada en las tres etapas del desarrollo de la presente investigación

Cuadro 9: Características fisicoquímicas de la leche fresca utilizada en las tres etapas del desarrollo de la presente investigación

Etapas	Grasa (%)	Acidez (°D)	Densidad (g/ml)
Laboratorio	3	15	1,0308
Preliminar	3	15	1,0297
Definitivo	3	15	1,0298

En los tres casos la grasa inicial fue de 3% pero se normalizó a 2,4%, igualmente se observa que tanto la acidez como la densidad cumplen con los requisitos establecidos por la Norma Técnica Nacional aplicada a nuestro medio INDECOPI 202.001.1998 (Ver Anexo 1).

4.1.2 Aceite semirrefinado de pescado

En el Cuadro 10 se muestran las características del aceite semirrefinado de pescado que fue utilizado para la elaboración del producto.

Cuadro 10. Características fisicoquímicas del aceite semirrefinado de pescado

Análisis fisicoquímico	Resultados
Índice de peróxido (meq O ₂ /Kg de muestra)	5,0
Acidez(g/100 g de muestra) (expr. como ácido oleico)	0,09

Estos resultados están de acuerdo con los requisitos establecidos en la NTP 312.009 para aceites semirrefinados de pescado (ver Anexo 2).

Además el índice de peróxido está de acuerdo a Smith (1992) que menciona como requisito para aceite marino no más de 10 meq de O₂/Kg de aceite.

Por otro lado, la composición en ácidos grasos de las muestras de aceite de pescado utilizados se indican en el Cuadro 11.

En el cual se puede observar la composición de ácidos grasos de mayor a menor, en primer lugar el EPA (20,94%), seguido por el ácido palmítico (18,25%), luego el ácido oleico (18,13) y luego el DHA (12,53%). Además se puede observar que hay mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (34,26%).

Por otro lado es importante resaltar la suma de los ácidos grasos poliinsaturados C20:5 (EPA) y C22:6 (DHA), que son los más importantes desde el punto de vista nutricional y terapéutico. Estos ácidos suman un total 33,47%, en promedio, lo que indica que forman el mayor porcentaje de ácidos grasos presentes en el aceite.

Cuadro 11. Composición en ácidos grasos del aceite semirrefinado de pescado (ASRP)

Acido graso	Cn:m	Contenido (%)
Mirístico	14:0	8,74
Palmítico	16:0	18,25
Palmitoleico	16:1	7,08
Estéarico	18:0	1,19
Oleico	18:1	18,13
Linoleico	18:2	0,79
Linolénico	18:3	Nd
Araquídico	20:0	Nd
Araquidónico	20:4	Nd
Eicosapentaenoico	20:5	20,94
Docosatrienoico	22:3	Nd
Docosatetraenoico	22:4	Nd
Docosapentaenoico	22:5	Nd
Docosahexaenoico	22:6	12,53
Saturado		28,18
Monoinsaturado		25,21
Poliinsaturado		34,26
Total		87,65
EPA+ DHA		33,47

Nd: no determinado

Al comparar los resultados obtenidos con la composición de ácidos grasos del aceite encapsulado de marca comercial “MAX EPA” que presenta en promedio un 30% de EPA y DHA, se observa que dichos resultados son similares, sin embargo, la suma de EPA y DHA del aceite utilizado en el presente estudio fue algo mayor. Al respecto, Ackman *et al.* (1989) mencionan que los aceites de pescado que son comercializados en forma de cápsulas como suplementos de ácidos grasos n-3 poseen concentraciones de EPA y DHA que oscilan entre 25 y 55%.

En la semirrefinación del aceite de pescado (que incluye procesos de neutralización, secado y blanqueado) no se realizó una winterización, por lo cual el contenido de ácidos grasos saturados, principalmente el ácido palmítico, se encontró en un 18,25% de ácido palmítico, el cual es un tanto alto.

4.2 Resultados de los tratamientos a nivel laboratorio

4.2.1 Resultados de la evaluación sensorial

De acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial mediante prueba de escalas hedónicas (Cuadro 12) y análisis estadístico (ver Anexo 8) se determina que existen diferencias significativas entre los 3 tratamientos por lo que se eligió el tratamiento 1 (leche con 0,2% de aceite semirrefinado de pescado) como más aceptable por los panelistas, ya que su puntaje era menor en comparación con los demás. Este resultado refleja que el consumidor no acepta la leche con un fuerte sabor y olor a pescado, características que le otorga la adición del aceite.

Si bien es cierto, el nivel de 0,2% de adición de aceite, es el menor valor entre los evaluados, estaría aportando 67 mg de EPA y DHA por 100 mL de leche. Según la Fundación Británica para la Salud, se recomienda que el consumo diario de EPA y DHA sea 1 g por día, por tanto parte de este requerimiento sería cubierto por el consumo de leche enriquecida con estos ácidos grasos.

Cuadro 12. Resultados de la Prueba de Escalas Hedónicas Verbales de los tratamientos de laboratorio para ver el nivel óptimo de ASRP* a utilizar (0,2, 0,3, 0,4%).

Panelista	Tratamiento1	Tratamiento2	Tratamiento3
1	3	3	4
2	2	5	5
3	3	2	3
4	2	3	4
5	3	4	5
6	2	4	5
7	4	4	4
8	2	4	5
9	3	4	4
10	2	3	4
11	3	2	4
12	4	5	4
13	2	5	5
14	3	4	5
15	3	2	2
16	2	5	4
17	3	3	5
18	1	3	5
19	1	2	4
20	3	4	5
21	3	4	5
22	1	2	3
23	4	4	5
24	2	4	5
25	3	4	5
26	5	5	5
27	4	5	4
28	5	3	3
29	2	5	5
30	3	3	4
	83	110	130

*ASRP: Aceite semirrefinado de pescado

Tratamiento1: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP

Tratamiento2: leche con 2,4% de grasa + 0,3% de ASRP

Tratamiento3: leche con 2,4% de grasa + 0,4% de ASRP

4.3 Resultado de los tratamientos a nivel de planta piloto

4.3.1 Tratamientos preliminares

4.3.1.1 Análisis fisicoquímico durante su almacenamiento

En el Cuadro 13 y Figura 10 se muestran las variaciones de pH durante el almacenamiento de los tratamientos preliminares.

Cuadro 13. Variación de pH de los Tratamientos Preliminares durante el Almacenamiento

Trat Día	Control	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1°	6,6	6,6	6,5	6,6	6,5	6,5	6,5	6,5
4°	6,6	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
6°	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6
8°	6,6	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
11°	6,6	6,4	6,4	6,6	6,4	6,4	6,4	6,4
13°	6,5	6,6	6,6	6,5	6,4	6,3	6,3	6,3

Control: leche con 2,4% de grasa

T1: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP

T2: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C

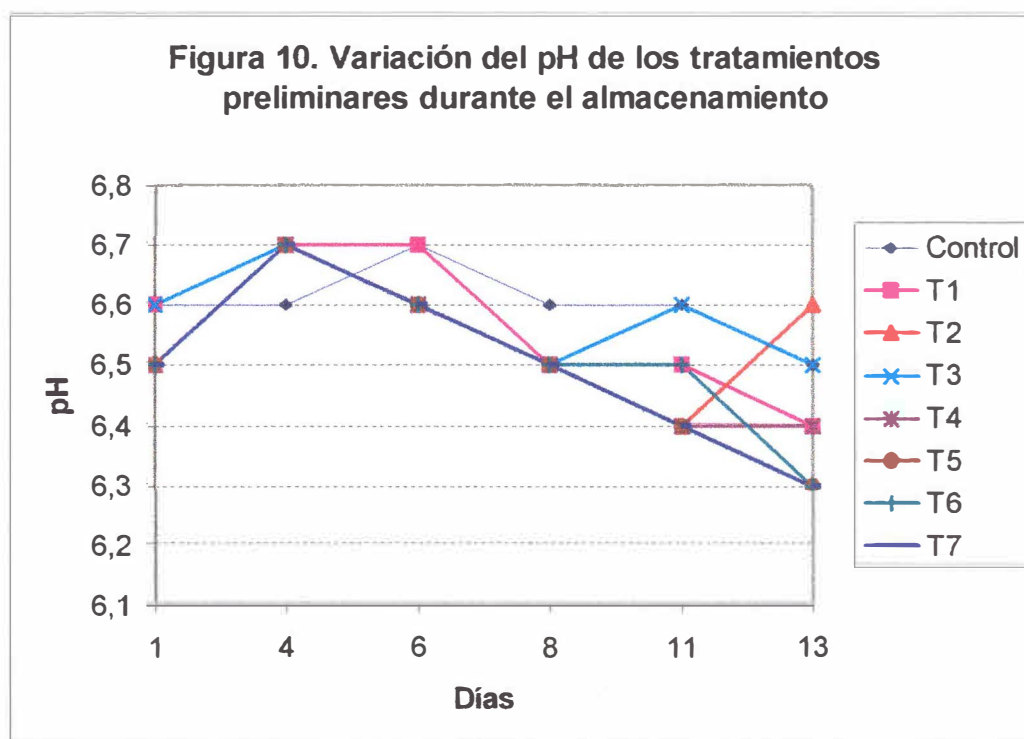
T3: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C + saborizante

T4: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E

T5: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + saborizante

T6: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C

T7: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C +
saborizante.



Todos los tratamientos incluyendo el control experimentan un comportamiento similar en sus curvas de pH a través de los 13 días de evaluación. Se aprecia un incremento gradual de pH hasta el cuarto día, luego del cual se distingue una disminución progresiva hasta el último día de evaluación. El tratamiento 1 (leche + 0,2% de aceite semirrefinado de pescado) se diferencia del resto por presentar el incremento inicial hasta el día 6 y luego el comportamiento es similar a los otros tratamientos. Además se puede apreciar que todos los tratamientos incluyendo el control tienen al inicio un pH entre 6,5 y 6,6, se observa que hasta el final (día 13) el rango está entre los límites que señala Amiot (1991) como una leche normal.

Los tratamientos 2 y 3, los cuales contenían vitamina C fueron los que hasta el día 13 de almacenamiento tuvieron el pH más alto (6,6 y 6,5 respectivamente). Al parecer la adición de vitamina C a la leche favorece a una menor disminución del pH de la leche durante su almacenamiento.

En el Cuadro 14 y Figura 11 se muestran las variaciones de acidez durante el almacenamiento de los tratamientos preliminares.

Cuadro 14. Variación de la Acidez de los Tratamientos Preliminares durante el Almacenamiento

Trat Día	Control	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1°	15	14	14,5	14,5	14	14,5	14	14,5
4°	15	14	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5
6°	15	14	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5
8°	15	15	14,5	15	14,5	15,5	15	15
11°	16	16	15	16	19	20	17,5	22
13°	16	18,5	15	16	19,5	22,5	23,5	22,5

Control: leche con 2,4% de grasa

T1: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP

T2: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C

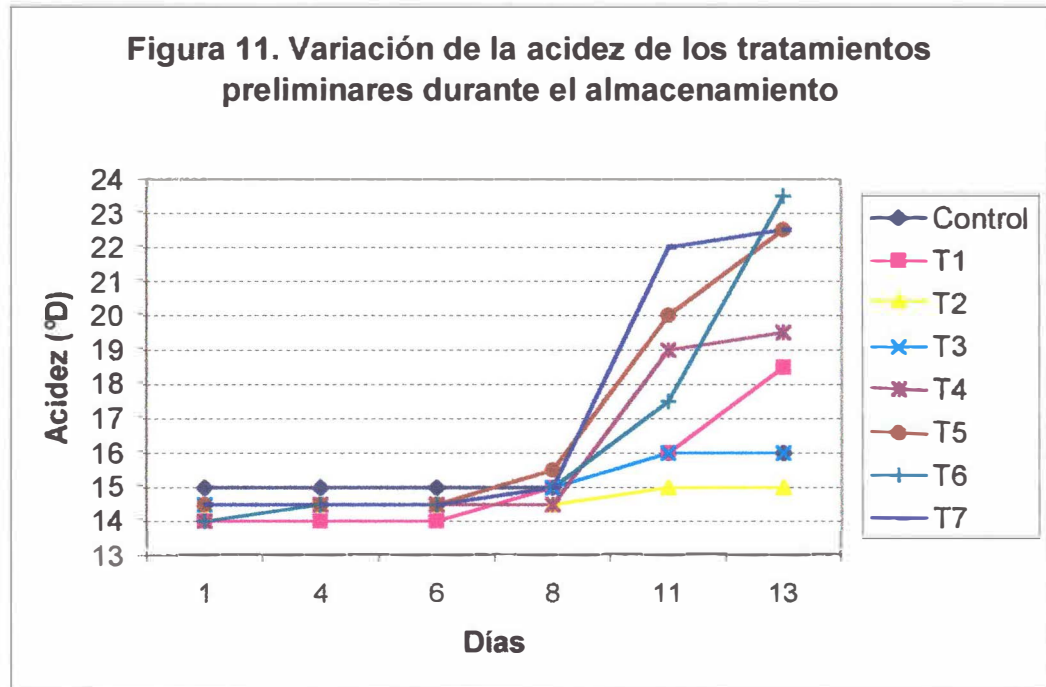
T3: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C + saborizante

T4: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E

T5: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + saborizante

T6: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C

T7: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C +
saborizante.



Como se puede observar en la Figura 11 todos los tratamientos y el control tuvieron una acidez constante durante los 6 primeros días, a partir del cual empezaron a aumentar su acidez hasta el último día de almacenamiento.

Sin embargo el control como los tratamientos 2 y 3, los cuales contenían vitamina C, tuvieron progresivamente un comportamiento casi constante hasta el final de la evaluación.

Los valores de acidez final para el control como tratamiento 2 y tratamiento 3 fueron 16, 15 y 16 °D (0,16, 0,15 y 0,16 g de ácido láctico/ 100 g de leche) respectivamente hasta el día 13 de almacenamiento, por lo que se puede decir que durante este tiempo estos tratamientos conservan su acidez dentro de los requisitos establecidos para una leche pasteurizada según la NTP 202.086 (ver Anexo 3).

En cuanto a los valores de acidez de los tratamientos 4 y 5 que contenían vitamina E, el día 11 de almacenamiento ya no era aceptable, de acuerdo a los requisitos

de la Norma Técnica Peruana para leche pasteurizada, por que presentaba una acidez alta de 19 y 20 °D respectivamente por lo que se puede deducir que la vitamina E (alfa-tocoferol) no tiene efecto positivo sobre la conservación de la leche.

Por el contrario los tratamientos 6 y 7 que contenían vitamina E y vitamina C tuvieron una acidez más alta hasta el día 13 de almacenamiento, de 23,5 y 22,5 °D respectivamente con lo que se puede deducir que la mezcla de estas dos vitaminas no ayudan a controlar la acidez de la leche como sucede cuando se adiciona vitamina C solamente tal como se hizo referencia anteriormente con el tratamiento 2.

4.3.1.2. Resultados de la evaluación sensorial

En el Cuadro 15 se observa los resultados que se obtuvieron de la evaluación sensorial para estos tratamientos preliminares (las pruebas estadísticas se encuentran en el Anexo 9)

De todos los tratamientos el que tuvo mayor preferencia fue el control (leche pasteurizada y homogenizada sin adición de ningún aditivo), luego en segundo lugar quedó el tratamiento 5. Aunque se puede decir que no existen diferencias significativas entre este tratamiento y los tratamientos 1 y 3, según nos demuestra los resultados de la prueba estadística de Friedman. Sin embargo se escogió el tratamiento 5 como el mejor de todos los que contenían aceite semirrefinado de pescado porque tuvo menor puntaje (82), lo que quería decir que era más aceptado por los panelistas.

Cuadro 15. Resultados de la Prueba de Escalas Hedónicas Verbales de los tratamientos preliminares a nivel de planta piloto.

Panelista	Control	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	1	3	4	2	3	3	2	3
2	3	1	2	2	2	1	3	1
3	2	5	5	4	5	5	4	4
4	1	2	4	5	4	5	5	5
5	2	4	4	3	4	2	4	5
6	1	3	5	3	4	4	4	5
7	5	5	5	2	3	5	3	3
8	5	1	5	5	4	1	2	3
9	1	4	3	5	5	2	5	5
10	1	5	5	2	4	2	2	2
11	4	4	5	2	4	5	4	5
12	2	4	5	5	5	3	5	5
13	1	3	2	5	5	1	5	5
14	1	2	3	5	4	1	4	5
15	1	2	4	5	5	1	5	5
16	3	2	2	5	5	2	5	5
17	2	1	1	2	4	1	3	4
18	1	2	4	1	1	4	4	2
19	2	5	5	2	5	5	5	5
20	4	2	5	2	3	1	2	4
21	1	2	5	4	4	4	4	5
22	2	5	5	3	5	3	5	4
23	1	5	4	1	3	3	4	2
24	1	3	5	1	3	2	5	2
25	2	2	2	4	2	4	2	2
26	1	1	1	4	3	1	1	2
27	4	4	4	1	3	4	3	4
28	1	2	4	3	3	1	3	2
29	2	3	5	3	5	5	5	5
30	1	1	2	3	5	1	4	4
	59	88	115	94	115	82	112	113

Control: leche con 2,4% de grasa

T1: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP

T2: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C

T3: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina C + saborizante

T4: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E

T5: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + saborizante

T6: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C

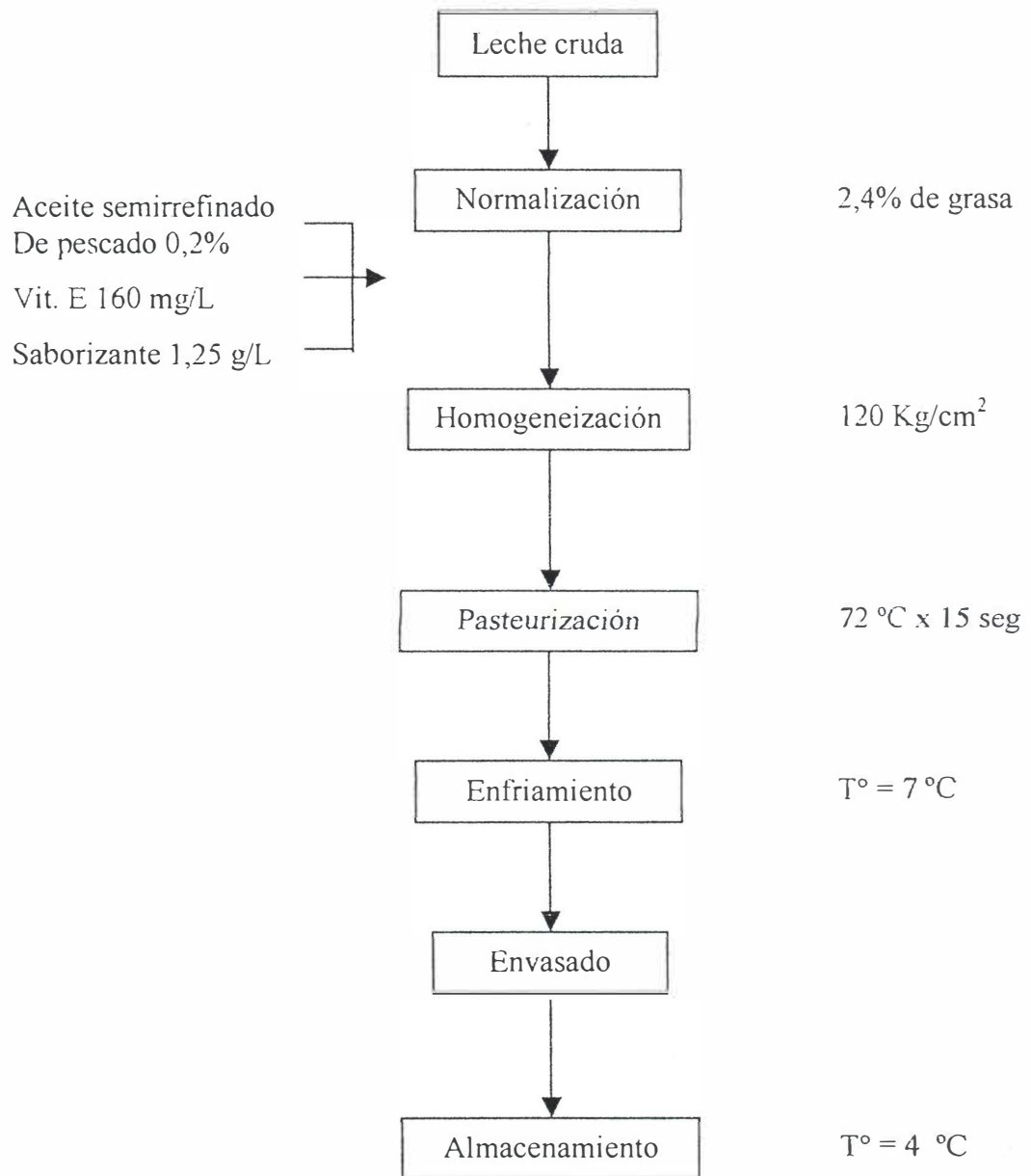
T7: leche con 2,4% de grasa + 0,2% de ASRP + vitamina E + vitamina C + saborizante.

Como se puede observar los tratamientos 2, 6 y 7 que contenían Vitamina C (ver Cuadro 8) tuvieron menos aceptación por lo que se deduce que este aditivo en lugar de enmascarar el sabor a pescado lo acentúa confiriéndole un sabor desagradable. Aún siendo la dosis empleada de vitamina C de 280 mg/L de leche. Estos resultados no concuerdan con lo que afirma ROCHE (2000) que dice que la concentración mínima que asegura una protección del sabor ha probado ser de alrededor de unos 10 mg de vitamina C por litro de leche. Este nivel se mantiene con seguridad agregando 30 a 40 mg de vitamina C por litro. El exceso de vitamina C es necesario para contrarrestar la acción del aire disuelto hasta el momento del consumo.

4.3.2 Tratamiento definitivo

De acuerdo a los resultados obtenidos en la etapa anterior se escogió el tratamiento 5 que contenía leche + 0,2% de aceite semirrefinado de pescado, 160 mg/L de Vit E y 1,25 g/L de saborizante como tratamiento definitivo (ver Figura 12)

Figura 12: Elaboración de leche pasteurizada con EPA¹ y DHA² a nivel de planta piloto “tratamiento definitivo”



EPA¹: ácido eicosapentaenoico

DHA²: ácido docosaheptaenoico

4.3.2.1 Características del tratamiento definitivo

En el Cuadro 16 se muestra los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos del tratamiento definitivo.

Cuadro 16 . Análisis Físicoquímicos del tratamiento definitivo

Ensayo	Resultado
Acidez (°D)	14
Densidad (g/ml)	1,029
Grasa (%)	2,6
Colesterol (mg/100g)	5,82

Tanto la acidez como la grasa se encuentran dentro de los requisitos de la NTP 202.086-1987 para una leche pasteurizada semidescremada, la densidad no se encuentra conforme de acuerdo a lo NTP debido a la adición de aceite semirrefinado de pescado cuya densidad es menor a la de la grasa de la leche, lo que hace que la densidad total de la leche disminuya.

El nivel de colesterol resultó ser de 5,82 mg/100 g de leche enriquecida con EPA y DHA, comparándolo con los datos obtenidos por Moreiras (1997) para una leche de vaca semidescremada (marca Pascual) que es de 5,9 mg/100 g de leche, no hay mucha diferencia por lo que se puede decir que la adición de aceite semirrefinado a la leche no afecta significativamente el nivel de colesterol, en cambio se produce una disminución si ocurre en la sangre, cuando es ingerido y metabolizado por el organismo, como se comprobó con los huevos de codorniz (Rojas et al., 2000)

En el Cuadro 17 se muestran los resultados obtenidos de la composición de ácidos grasos que contenía la leche pasteurizada enriquecida con ácidos grasos EPA y DHA con 2,6% de grasa.

Cuadro N° 17 . Composición de ácidos grasos del tratamiento definitivo

Acidos grasos	Cn:m	(%)
Butírico	4:0	0,01
Caproico	6:0	1,18
Caprílico	8:0	2,08
Cáprico	10:0	4,97
Láurico	12:0	4,86
Mirístico	14:0	11,45
Miristoleico	14:1	1,35
Pentadecanoico	15:0	0,97
Cis-10-Pentadecenoico	15:1	0,17
Palmítico	16:0	24,22
Palmitoleico	16:1	1,27
Margárico	17:0	0,40
Cis-10-heptadecenoico	17:1	0,16
Estearico	18:0	8,23
Oleico	18:1	26,47
Linoleico	18:2	8,92 (n-6)
Linolénico	18:3	2,22 (n-3)
Gadoleico	20:1	0,70
Eicosadienoico	20:2	0,17
Eicosatrienoico	20:3	0,06
Eicosapentaenoico (EPA)	20:5	0,05 (n-3)
Docosapentaenoico	22:5	0,05 (n-3)
Docosaheptaenoico (DHA)	22:6	0,04 (n-3)
Saturado		58,37
Monoinsaturado		30,12
Poliinsaturado		11,51
Total		100,00

El tratamiento definitivo contenía 23,4 mg de EPA y DHA/ L de leche, Sin embargo, el contenido de ácidos grasos Omega-3 se eleva a 61 mg de ácidos n-3 en 100 ml de leche al considerar el ácido linolénico y el ácido docosapentaenoico; acercándose a los valores de las leches "Latte Prima Crescita" y "Parmalat Plus" elaboradas en Italia que muestran, por cada 100 ml, 70 a 80 mg de ácidos grasos Omega-3 (EPA + DHA + ácido linolénico) (Parmalat, 2000). En el mercado peruano se encuentra leche evaporada Nestlé que declara contener 74 mg de ácido linolénico (n-3) por 100 ml de producto aportados por la combinación de aceites vegetales canola/maíz y 4 mg de colesterol.

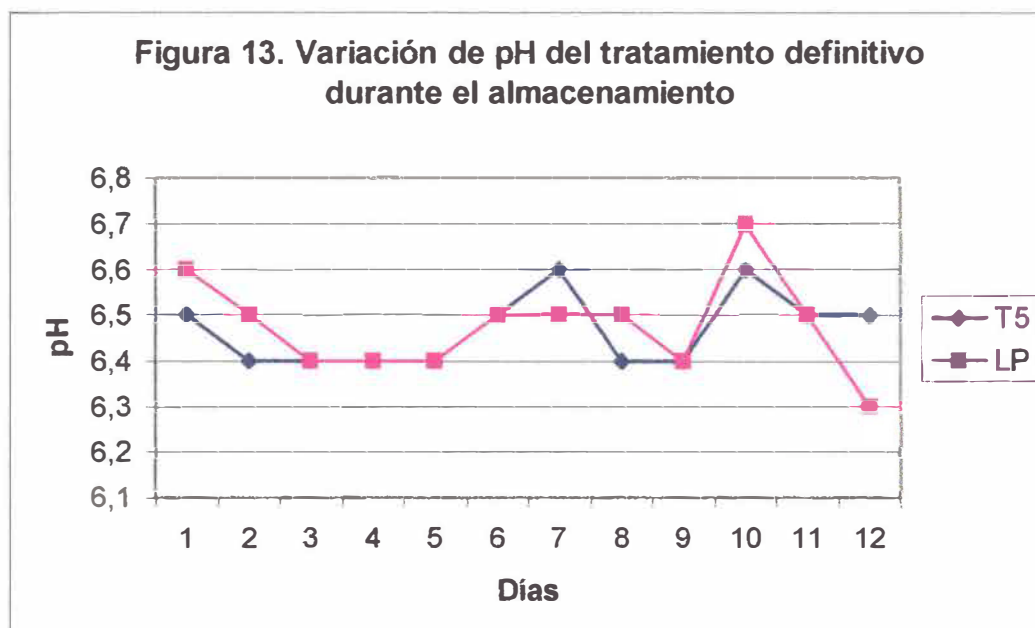
4.3.2.2 Análisis fisicoquímico durante su almacenamiento

El tiempo de almacenamiento fue de 12 días, tiempo en el cual se procedió a controlar tanto la acidez como el pH, para determinar el tiempo de duración del producto.

En el Cuadro 18 y Figura 13, muestra los cambios de pH del tratamiento definitivo durante el almacenamiento.

Cuadro 18. Variación de pH del tratamiento definitivo durante el Almacenamiento

Día Trat.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T5	6,5	6,4	6,4	6,4	6,4	6,5	6,6	6,4	6,4	6,6	6,5	6,5
LP	6,6	6,5	6,4	6,4	6,4	6,5	6,5	6,5	6,4	6,7	6,5	6,3

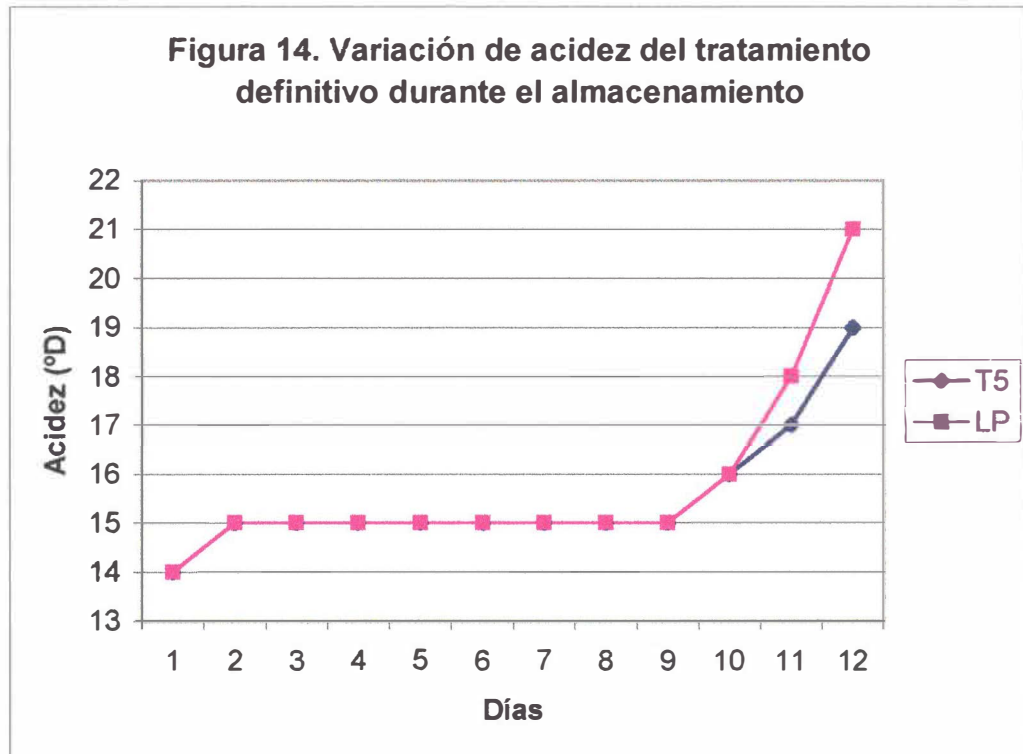


Tanto la leche pasteurizada como el tratamiento definitivo tienen similar comportamiento mostrando una marcada fluctuación de pH entre los valores de 6,3 y 6,7. Ambos tratamientos inician con un pH de 6,5 y 6,6 luego bajan hasta el segundo o tercer día, manteniéndose hasta el quinto día a un pH de 6,4. La leche pasteurizada el último día bajó su pH hasta 6,3, en cambio el tratamiento 5 culminó su pH hasta 6,5, lo que quiere decir que no existe mucha variación entre ambos tratamientos.

En el Cuadro 19 y Figura 14 se muestra las variaciones de acidez del tratamiento definitivo durante el almacenamiento.

Cuadro 19. Variación de la Acidez del tratamiento definitivo durante el Almacenamiento

Día Trat.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T5	14	15	15	15	15	15	15	15	15	16	17	19
LP	14	15	15	15	15	15	15	15	15	16	18	21



La acidez de los dos tratamientos, subió al segundo día hasta 15 °D, a partir del cual se mantuvo constante hasta el noveno día. Se puede decir que hasta el día 11 la acidez es aceptable para los dos tratamientos.

Sin embargo se puede observar que el tratamiento definitivo que contiene vitamina E y saborizante presentó a partir del día 10 un incremento más lento en el valor de la acidez en comparación con la muestra testigo.

4.3.2.3 Evaluación sensorial

De las 80 amas de casa encuestadas, 62 personas (77,5%) prefirieron la leche pasteurizada "La Molina" y sólo 18 (22,5%) prefirieron la leche pasteurizada con EPA y DHA.

Como se observa en la tabla de significancia para pruebas de dos muestras (ver Anexo 7) que a un nivel de significancia del 5% para 80 jueces, el número

mínimo de respuestas coincidentes es de 50, lo que quiere decir que si existe diferencia significativa entre las dos muestras y la de mayor preferencia es la leche pasteurizada "La Molina".

V. CONCLUSIONES

1. De los tres niveles de incorporación de aceite semirrefinado de pescado a la leche semidescremada con 2,4% de grasa, el nivel más bajo que correspondía a 0,2% fue el que tuvo mayor aceptación desde el punto de vista organoléptico.
2. De los siete tratamientos preliminares con aceite semirrefinado de pescado, el que tuvo mayor aceptación por los panelistas fue el producto con las siguientes características: 2,4% de grasa, 0,2% de aceite semirrefinado de pescado, 160 mg/L de vitamina E y 1,25 g/L de saborizante.
3. De acuerdo a la determinación de acidez durante el almacenamiento en refrigeración, se observó que los tratamientos de leche pasteurizada enriquecida con vitamina C, mantuvieron su acidez dentro del rango establecido por la NTP 202.086 para leche pasteurizada hasta el día 13 de almacenamiento, que fue el tiempo más prolongado en comparación con los otros tratamientos, sin embargo adquirieron un sabor desagradable.
4. Comparando el tratamiento óptimo de la evaluación preliminar con una muestra control (leche pasteurizada “La Molina”), se obtuvo una aceptación de sólo 22,5% en comparación a 77,5% correspondiente a la muestra control.
5. El tratamiento definitivo almacenado a 4 °C, mantuvo su acidez hasta el día 11, cumpliendo con los requisitos establecidos por la norma para leche pasteurizada NTP 202.086.

6. El producto definitivo de leche enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados contenía 2,34 mg de EPA y DHA por 100 ml de leche. Considerando además los ácidos grasos Omega-3: ácido linolénico y el ácido docosapentaenoico, la cantidad se eleva a 61 mg.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones de leche pasteurizada con aceite “deodorizado” de pescado.
2. Realizar investigaciones respecto a la utilización del aceite de pescado semirrefinado (fuente de Omega-3) en otros alimentos a nivel industrial como por ejemplo: queso, yogur, salchichas, pan, fideos, galletas, chocolates, pastillas geriátricas, etc.
3. Realizar investigaciones sobre el efecto de la vitamina C en la conservación y el sabor de la leche pasteurizada

VII. BIBLIOGRAFIA

1. ALAIS, Ch. 1970. Ciencia de la Leche. Principios de técnica lechera Editorial Continental S.A. México 594 p.
2. AMIOT, J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche. Edit. Acribia S.A. Zaragoza (España) 547 p.
3. ANZALDÚA, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza – España 198 p.
4. ARTEAGA, F.; NOVOA, M.; RISCO, M.; TRELLES, A. 1996 Elaboración del Manual de Calidad para la Planta Piloto de Leche de la UNALM y Propuesta de Mejora para la Leche Pasteurizada Embolsada. Trabajo de Investigación para optar el título de Ing. en Industrias Alimentarias. Lima-Perú. 310 p.
5. A.O.A.C. 1990. 976.26 Cholesterol in Multicomponent Foods.
6. A.O.A.C. 1993. Journal of AOAC International Vol 76, No 4, pp 902-905.
7. A.O.C.S. 1979. Official Methods of Analysis of the American Oil Chemist's Society. 10th Edition. 507 -512 p.
8. BARROETA, A. y XALABARDER, A. 1994. Importancia de la Composición de las Grasas (Omega 3 y Omega 6) en Nutrición Animal. Alimentación, Equipos y Tecnología. Año XIII. Nº 3.
9. BENDER, D. 1995. Introducción a la nutrición y el metabolismo. Editorial Acribia S. A. Zaragoza-España. 346 p.
10. BERNARDINI, E. 1981. Tecnología de aceites y grasas. Editorial Alambra Madrid-España. 499 p.
11. BIMBO, A. 1991. Processing of Fish oils. En "Fish oils in Nutrition". Stansby, M. (Ed.), 181 – 225 p.
12. BIMBO, A. 1990. The Sead Food Industry. Edited by R. Martín y G. Flick Van Nostrand. New York. 630 p.
13. BOLOLANIK, J. 1999. The fish meal market Situation and cutlook for

1999. IFOMA UPDATE 88. United Kingdom.
21. CASTILLO, L. 1996. Evaluación de la Oxidación del Aceite Semirrefinado de Pescado utilizando Antioxidantes Químicos y Naturales. Tesis para optar el título de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina Lima-Perú. 123 p.
 22. CHRISTIE, J. 1993. Los aceites omega en la alimentación. Ediciones Urano. España. 271 p.
 23. FAO. 2000. Anuario 1998. Estadística de pesca. Roma.
 24. FAO. 1997. Anuario de Producción Vol 51.
 25. EL COMERCIO, Anuario 2000-2001. Apoyo-Comunicaciones.
 26. FENNEMA, O. 1993. Química de los Alimentos. Editorial Acribia – España. 1025 p.
 27. HJALTASON, B. 1989. New frontiers in the Processing and Utilization of Fish Oil. Islandia. 11 p.
 28. INDECOPI (1985) Norma Técnica Peruana 312.009 ACEITES MARINOS. Aceite de pescado semirrefinado. Requisitos.
 29. INDECOPI. 1985. Norma Técnica Peruana 312.009 ACEITES MARINOS. Aceite de pescado semirrefinado. Requisitos.
 30. INDECOP.I 1968. Norma Técnica Peruana 209.005 ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES. Método para la determinación de la acidez libre.
 31. INDECOPI. 1968. Norma Técnica 209.006 ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES. Método de determinación del índice de peróxido.
 32. INDECOPI. 1968. Norma Técnica 209.011 ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES. Método para determinar la composición de los ácidos grasos por cromatografía de gas.
 33. JIMÉNEZ, F. 2000. Evaluación Nutricional de Galletas enriquecidas con diferentes niveles de harina de pescado. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae UNALM. Lima-Perú. 79 p.
 34. LORA, M. 1996. Manual de prácticas de Tecnología de leche-UNALM.

- Lima-Perú. 135 p.
35. MEHLENBACHER, V. 1979. Análisis de Grasas y Aceites. Editorial URMO. España. 637 p.
 36. Ministerio de Agricultura - Abril 2000. Estadística Agraria Mensual . Presidencia de la República. Perú.
 37. Ministerio de Agricultura - Diciembre 1998 Estadística Agraria Mensual. Presidencia de la República. Perú.
 38. Ministerio de Agricultura.. Diciembre 1997. Estadística Agraria Mensual Presidencia de la República. Perú.
 39. Ministerio de Agricultura. Diciembre 1996. Estadística Agraria Mensual Presidencia de la República. Perú.
 40. Ministerio de Agricultura. Diciembre 1995 Boletín Estadístico Mensual del Sector Agrario. Oficina de Informática Agraria. Lima-Perú.
 41. MOREIRAS, O.; CARVAJAL, A.; CABRERA , L.1997. Tablas de Composición de Alimentos. Edición Pirámide. España. 140 p.
 42. NORRIS, F. 1982. Refining and Bleaching. En “Bailey’s Industrial oils and Fat Products”. D. Swern (Ed.) Vol 2, 4th Ed., New York 253-314 p.
 43. PARMALAT.2000. Encarte Publicitario.
 44. PILARES, D. y VASQUEZ, J. 1999. Aceite de pescado eleva contenido de ácidos grasos omega-3 y reduce colesterol en el huevo de consumo. Pesca Responsable Año III, N° 12. Lima - Perú.
 45. PRIMO, E. 1997. Química de los alimentos. Editorial SINTESIS, S.A. Madrid, España.
 46. PUFA infocus. 2000. Acidos Grasos Poliinsaturados de cadena larga en la Nutrición y Prevención de Enfermedades”
 47. PORTER. 1981. Leche y Productos Lácteos. Editorial Acribia-Zaragoza-España.88 p.
 48. ROCHE. 2000. Servicio técnico Vitamina C como protector del sabor de la leche pasteurizada.
 49. ROJAS, S. 2000. Efectos de los ácidos grasos Omega-3 en la salud

- humana. UNAM. Lima-Perú. 7 p.
50. ROJAS, S. 2000. Uso de aceite de pescado como fuente de ácidos grasos omega-3 en el desarrollo de productos de diseño en Perú. UNA La Molina. Lima-Perú.10 p.
 51. ROJAS, S. 1999. Nuevo Huevo de Codorniz con Omega-3 Rev. Agro Enfoque Lima- Perú.
 52. ROJAS , S. 1999. Presentación de Huevos de Codorniz con Omega 3 "La Molina". Rev. Agro Enfoque Lima-Perú.
 53. ROJAS, S. y B. BARBOZA. 1996. Inclusión del aceite de pescado acidulado estabilizado en dietas de ponedoras y contenido de ácidos grasos Omega-3 en el huevo. Experiencias en el uso de harina de pescado en la alimentación de animales. IFOMA. Conferencia. Lima-Perú. 17 p.
 54. ROJAS, S. 1994. Inclusión en galletería de harina de pescado "prime" UNALM. Lima - Perú.
 55. RUITER, A. 1999. El pescado y los productos derivados de la pesca. Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).416 p.
 56. SENSER, F. y SCHERZ, H. 1999. Tablas de Composición de Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España.
 57. SMITH, B. 1992. CODEX Alimentarius Texto abreviado. Roma. FAO/OMS.
 58. SORIA, O.; TANTALEÁN, G.; VICUÑA, M.; YARLEQUÉ, J. 1998. Propuesta de un Sistema de Aseguramiento de la Calidad según la Norma Técnica Peruana ISO 9002:94 para el Procesamiento de Aceite de Pescado Semirrefinado e Hidrogenado en la empresa Oleogijsa. Trabajo de investigación para optar el título de Ing. según las facultades correspondientes. UNALM. Lima-Perú. 293 p.
 59. STANSBY, M. 1991. Fish and Fish Oil in the Diet and its Effects on Certain Medical Conditions National Marine Fisheries Service. USA. 91 p.
 60. TOLONEN, M. 1995. Vitaminas y Minerales en la Salud y la Nutrición.

- Editorial Acribia S.A. Madrid España. 278 p.
61. UREÑA, M ; D'ARRIGO, M. y GIRON, O. 1999. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Editorial Agraria. Lima-Perú. 197 p.
 62. VALENZUELA, A.; DINAMARCA, E. y GARRIDO, F. 1993. Desafíos tecnológicos para evaluar ácidos grasos n-3 polinsaturados en aceites marinos para Uso Alimenticio y farmacológico en "aceites y Grasas" Año 3 - N° 11.
 63. VARGAS, C. 1989. Estudio de las constantes fisicoquímicas de la leche producida en la Cuenca del Sur. Tesis para optar el título de Ing. en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú.99 p.
 64. VERGARA, E. 1998. Efecto del uso de altos niveles de ENERMAS en dietas de gallinas ponedoras (fase producción) sobre el comportamiento productivo y el contenido de ácidos grasos Omega-3 en el huevo. Rev. Mundo Avícola & Porcino N° 25. Lima -Perú.
 65. VIGNERON, P.; SPICHT, P. Y ANDERGOND, M. 1973. Huiles chariffeés: III Etude des Modifications Corps. Gras., 20 (8-9): 453-469
 66. WEBB, R. 1999 Anuario Estadístico 1999 Perú en números previo al 2000. Cuanto S.A.
 67. WRIGHT, T. 1997 Omega-3 Polyunsaturated Fatty - Acid Enrichment of Bovine Milk. Research Report. University of Guelph. Dairy.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche Cruda: Requisitos de calidad, físicos, químicos y microbiológicos. NTP 202.001 1998

Requisitos físico-químicos:

Materia grasa (g/100 g)	Min 3,2
Sólidos no grasos (g/100 g)	Min 8,2
Sólidos totales (g/100 g)	Min 11,4
Impurezas macroscópicas (mg de impurezas por 500 cm ³ de leche)	Máx. 0,5 mg (grado 2)
Acidez, expresada en gramos de ácido láctico por 100 g. de leche	Min. 0,14% Máx 0,18%
Densidad a 20 °C (g/cm ³)	Min. 1,0296 Máx. 1,0340
Índice de refracción del suero, 20°C	Min. 1,34179 (lectura refractométrica 37,5)
Ceniza total (g/100g)	Máx. 0,7
Alcalinidad de la ceniza total (cm ³ de solución de NaOH) 1 N	Máx. 1,7 cm ³
Índice crioscópico	Máx. -0,540°C
Sustancias conservadoras y cualquier otra sustancia extraña a su naturaleza	Ausencia
Prueba de alcohol (74% V/V Mínimo)	No coagulable
Tratamiento que disminuye o modifique sus componentes originales	Ninguno
Prueba de la reductasa con azul de metileno	Min. 4 h.

ANEXO 2

Aceite de pescado semi-refinado. Requisitos. NTP. 312.009 1985

REQUISITOS

El aceite de pescado semi-refinado deberá cumplir los siguientes requisitos:

Acidez libre expresada como ácido oleico, máximo	0,35%
Contenido de humedad, máximo	0,20%
Contenido de impurezas insolubles, máximo	0,10%
Contenido de materia insaponificable, máximo	1,70%
Indice de yodo (Wijs)	165 - 198
Indice de saponificación	186 - 200
Densidad a 25°C	0,92 - 0,93
Contenido de jabón, máximo	6 ppm
Color Gardner, máximo	9
Contaminación con aceite mineral	Negativo

ANEXO 3

LECHE PASTERIZADA. REQUISITOS NTP ITINTEC 202.086 – 1987

REQUISITOS	Leche pasterizada	Leche pasterizada parcialmente descremada	Leche pasterizada descremada
Materia grasa (g/100 g leche)	Mín 3,00	Mín 0,61 Máx 2,99	Máx 0,60
Sólidos no grasos (g/ 100 g leche)	Mín 8,20		Mín 8,26
Sólidos totales (g/100 g leche)	Mín 11,20	Mín 8,87	Menor a 8,87
Impurezas macroscópicas, expresadas en miligramos de impurezas por 500 cc.	Máx 0,5 mg (Grado 2)	Máx 0,5 mg (Grado 2)	Máx 0,5 mg (Grado 2)
Acidez, expresada en gramos de ácido láctico por 100 g de leche	Mín 0,14 Máx 0,18	Mín 0,14 Máx 0,18	Mín 0,14 Máx 0,18
Prueba de la fosfatasa	Menos de 2 unidades	Menos de 2 unidades	Menos de 2 unidades
Densidad a 15°C	Mín 1,0296 Máx 1,0340	Mín 1,0297	Mín 1,032
Índice de refracción del suero a 20°C	Mín 1,34179 (lectura refractométrica 37,5)	Mín 1,34179	Mín 1,34179
Ceniza total (g/ 100 g leche)	Máx 0,7	Máx 0,7	Máx 0,7
Alcalinidad de la ceniza total (cc de solución NaOH) 1N	Máx 1,7	Máx 1,7	Máx 1,7
Sustancias conservadoras y cualquier otra sustancia extraña a su naturaleza	Ausencia	Ausencia	Ausencia

ANEXO 4

Hoja de Evaluación para la Prueba de Determinación del Grado de Satisfacción con Escalas Hedónicas Verbales

Nombre: _____ Fecha: _____

Producto: LECHE PASTEURIZADA

Pruebe la muestra de leche pasteurizada que se le presentan e indique, según la escala, su opinión sobre ellas. Para distinguir mejor los sabores, tome agua entre cada muestra.

Marque con una X el reglón que corresponda a la calificación para cada muestra.

MUESTRAS

ESCALA	423	846	522	276
Me gusta mucho	___	___	___	___
Me gusta ligeramente	___	___	___	___
Ni me gusta ni me disgusta	___	___	___	___
Me disgusta ligeramente	___	___	___	___
Me disgusta mucho	___	___	___	___

Comentarios: _____

MUCHAS GRACIAS

Escala	Puntaje
Me gusta mucho	1
Me gusta ligeramente	2
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta ligeramente	4
Me disgusta mucho	5

ANEXO 5

Hoja de Evaluación para la Prueba de Preferencia

Nombre del Juez: _____ Fecha: _____
Hora: _____

Pruebe las dos leche y ponga una "X" en el casillero que está debajo del símbolo correspondiente al de su preferencia....

274	781

Diga por qué lo prefiere:

MUCHAS GRACIAS

ANEXO 6

Prueba de Friedman aplicada a Escalas Hedónicas Verbales, (Ureña ,1999).

Procedimiento:

I. Planteamiento de Hipótesis:

Hp: Las k muestras relacionadas han sido extraídas de poblaciones idénticas o todos los tratamientos tienen idénticos efectos.

Ha: Las k muestras relacionadas no han sido extraídas de poblaciones idénticas o no todos los tratamientos tienen idénticos efectos.

II. Elección del nivel de significancia: 0,05 ó 0,01.

III. Tipos de prueba de Hipótesis: Friedman y Múltiples Comparaciones

IV. Suposiciones:

- Los datos siguen una distribución estadística.
- Los datos son extraídos al azar.

V. Criterios de decisión:

- Si $T_2 \leq F(1-\alpha, k-1, (n-1)(k-1))$ Se acepta la Hp
- Si $T_2 > F(1-\alpha, k-1, (n-1)(k-1))$ Se rechaza la Hp.

VI. Desarrollo de la prueba estadística:

- Arreglar los puntajes en una tabla de dos clasificaciones, de k condiciones (tratamientos) y n sujetos (bloques).
- Ordenar los puntajes de cada sujeto (bloque) de 1 a k.
- Determinar la suma de los rangos de cada condición (tratamiento):

$$R_t = \sum_{j=1}^b R_{ij}$$

– Cálculo del estadístico de la prueba (T_2):

Se calculan primero A_2 y B_2 :

$$A_2 = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^b R_{ij} \qquad B_2 = \frac{1}{b} \sum_{i=1}^k R_i^2$$

$$T_2 = \frac{(n-1) [B_2 - (bk(k+1)^2/4)]}{A_2 - B_2}$$

Donde:

k = número de tratamientos.

b = número de bloques.

R_i = suma de rangos en la condición (tratamiento).

– Cuando la prueba de Friedman ha resultado significativa se debe realizar la prueba de múltiples comparaciones. Si se desea comparar un par de tratamientos (llámese en forma general i y j); se tiene que obtener primero las sumas de sus rangos R_i y R_j ; y luego se obtiene la diferencia de estos valores en valor absoluto y se compara con la siguiente expresión:

$$F = t(1-\alpha/2, ((b-1)(k-1)gl)) \sqrt{2b(A_2 - B_2)/(b-1)(k-1)}$$

– Para Múltiples Comparaciones los criterios de decisión son:

Si $[R_i - R_j] > F$ se rechaza la H_p .

Si $[R_i - R_j] \leq F$ se acepta la H_p .

VI. Conclusiones.

ANEXO 7

TABLA DE SIGNIFICANCIA PARA PRUEBAS DE DOS MUESTRAS

NUMERO DE JUICIOS	PRUEBA DE "DOS COLAS"* Nivel de probabilidad		
	5%	1%	0,1%
5	-	-	-
10	9	10	-
15	12	13	14
20	15	17	18
25	18	20	21
30	21	23	25
35	24	26	28
40	27	29	31
45	30	32	34
50	33	35	37
60	39	41	44
70	44	47	50
80	50	52	56

*Número mínimo de juicios coincidentes necesario para establecer diferencia significativa.

ANEXO 8:

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN
SENSORIAL DE LOS TRATAMIENTOS A NIVEL DE LABORATORIO**

Prueba de Friedman:

Ver anexo 3

I. Planteamiento de Hipótesis:

Hp: Los 3 tratamientos tienen idénticos efectos

Ha: Los 3 tratamientos no tienen idénticos efectos

II. Elección del nivel de significación: 0,05

III. Tipos de Prueba de Hipótesis: Friedman y Múltiples Comparaciones

IV. Suposiciones:

- Los datos siguen una distribución estadística
- Los datos son extraídos al azar

V. Criterios de decisión:

- Si $T_2 \leq F(0,95, 2, 58) = 3,158$ Se acepta la Hp

- Si $T_2 > F(0,95, 2, 58) = 3,158$ Se rechaza la Hp.

VI. Desarrollo de la prueba estadística:

A partir del cuadro de respuestas tenemos que:

R1 (0,1%) = 83

R2 (0,2%) = 110

$$R_3 (0,3\%) = 130$$

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^b R_{ij}^2 = 1277$$

$$B_2 = \frac{1}{b} \sum_{i=1}^k R_i^2 = 1196,3$$

El estadístico de prueba estará dado por:

$$T_2 = \frac{(30-1) [1196,3 - (30)(3)(4)^2 / 4]}{1277 - 1196,3} = 300,53$$

$T_2 > F(0.95, 2, 58)$ por lo tanto se rechaza la H_p

VII. Se concluye que existe evidencia estadística para rechazar la H_p , es decir al menos uno de los tres tratamientos de leche con EPA y DHA presentan diferencias significativas en cuanto al sabor.

Luego si se desea comparar muestra a muestra se realiza la prueba de múltiples comparaciones.

-Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = t(1 - 0,05/2, (30-1)(3-1) \sqrt{\frac{2(30)(1277 - 1196,3)}{(30-1)(3-1)}}) = 18,3$$

Criterios de decisión:

Si $[R_i - R_j] > 18.3$ Se rechaza la H_p

Si $[R_i - R_j] \leq 18.3$ Se rechaza la H_p

Ordenando:	R1 = 83	R2 = 110	R3 = 130
Diferencias de totales			Valor Crítico de Friedman
[R1 - R2] = 27			18,3 significativo
[R1 - R3] = 110			18,3 significativo
[R2 - R3] = 130			18,3 significativo

ANEXO 9

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS TRATAMIENTOS PRELIMINARES

Procedimiento:

I. Planteamiento de la Hipótesis

Hp: Los 8 tratamientos tienen idénticos efectos

Ha: No todos los 8 tratamientos tienen idénticos efectos.

II. Elección del nivel de significación: 0,05

III. Tipos de Prueba de Hipótesis: Friedman y Múltiples Comparaciones.

IV. Suposiciones:

- Los datos siguen una distribución estadística

- Los datos son extraídos al azar.

V. Criterios de decisión:

Si $T_2 \leq F(0,95, 7, 203) = 201$ Se acepta la Hp

Si $T_2 > F(0,95, 7, 203) = 201$ Se rechaza la Hp

VI. Desarrollo de la prueba estadística:

A partir del cuadro de respuestas tenemos que:

C = 59

R1 = 88

R2 = 115

R3 = 94

R4 = 115

$$R5 = 82$$

$$R6 = 112$$

$$R7 = 113$$

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A2 = 3034$$

$$B2 = 2618,27$$

El estadístico de prueba estará dado por:

$$T2 = 156,38$$

$$T2 > F2$$

VII. Se concluye que existe evidencia estadística para rechazar la H_0 , es decir al menos uno de los 8 tratamientos de leche pasteurizada presentan diferencias significativas en cuanto al sabor. Luego si se desea comparar tratamiento a tratamiento se realiza la prueba de múltiples comparaciones.

Aplicando las múltiples comparaciones tenemos:

$$F = t(1 - 0,05/2, (30 - 1)(8-1) \sqrt{\frac{2(30)(3034 - 2618,27)}{(29)(7)}} = 21,7266$$

Criterios de decisión:

Si $[R_i - R_j] > 21,73$ Se rechaza la H_0

Si $[R_i - R_j] \leq 21,73$ Se acepta la H_0

Ordenando:

$$C = 59$$

$$R1 = 88$$

$$R2 = 115$$

R3 = 94

R4 = 115

R5 = 82

R6 = 112

R7 = 113

Diferencias de Totales

[C – R1] = 29

[C – R2] = 56

[C – R3] = 35

[C – R4] = 56

[C – R5] = 23

[C – R6] = 53

[C – R7] = 54

[R1 – R2] = 27

[R1 – R3] = 6

[R1 – R4] = 27

[R1 – R5] = 6

[R1 – R6] = 24

[R1 – R7] = 25

[R2 – R3] = 21

[R2 – R4] = 0

[R2 – R5] = 33

[R2 – R6] = 3

[R2 – R7] = 2

[R3 – R4] = 21

[R3 – R5] = 12

[R3 – R6] = 18

[R3 – R7] = 113

Valor Crítico de Friedman

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 No significativo

21,73 Significativo

21,73 No significativo

21,73 Significativo

21,73 Significativo

21,73 No significativo

21,73 No significativo

21,73 Significativo

21,73 No significativo

21,73 No significativo

21,73 No significativo

21,73 No significativo

21,73 No significativo

21,73 Significativo

$[R4 - R5] = 33$	21,73	Significativo
$[R4 - R6] = 3$	21,73	No significativo
$[R4 - R7] = 2$	21,73	No significativo
$[R5 - R6] = 30$	21,73	Significativo
$[R5 - R7] = 31$	21,73	Significativo
$[R6 - R7] = 1$	21,73	No significativo