

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Determinación del perfil de ácidos grasos en pescados de agua dulce
comercializados en Ecuador**

**Disertación de grado previa a la obtención del Título de Licenciado en
Ciencias Químicas con Mención en Química Analítica**

KEVIN EDUARDO VARGAS PIEDRA

Quito, 2017

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del Sr. Kevin Eduardo Vargas Piedra, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Eva Isabel Cipriani Ávila MSc.

Directora de la Disertación

Quito, x de noviembre de 2017

DEDICATORIA

Dedico esta disertación a todas las personas que estuvieron durante mi formación como químico analítico e influyeron de manera positiva para mi crecimiento personal, búsqueda del conocimiento y, sobre todo, para sacar lo mejor de mí durante esta larga e enriquecedora experiencia.

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que me ayudaron y me apoyaron para llegar hasta el final de mi titulación. A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en especial a la escuela de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por apoyarme con todos los instrumentos necesarios en el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mis maestros, Eliza Jara, Isabel Cipriani y Pablo Pozo, por brindarme toda su ayuda con sus conocimientos y experiencia.

A todos mis amigos y compañeros, por todo el apoyo durante la carrera y todos los hermosos momentos compartidos.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
TABLA DE CONTENIDOS	VI
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABLAS	IX
LISTA DE ANEXOS	XI
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I	6
1. MARCO TEÓRICO	6
1.1. ÁCIDOS GRASOS	6
1.2. PECES CONTINENTALES	16
1.3. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS	21
CAPÍTULO II	26
2. PARTE EXPERIMENTAL	26
2.1 MUESTREO	26
2.2 TRAMIENTO DE LAS MUESTRAS	27
2.3 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	27
2.4 TRATAMIENTO DE RESULTADOS	32
CAPÍTULO III	39
3. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	39
3.1 ANÁLISIS DE BLANCOS	39
3.2 ANÁLISIS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN	42
3.3 ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO	45
3.4 ANÁLISIS DE LOS PARES HOMÓLOGOS ENTRE ESPECIES	50
3.5 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS CON OTROS ANÁLISIS DE REFERENCIA Y OTROS ALIMENTOS	55
3.6 COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS	59
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61

4.1 CONCLUSIONES	61
4.2 RECOMENDACIONES.....	62
BIBLIOGRAFÍA	64
ANEXOS	70

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. REACCIÓN DE SAPONIFICACIÓN DE UN TRIGLICÉRIDO	8
FIGURA 2. REACCIÓN DE METILACIÓN DE UN ÁCIDO GRASO	8
FIGURA 3. CROMATOGRAMA DE N-HEXANO (NEGRO), UN BLANCO (VERDE) Y UNA MUESTRA DE TILAPIA (ROJO).....	39
FIGURA 4. CROMATOGRAMAS SUPERPUESTOS DEL BLANCO INYECTADO AL INICIO (NEGRO) Y FINAL (ROSA) DE LA SECUENCIA DE ANÁLISIS ...	41
FIGURA 5. CROMATOGRAMA DEL ESTÁNDAR DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS (C4-C24).....	42

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. PRINCIPALES ÁCIDOS GRASOS Y SUS ESTRUCTURAS.....	9
TABLA 2. CONDICIONES INSTRUMENTALES PARA EL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS POR GC-FID.....	56
TABLA 3. CONDICIONES DEL HORNO DE COLUMNA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS POR GC-FID	56
TABLA 4. FÓRMULAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA	56
TABLA 5. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO OPTIMIZADO	56
TABLA 6. RESUMEN ESTADÍSTICO DE LOS ÁCIDOS GRASOS SATURADOS E INSATURADOS DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS.....	56
TABLA 7. RESUMEN ESTADÍSTICO DEL OMEGA - 3 Y 6 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS.....	56
TABLA 8. RESUMEN ESTADÍSTICO DEL OMEGA - 9 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS.....	56
TABLA 9. PRUEBA DE RANGOS MÚLTIPLES PARA ÁCIDOS GRASOS SATURADOS E INSATURADOS DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS	51
TABLA 10. PRUEBA DE RANGOS MÚLTIPLES PARA EL OMEGA – 3 y 6 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS	53
TABLA 11. PRUEBA DE RANGOS MÚLTIPLES PARA EL OMEGA – 9 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS.....	54

TABLA 12. CONTENIDO DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN MG POR CADA 100 GRAMOS DE PORCIÓN COMESTIBLE DE PESCADO	56
---	----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: FOTOGRAFÍAS DE PESCADOS CONTINENTALES	70
ANEXO 2: CERTIFICADO DE COMPOSICIÓN DEL ESTÁNDAR DE METIL ÉSTERES DE ÁCIDOS GRASOS	75
ANEXO 3: RESULTADOS TABLA ANOVA DE UN FACTOR	78
ANEXO 4: CROMATOGRAMAS DE LAS ESPECIES DE PESCADOS ANALIZADOS	80

RESUMEN

En la actualidad, el consumo de comida rápida en Ecuador ha causado detrimentos en la salud de la población, a causa del consumo de grasas saturadas que pueden causar problemas cardiovasculares, mientras que las grasas insaturadas que podrían ayudar a prevenirlas, no son consumidas con frecuencia; por esta razón, la búsqueda de fuentes de alimentación ricas en ácidos grasos saludables es un área de investigación prioritaria. El objetivo de este trabajo fue analizar el perfil de ácidos grasos de 18 muestras de pescados continentales ecuatorianos, de río y criadero, para determinar su valor nutricional, en función del contenido de ácidos grasos esenciales. Para ello, se realizó una extracción sólido-líquido de la grasa de los pescados por medio del método Folch, se derivatizaron los ácidos grasos y, posteriormente, se realizó su identificación y cuantificación en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (GC-FID, siglas en inglés). Adicionalmente, se realizó el análisis estadístico ANOVA de un factor, el cual demostró que existen diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos de las especies estudiadas. En conclusión, se estableció que, de las especies analizadas, el Bagre de agua dulce (*Astroblepus ubidiai*), la Tilapia (*Oreochromis niloticus*) y la Trucha (*Oncorhynchus mykiss*), podrían presentar el mayor valor nutricional, puesto que contienen un alto porcentaje de ácidos grasos Omega, cuyo consumo podría proporcionar grandes beneficios a la salud humana.

Palabras clave: pescados continentales, cromatografía de gases, ácidos grasos, valor nutricional, pescados ecuatorianos

ABSTRACT

Currently, fast food consumption has been linked to a detrimental health status in Ecuadorian population; high consumption of saturated fats can cause cardiovascular problems, while unsaturated fats, hardly present in fast food, help to prevent many diseases. For this reason, the search for food sources rich in healthy fatty acids has a paramount importance. Thus, the aim of this work was to analyze the fatty acid profile of 18 samples of Ecuadorian freshwater fishes, from river and hatchery, to determine their nutritional value expressed as essential fatty acid content. For this purpose, a Folch extraction was carried out to obtain the fat fraction of the fish; then, the fatty acids were derivatized prior to their identification and quantitation in a Gas Chromatograph with Flame Ionization Detector (GC-FID). Statistical analysis was performed by means of One-way ANOVA, which showed that there are significant differences in the fatty acid profile of the studied species. It was determined that among the studied fish species, Freshwater catfish (*Astroblepus ubidiai*), Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Trout (*Oncorhynchus mykiss*) have a high content of Omega fatty acids, thus they can be considered to have the highest nutritional value and could provide great benefits to human health.

Key words: freshwater fish, Gas Chromatography, Omega fatty acids, nutritional value, Ecuadorian fishes

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha existido una transición alimentaria debido a los cambios producidos en los estilos de alimentación, orientados hacia el consumo de productos ricos en sodio, colesterol y grasas saturadas. El excesivo consumo de grasas saturadas en la dieta tiene un efecto perjudicial para la salud, ya que produce un aporte de energía demasiado elevado que, si no se gasta, por ejemplo, con una actividad física continua, se acumula, conduciendo a la obesidad y favoreciendo la aparición de enfermedades, como las cardiovasculares. Al momento de hablar de los tipos de grasas, son las grasas *trans* las que más dudas provocan sobre su consumo y efectos al organismo, sin embargo, se considera que su consumo continuo aumenta el nivel de colesterol "malo", LDL (Lipoproteína de baja densidad) y disminuye el colesterol "bueno", HDL (Lipoproteína de alta densidad) (Ortega, Jiménez & Sagnier, 2011).

Por otro lado, desde la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición se ha comprobado una clara asociación entre el consumo de ácidos grasos *trans* y enfermedades cardiovasculares como la hipercolesterolemia, accidentes cardio y cerebrovasculares, entre otros. Por lo cual, se debe considerar que las grasas *trans* que se consumen están formadas por ácidos grasos *trans*. Así mismo, hay que tener en cuenta que la Organización Mundial de la Salud recomienda un consumo de grasas *trans* en los alimentos inferior al 1 por ciento del aporte energético alimentario diario (Ortega et al., 2011).

Dentro del cuerpo humano, los ácidos grasos cumplen funciones de gran importancia, ya que constituyen una fuente inmediata, y a la vez un reservorio de energía para cubrir las necesidades a largo plazo. Además, los ácidos grasos poliinsaturados forman parte de una serie de reguladores metabólicos denominados eicosanoides, que permiten un adecuado funcionamiento del sistema cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor. Algunos ácidos grasos como los Omega - 3 (α -linolénico, eicosapentaenoico-EPA y docosahexaenoico-DHA) y Omega - 6 (linoleico y araquidónico), son esenciales en muchas funciones bioquímicas y, aunque se requieren en pequeñas cantidades, los seres humanos presentan muchas limitaciones para formarlos a partir de precursores más simples, por lo que deben obtenerse a través de la dieta (Coronado, Vega, Gutiérrez & Díaz, 2012), siendo el pescado una buena fuente de este tipo de compuestos.

El conocimiento del perfil de ácidos grasos y contenido de ácidos grasos Omega - 3 y Omega - 6 en pescados, ha sido motivo de extensas investigaciones en varios países (Romero, Robert, Masson & Pineda, 2013) (Perea & Gómez, 2011). Sin embargo, no se dispone de información respecto a especies continentales ecuatorianas. Mediante la investigación propuesta, se logrará identificar los ácidos grasos que se encuentran en los pescados continentales disponibles comercialmente en el Ecuador, y comprobar la presencia de Omega 3, 6 y 9 en los mismos. A partir de ello, será posible la evaluación preliminar del

valor nutricional de los pescados, lo cual permitirá que, a largo plazo, los consumidores se orienten de mejor forma en la adquisición de alimentos y logren así, una selección más sana de los productos que se consumen.

El contenido de esta disertación está organizado en cuatro capítulos. En el Capítulo I se encuentran conceptos teóricos importantes, que comprenden: la descripción de los ácidos grasos desde el punto de vista químico y nutricional, una breve reseña de los peces continentales, y los fundamentos de las técnicas analíticas empleadas. En el Capítulo II se encuentra detallada la información de los equipos, reactivos, materiales y procedimientos usados en la investigación. En el Capítulo III se detallan todos los resultados obtenidos y la discusión de cada uno de ellos para facilitar su comprensión. Finalmente, el Capítulo IV presenta las conclusiones y recomendaciones obtenidas en este estudio.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ÁCIDOS GRASOS

Estos son ácidos orgánicos monocarboxílicos que se encuentran presentes en las grasas, células y tejidos, en pequeñas cantidades (trazas) como ácidos grasos libres, es decir sin formar un enlace éster. Esto se debe a que, generalmente, los ácidos grasos se encuentran esterificados al glicerol y, eventualmente, a otros alcoholes (Teijón, 2014).

Los ácidos grasos son fundamentalmente monocarboxílicos, que constan de una cadena alquílica (hidrocarbonada) apolar, generalmente sin ramificar, y un grupo carboxílico (-COOH) con terminal ionizable ($-\text{COO}^- + \text{H}^+$). Por ello, las moléculas lipídicas son anfipáticas, es decir, tienden a formar mono capas superficiales, bicapas, micelas o vesículas en contacto con el agua (Romero, et al., 2013). Normalmente, contienen un número par de átomos de carbono, aunque en la naturaleza también se encuentran ácidos grasos de cadena impar; los más abundantes son los de 14 a 24 átomos de carbono, predominando los de 16 a 18. Pueden ser saturados o contener una o más insaturaciones (dobles enlaces), y también se conocen algunos con triples enlaces (Teijón, 2014); los insaturados predominan sobre los saturados, especialmente en las plantas superiores y en los animales que viven a bajas temperaturas (Oliver, Segura,

Bonet, & Serra, 2012). Además, existen ácidos grasos con cadenas ramificadas, cicladas o hidroxiácidos (Romero, et al., 2013).

1.1.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Aquellos ácidos que cuentan con menos de 10 carbonos, son líquidos a temperatura ambiente y parcialmente solubles en agua; a partir del carbono 12, son sólidos a temperatura ambiente y parcialmente insolubles en agua (Teijón, 2014).

En los ácidos grasos con la misma longitud de cadena carbonada, el punto de fusión es más bajo en los insaturados en comparación con los saturados; además, en los ácidos grasos que presentan una configuración *cis* el punto de fusión es más bajo. Por otra parte, en la configuración estructural *cis* y *trans*, los dobles enlaces de los ácidos grasos son rígidos, los cuales disminuyen su capacidad de rotar (Oliver, et al., 2012).

Los ácidos grasos saturados son muy poco reactivos desde el punto de vista químico, sin embargo, son más lábiles que los insaturados, es decir que pueden formar con facilidad ésteres al reaccionar químicamente con un alcohol. También

los ácidos grasos saturados e insaturados son capaces de formar “jabones”, por la combinación con sodio o potasio, es decir son saponificables (Oliver, et al., 2012).

Al formar ésteres metílicos, los ácidos grasos pasan a su forma más volátil. La reacción ocurre generalmente cuando un triglicérido es hidrolizado con metanol en medio básico, para generar su sal potásica (Figura 1), luego se produce una trans-esterificación por medio de metanol en un medio ácido (Koolman & Rohm, 2014), como se indica en la Figura 2.

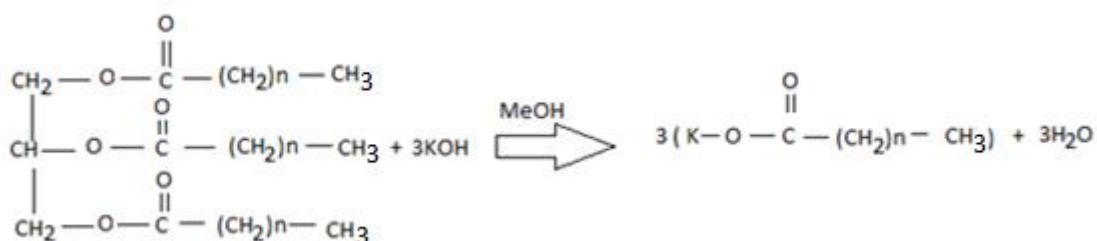


Figura 1. Reacción de saponificación de un triglicérido

(Koolman & Rohm, 2014)



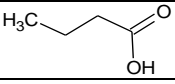
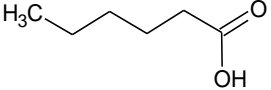
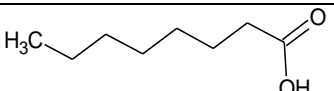
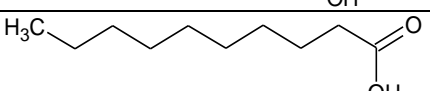
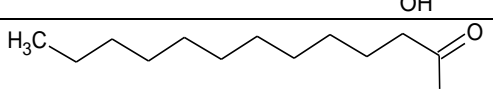
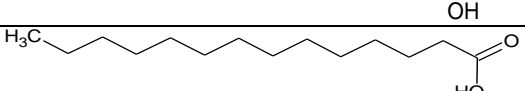
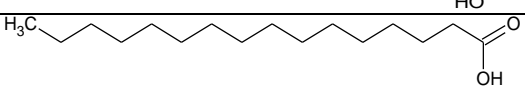
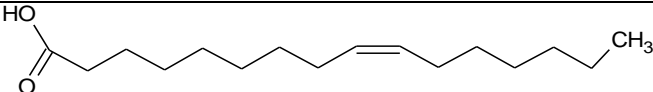
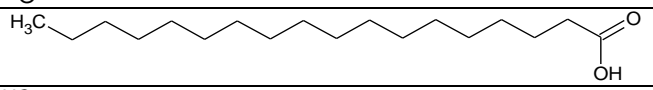
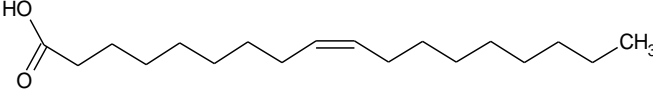
Figura 2. Reacción de metilación de un ácido graso

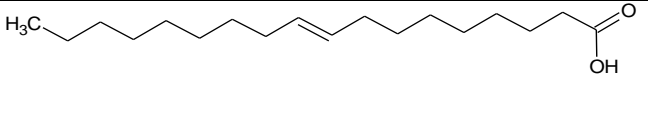
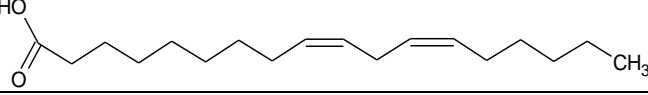
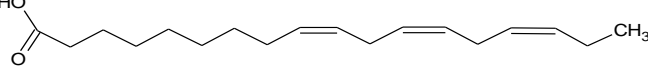
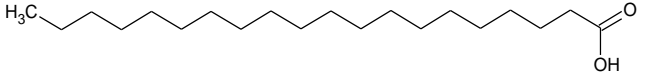
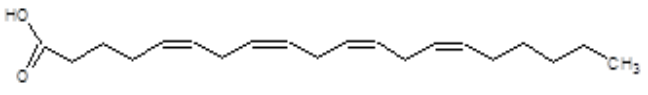
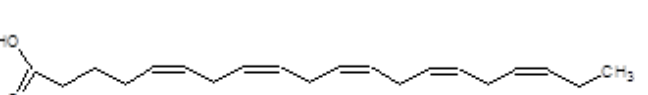
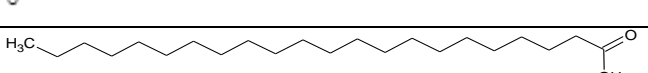
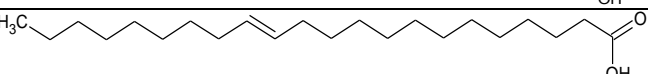
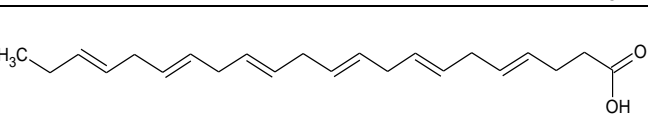
(Koolman & Rohm, 2014)

1.1.2 CLASIFICACIÓN

Hay varios criterios para clasificar a los ácidos grasos, pero el más utilizado es el químico, que considera el número de dobles enlaces o insaturaciones. Además, se tiene la categoría de ácidos grasos esenciales que son imprescindibles para el desarrollo normal del organismo (Teijón, 2014). En la Tabla 1, se muestran los principales ácidos grasos y sus estructuras químicas

Tabla 1. Principales ácidos grasos y sus estructuras

Número de carbonos	Nombre común del ácido graso	Denominación	Fórmula estructural
4	Butírico	C4:0	
6	Capróico	C6:0	
8	Caprílico	C8:0	
10	Cáprico	C10:0	
12	Láurico	C12:0	
14	Mirístico	C14:0	
16	Palmítico	C16:0	
	Palmitoleico	C16:1Δ 9c	
18	Esteárico	C18:0	
	Oléico	C18:1Δ 9c	
	Elaídico	C18:1Δ 9 t	

			
	Linoleico	C18:2Δ 9c, 12c	
	Linolénico	C18:3 Δ 9c, 12c, 15c	
20	Araquidónico	C20:0	
	Araquidónico	C20:4 Δ 5c, 8c, 11c, 14c	
	Eicosa-pentaenoico	C20:5 Δ 5c, 8c, 11c, 14c, 17c	
22	Behénico	C22:0	
	Erúxico	C22:1 Δ 13t	
	Docosa-hexaenoico	C22:6 Δ 4t, 7t, 10t, 13t, 16t, 19t	

- Ácidos grasos saturados: son aquellos que no contienen dobles enlaces. Los más abundantes son el palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0) (Koolman & Rohm, 2014).
- Ácidos grasos mono-insaturados: son aquellos ácidos grasos con un doble enlace en la molécula, como el ácido oleico (C18:1), principal componente del aceite de oliva. La mayor parte de los ácidos grasos insaturados está conformada por los mono-insaturados, en donde predomina la locación del doble enlace entre los átomos de carbono 9 y 10 (Koolman & Rohm, 2014).

- Ácidos grasos poliinsaturados: los ácidos grasos poliinsaturados son aquellos que presentan dos o más dobles enlaces. Los pescados y algunos alimentos de origen vegetal, como los aceites vegetales, líquidos a temperatura ambiente, son especialmente ricos en este tipo ácidos grasos; por ejemplo, el ácido linoleico (C18:2), se encuentra en una gran variedad de peces y en cantidades abundantes en el aceite de girasol. Además, presentan propiedades inherentes al doble enlace, como el enranciamiento de las grasas, en el cual los dobles enlaces se auto-oxidan con el oxígeno del aire, produciendo radicales peróxido y radicales libres (Oliver, et al., 2012). Algunos ácidos grasos poliinsaturados (linoleico, linolénico y araquidónico) no pueden ser sintetizados por los animales (incluido el hombre) y, como su función biológica es fundamental, deben ser suministrados a través de la dieta. Por este motivo reciben el nombre de ácidos grasos esenciales (Oliver, et al., 2012).

Entre los ácidos grasos esenciales se diferencian tres tipos:

- Omega - 3: son un tipo de grasa poliinsaturada esencial, comprendida por el ácido alfa-linolénico, el cual está formado por una cadena de 18 carbonos con tres dobles enlaces, el ácido eicosapentaenoico, contiene una cadena de 20 carbonos y cinco dobles enlaces, y el DHA o ácido docosahexanoico, el cual consta de 22 carbonos con seis dobles enlaces, todos de configuración *cis*. La serie del Omega - 3 se caracteriza por tener

la primera insaturación en el tercer carbono, contando a partir de extremo de la cadena que no contiene el grupo carboxilo (Oliver, et al., 2012).

- Omega - 6: son otro tipo de grasas poliinsaturadas esenciales, conformadas por el ácido linoleico, el cual está formado por una cadena de 18 carbonos y el ácido araquidónico, que contiene una cadena de 20 carbonos. En la serie del Omega - 6, la primera insaturación se encuentra en el sexto carbono contando a partir de extremo de la cadena que no contiene el grupo carboxilo (Valenzuela & Nieto, 2015).
- Omega – 9: son ácidos grasos monoinsaturados que normalmente se encuentra en las grasas vegetales y animales. Están conformados por el ácido oleico, el cual contiene en su estructura de 20 carbonos; el ácido erúcico, que se encuentra formado por una cadena de 22 carbonos y el ácido nervónico, el cual presenta una estructura formada por una cadena de 24 carbonos. En la serie del Omega - 9, la primera insaturación se encuentra en el noveno carbono contando a partir de extremo de la cadena que no contiene el grupo carboxilo (Valenzuela & Nieto, 2015).

1.1.3 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES

Actualmente, se conoce que los ácidos grasos esenciales de la serie Omega-6 y Omega-3 son imprescindibles para el desarrollo y el crecimiento, y

desempeñan un papel clave en la prevención y el tratamiento de la enfermedad coronaria, la hipertensión, la diabetes, la artritis, el cáncer y otras enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Además, una rica dieta en ácidos grasos de la serie del Omega - 3 contribuye al desarrollo cerebral y ocular, y puede ayudar a prevenir la enfermedad de Alzheimer. De igual manera, la serie del Omega - 6 presenta varios beneficios a la salud, pues contiene propiedades saludables para el aparato circulatorio, de forma que ayuda a rebajar los triglicéridos, reduce el colesterol, ayuda a reducir los síntomas pre-menstruales y mantiene los niveles equilibrado de insulina (Valenzuela & Nieto, 2015).

Sin embargo, el consumo de estos ácidos grasos sin un correcto equilibrio puede producir inflamación y contribuir al desarrollo de enfermedades como la coronaria y la artritis. Por esta razón, se recomienda que la proporción de ácidos graso de la serie de Omega - 6 sea de dos a cuatro veces mayor que la serie de Omega - 3 (Oliver, et al., 2012).

En relación a los ácidos grasos poliinsaturados, estudios de alimentación controlada y de ingesta de ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) han demostrado beneficios fisiológicos en la presión arterial, latido cardíaco, niveles de triglicéridos y, probablemente, inflamación, función endotelial y función diastólica cardíaca, y existe evidencia consistente del riesgo reducido de muerte súbita cardíaca con un consumo de alrededor de 250 mg/día de EPA y DHA (Aranceta, et al., 2012).

Las evidencias disponibles indican que la ingesta diaria de 0.5-0.6% de ácido alfa-linolénico (ALA) ayuda al funcionamiento del organismo. La ingesta total de ácidos grasos Omega - 3 se sitúan entre 0.5 y 2%, en tanto que los requerimientos mínimos de ALA son >0.5% para adultos. El valor más alto para el ALA (2%) junto a los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga Omega - 3, EPA y DHA, pueden ser parte de una dieta saludable (Aranceta, et al., 2012).

1.1.4 FUENTES EN LA ALIMENTACIÓN

Los ácidos grasos saturados, tanto los de cadena corta (entre 4 y 12 átomos de carbono), como mediana (14 a 18 átomos de carbono), predominan en la manteca de cacao, mantequilla, margarina, leche, aceite de palma, entre otros, en los cuales el grupo de los ácidos grasos saturados representa desde un 90% hasta un 50% del total de la materia grasa (Koolman & Rohm, 2014). Por otro lado, los ácidos grasos mono-insaturados, representados mayoritariamente por el ácido oleico, se encuentran principalmente en el aceite de oliva y los frutos secos (avellanas, maní, almendras y nueces) en un rango entre el 70 y 40% (Calvo, 2012).

Los ácidos grasos poliinsaturados se encuentran en pequeñas cantidades en muchos alimentos como nueces, almendras y aceite de oliva. Sin embargo, el aceite de pescado presenta un contenido bastante alto de ácidos grasos,

especialmente de la serie Omega - 3 (ácido eicosapentaenoico, EPA y ácido docosahexaenoico, DHA), que tienen gran importancia nutricional y alto valor comercial (Koolman & Rohm, 2014).

Se considera que el pescado es una de las fuentes principales de ácidos grasos esenciales, puesto que en diversas investigaciones como la de Romero et al. (2013) y Perea & Gómez (2011) se ha demostrado que este alimento presenta grandes cantidades de Omega - 3, 6 y 9, las cuales satisfacen los requerimientos mínimos diarios de ácidos grasos esenciales para una dieta equilibrada y para el buen funcionamiento del organismo.

La variación del contenido de ácidos grasos de los peces marinos y de agua dulce depende de la especie, el lugar y la época de captura, así como también del proceso industrial al que se somete. Es así, que el contenido de lípidos puede variar desde el 0.5% hasta el 25%. Además, se ha demostrado que los peces marinos contienen un porcentaje más alto de Omega - 3 que los pescados de aguas continentales, y que ciertos pescados de agua dulce (corvina y lamprea) se encuentran dentro de los pescados magros (contenido de grasa <2,5%), mientras que los pescados marinos (atún y caballa) se encuentran dentro de los pescados grasos (contenido de grasa >6%). Esto se debe, principalmente, a las necesidades energéticas del lugar donde habitan estas especies de pescados (Jackson & Chamberlain, 2013).

1.2 PECES CONTINENTALES

En el mundo se han registrado 28.000 especies de peces, de las cuales 12.000 son de agua dulce. En Ecuador, los registros alcanzan 1.716 especies: 765 son marinos y 951 son de agua dulce, representando, esta última cifra, el 7.8% de las especies de agua dulce del mundo y el 21% de Sudamérica. La presencia de las montañas costeras, las cordilleras andinas y la tercera cordillera, han influido en la morfología de los sistemas hidrográficos y en sus características ecológicas. La lista de peces continentales ecuatorianos incluye 951 especies de peces de agua dulce intermareales; la región oriental incluye la Alta Amazonía, con cuatro zonas y 125 especies (Jiménez, Aguirre, Laaz, Navarrete, Nugra, Rebolledo, Torres & Valdiviezo, 2015). .

Los peces contienen lípidos que son la principal fuente de energía para su crecimiento, desarrollo embrionario y esencial para su desarrollo neural, motivo por el cual es común que en su cerebro y retina se encuentren altas concentraciones de ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3, DHA). Existe una gran variación en la composición lipídica de las especies de peces y ésta se relaciona con algunos factores bióticos y abióticos como la madurez, género, tamaño, estación, profundidad de las especies, entre otros (Barriga, 2011).

En el trabajo realizado por Castro, Rodríguez & Gómez, (2013), en el Instituto de Ciencias Médicas de México, se determinó la composición de ácidos grasos de distintas especies de pescados consumidas en México, y se determinó que el

contenido total de lípidos puede variar entre un 0.93 a 1.95 g / 100g. Además, se demostró que los factores bióticos y abióticos influyeron significativamente en la concentración de ácidos grasos. En conclusión, se estableció que las especies subtropicales presentaron 42,1% más de EPA y DHA, y un mayor contenido de ácidos poliinsaturados que saturados, en comparación con las especies tropicales.

En otro estudio realizado por Izquierdo, Torres, Marquéz & Allara, (2011), se investigó el perfil de ácidos grasos de doce especies de pescado (armadillo, bocachico, cachama, carpeta, corvina, lisa, mero, merluza, pargo, robalo, tilapia y trucha) con importancia comercial en Venezuela. La grasa varió entre 1,12% para el Pargo y 6,15% para la Cachama, y la cantidad de ácidos grasos mono insaturados se encontró entre el 13.9% para la Tilapia y 70.4% para el Bocachico. Finalmente, los valores promedio de los ácidos grasos poliinsaturados variaron entre 14.6% para la especie Lisa y 80.4% para la Tilapia. Por tanto, se concluyó que las especies de pescado estudiadas mostraron un predominio de ácidos grasos insaturados.

Entre las especies de peces continentales en estudio, cuyas fotografías se muestran en el Anexo 1, tanto endémicas como introducidas en el Ecuador, se encuentran:

- Carpa común (*Cyprinus carpio*): es una especie introducida en el país, que se la puede encontrar en lagunas y represas, ya que su alimento está entre en los sedimentos de barro. Debido al particular sabor de su carne, no es un pez preferido para el consumo humano (Jiménez, et al., 2015).
- Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): es una especie introducida e invasora en el Ecuador; es de gran importancia económica y gastronómica. Se la puede encontrar en lagunas, quebradas, ríos y piscinas (Jiménez, et al., 2015).
- Tilapia (*Oreochromis niloticus*): es una especie introducida de África y Europa, de producción en la provincia de El Oro y distribuida en todo el país. Es comercializada por todo el país debido a su tamaño y sabor apetecible (Jiménez, et al., 2015).
- Chame (*Dormitator latifrons*): es una especie nativa de los ríos en las zonas costeras del país y fuente de alimento para las poblaciones rurales y urbanas en las provincias de Manabí, Guayas y Los Ríos (Jiménez, et al., 2015).

- Corvina de río (*Argyrosomus regius*): es una especie nativa de las zonas costeras ecuatorianas como Esmeraldas, Guayas y los Ríos, la cual se consume e importa en todo el país (Jiménez, et al., 2015).
- Dica (*Pseudocurimata Boulengeri*): esta es una especie que habita en las cuencas del río Guayas. Esta especie es una fuente de alimento para las poblaciones en áreas rurales y ciudades pequeñas en las regiones interiores de la costa ecuatoriana, donde es comercializada (Jiménez, et al., 2015).
- Ratón (*Alopias superciliosus*): esta es una especie endémica del país, que se encuentra distribuido en la cuenca del río Guayas; particularmente en los ríos Daule y Babahoyo. Es una especie muy apetecible comercialmente, se la encuentra con frecuencia en los mercados de las comunidades ribereñas, cerca de los ríos principales de la cuenca del Guayas (Jiménez, et al., 2015).
- Dama (*Brycon alburnus*): se encuentra en ríos del Occidente del Ecuador, por lo cual esta especie se encuentra principalmente en la cuenca del río Guayas, río Clementina en Babahoyo, río Daule y Vinges, y los ríos Cupa y Quinindé en Esmeraldas. Esta especie es comercializada como fuente de alimento para poblaciones rurales (Jiménez, et al., 2015).

- Guanchiche (*Hoplias Microlepis*): esta especie se encuentra restringida a ríos de la provincia de Esmeraldas en la región Noroccidental del Ecuador y ha sido registrada en los ríos Mira, Mataje, Santiago y Esmeraldas. Debido a su gran tamaño, esta especie es explotada localmente para el consumo familiar (Jiménez, et al., 2015).
- Guadina (*Hoplias malabaricus*): habita en ambientes dulceacuícolas, en la parte baja de los ríos; es de importancia comercial para el consumo humano al norte de la provincia de Esmeraldas; sin embargo, tiene poca importancia comercial en el resto del país (Jiménez, et al., 2015).
- Bagre de agua dulce (*Astroblepus ubidiai*): es una especie endémica de América del Sur. En el Ecuador, se la puede encontrar en los ríos Mira y Santiago de la costa, y en algunos ríos de la Amazonía. Es comercializado en todo el país para consumo humano, debido a su gran tamaño (Jiménez, et al., 2015).
- Cachama (*Colossoma macropomum*): esta es una especie que se encuentra principalmente en la Amazonía ecuatoriana. Es altamente comercializada, tanto para el consumo humano, como para generación de recursos económicos (Jiménez, et al., 2015).

- Jandia (*Rhamdia quelen*): es una especie propia del Oriente ecuatoriano, de poca importancia económica y alimenticia, puesto que no es comercializada en todo el país. Sin embargo, en la región amazónica si es comercializada para el consumo humano (Jiménez, et al., 2015).
- Chalaco (*Sicyases sanguineus*): es una especie que se encuentra en la costa ecuatoriana, esta se distribuye y comercializa en todo el país para el consumo humano (Jiménez, et al., 2015).

1.3 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

Para el análisis de los ácidos grasos en los alimentos como el pescado, es necesario previamente una etapa de preparación de la muestra, luego la extracción y separación de los ácidos grasos.

Existen varias técnicas para la extracción de ácidos grasos, que se encuentran presentes en los tejidos biológicos, cuyo propósito es separar a los ácidos grasos de otros constituyentes, tales como proteínas, polisacáridos y pequeñas moléculas (aminoácido, azúcares, entre otros). La mayoría de los métodos de extracción para ácidos grasos involucran el uso de solventes, generalmente tóxicos e inflamables, tales como cloroformo, metanol o mezclas

de estos; como en la extracción Soxhlet y Folch (Rueda, 2014), siendo esta última la seleccionada para este estudio.

Entre las técnicas con mayor porcentaje de recuperación está la extracción con fluidos supercríticos, en la cual la muestra se somete a un fluido a distintas condiciones de presión y temperatura, con el fin de adquirir la solubilidad de un líquido y la difusión de un gas; aunque es una técnica relativamente buena, su alto costo hace difícil su aplicación para el campo investigativo (Rueda, 2014). Otro método utilizado para la extracción de ácidos grasos es la extracción asistida por microondas, puesto que esta facilita y acelera los procesos de extracción de compuestos orgánicos de muestras sólidas. Además, este proceso de extracción es más rápido y más completo en comparación con los métodos tradicionales, como la maceración y el Soxhlet. También se ha comprobado que la extracción asistida con ultrasonido presenta un alto rendimiento y no modifica las estructuras de los ácidos grasos (López, 2014).

Por otro lado, existen diversas técnicas de separación de ácidos grasos en matrices alimenticias, específicamente en pescados. La técnica preferida para este análisis es GC-FID, la cual requiere una derivatización previa de los ácidos grasos, con el fin de hacerlos más volátiles, gracias a su transformación en ésteres metílicos (Romero et al., 2013).

Sin embargo, en muchos casos se prefiere el uso de técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas para facilitar la identificación de los compuestos y alcanzar mayor sensibilidad. Un ejemplo, es el estudio realizado por Campos, Gonzáles, Acereto & Chel, (2015), en la Universidad de Yucatán, en el cual se investigó el perfil de ácidos grasos de una especie de pescado denominada “Mero”, mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un detector triple cuadrupolo (GC-MS/MS). En otra investigación realizada por Perona, Gutiérrez & Barrón, (2012), se analizó aceite de pescado mediante un cromatógrafo líquido de alta resolución con detector de espectrometría de masas (HPLC-MS), utilizando como fase estacionaria una columna de iones plata en fase reversa; la ventaja de este método es que elimina la necesidad de una derivatización posterior a la extracción de los ácidos grasos.

1.3.1 EXTRACCIÓN FOLCH

Este método consiste en una extracción de la materia grasa, en frío, con una mezcla de cloroformo metanol 2:1 (v/v), la cual se añade a una muestra homogenizada; posteriormente ésta se filtra y se añade agua o una solución salina para separar los componentes no lipídicos. En este método se mezclan cloroformo, metanol y agua en un embudo de separación, en proporciones de volumen de 8:4:3, respectivamente. Cuando se deja reposar, se obtiene un sistema bifásico y ambas fases se recogen por separado; finalmente, el extracto clorofórmico es evaporado y se pasa a un vial con una cantidad determinada de

hexano para su posterior derivatización a ésteres metílicos y análisis (Folch & Stanley, 1956).

En el trabajo realizado por Salazar, (2012), en la Universidad de Piura, se realizó una comparación entre los métodos de extracción Folch y Soxhlet para su posterior cuantificación de grasa total y perfil lipídico. Los resultados de esta investigación aseguran que los métodos de extracción utilizados no difieren de modo importante, por lo que se extraen cantidades similares de lípidos. Sin embargo, la extracción en caliente puede provocar la formación de moléculas extrañas, la degradación de algunos ácidos grasos y la isomerización de enlaces cis. Estos resultados no son críticos para determinar la cantidad total de grasas total de un alimento, pero si pueden afectar al estudio del perfil de ácidos grasos. Por lo mencionando anteriormente, se deduce que el método de extracción Folch, genera resultados fiables del contenido de grasa de una muestra y de la composición lipídica de la misma.

1.3.2 GC-FID

Una de las técnicas cromatográficas con más amplia utilización, es la cromatografía de gases, puesto que puede ofrecer una gran capacidad de separación de los compuestos de una mezcla con una gran sensibilidad a la hora de analizar compuestos volátiles. Los componentes principales del cromatógrafo de gases son: fuente de gas, sistema de inyección, horno y columna cromatográfica, sistema de detección y sistema de registro (Sánchez, 2013).

Durante la separación por cromatografía de gases, se inyecta una pequeña cantidad de muestra a separar en una corriente de un gas inerte a una elevada temperatura; esta corriente de gas atraviesa una columna cromatográfica que separará los componentes de la mezcla por medio del mecanismo de partición (cromatografía gas – líquido). Luego, los componentes separados emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien, son dirigidos hacia un dispositivo de recolección de muestras (Skoog, 2009).

El detector de ionización de llama es tal vez el más ampliamente utilizado en cromatografía de gases, ya que este tipo de detector proporciona una respuesta universal, es selectivo hacia los compuestos que presenten enlaces C-H, por lo que son pocos los compuestos que no dan señal en él. El gas procedente de la columna se mezcla con hidrógeno y esta mezcla se quema en una cámara con exceso de aire. Por encima de la llama, se dispone un colector cilíndrico polarizado con el fin de recoger los iones generados; sobre ese dispositivo, se mide la corriente iónica que se establece entre la punta del quemador y el electrodo colector (Skoog, 2009).

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

Para la preparación de la muestra y análisis cromatográfico se tomó como referencia el método 996.06 (2005) de la Asociación de Comunidades Analíticas (AOAC, siglas en inglés).

2.1 MUESTREO

Se realizó un muestreo aleatorio simple que consistió en la recolección de dieciocho muestras de pescados de agua dulce del Ecuador, en los principales mercados de alto flujo popular de las provincias de Pichincha (“Santa Clara”, Quito), Los Ríos (“Mercado del Río”, Babahoyo) y Pastaza (“La Mariscal”, Puyo) durante los meses de agosto y diciembre del 2016.

Las especies de pescados recolectadas de criadero fueron: Corvina, Trucha Arcoiris, Carpa, Guanchiche, Tilapia, Tilapia Roja, Jandia, Cachama y Bagre de agua dulce; mientras que las de río fueron: Dica, Guanchiche, Chame, Dama, Ratón, Guadina, Chalaco y Tilapia. En algunos mercados se logró obtener la porción muscular (filete) de los mismos.

En cada uno de los sitios de expendio, se tomaron de uno a tres ejemplares de cada muestra, según su tamaño, grande o pequeño, respectivamente. Las muestras fueron transportadas en hieleras para mantenerlas preservadas y, una vez en el laboratorio, se las mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su tratamiento.

2.2 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 2 horas; luego se obtuvo el filete sacando las escamas y las vísceras con un cuchillo. Seguidamente se colocaron los filetes en el procesador de alimentos Black & Decker Power Pro durante 2-3 minutos para disminuir el tamaño de partícula y obtener una muestra homogénea. Una vez homogenizada la muestra, se la dividió en tres porciones, cada una de las cuales se colocó en fundas Ziploc de cierre hermético previamente rotuladas y se las almacenó en el refrigerador a 4 °C hasta su análisis.

2.3 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Se realizó el proceso de extracción, derivatización y análisis cromatográfico, en cada una de las dieciocho muestras de pescados continentales, por triplicado.

2.3.1 EXTRACCIÓN Y DERIVATIZACIÓN

Primeramente, se pesó 5 g de muestra homogenizada y se colocó en un erlenmeyer con tapón. Luego, se añadió 20 mL de solvente de extracción Folch (cloroformo: metanol 2:1, preparado a partir de 50 mL de cloroformo, G.A marca J. T. Baker y 25 mL de metanol, G.A marca Global chemie), se agitó la mezcla por 30 min en baño de ultrasonido Branson 3800, y se filtró (125 mm de celulosa marca Macherey- Nagel) para separar el extracto de materia sólida.

Después, se lavó con 4 mL de NaCl 0.9% (preparado a partir de 0.9 g de cloruro de sodio, G.A marca LabGuard, aforados a 100 mL de agua destilada tipo II) para separar las fases del extracto; se aisló en un embudo de separación la fase clorofórmica que contiene los lípidos de la muestra y se la secó al pasarla a través de un embudo con lana de vidrio y sulfato de sodio anhidro, previamente secado a 400°C (G.A marca H.R representaciones), para luego depositarla en un balón de rotavapor.

Seguidamente, el extracto clorofórmico se colocó en un evaporador rotatorio (marca Yamato serie BM200) a presión reducida de -14 inHg y 35°C hasta sequedad; los lípidos remanentes se redisolviéron en 1 mL de n- hexano (G.A marca J. T. Baker). Se lavó el balón con 1 mL de n-hexano 2 veces más y se colocó en un tubo de vidrio con tapa rosca. Se añadieron 2.5 mL de solución de KOH 0.5 M en metanol (preparado a partir de 2,8 g de hidróxido de potasio, G.A marca LabGuard, aforados con 100 mL de metanol), se cerró el tubo, se calentó por 45 minutos a baño maría a 80°C y se dejó enfriar.

Posteriormente, se realizó la extracción 3 veces con porciones de 2 mL de n-hexano y, utilizando un embudo de separación, se aisló la fase insaponificable. A la fase saponificada, se añadió 1 mL de solución de HCl 1:4 v/v en metanol (preparado a partir de 25 mL de ácido clorhídrico concentrado G.A marca J. T. Baker, y 75 mL de metanol), se cerró el tubo, se calentó a baño maría por 25 minutos a 50°C y se añadió 5 mL de agua destilada. Inmediatamente, se extrajo la fase orgánica que contiene los ésteres metílicos de ácidos grasos por tres ocasiones, utilizando 0.5 mL de n-hexano. Se secó el extracto nuevamente con sulfato de sodio anhidro con la ayuda de un embudo y lana de vidrio, y se lo trasvasó a un nuevo vial con tapa. Finalmente se almacenaron los viales en refrigeración hasta el día de su análisis (Bravo, 2014).

2.3.2 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos presentes en las muestras de pescado, se inyectó 1 µL del extracto en un Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A con detector de ionización de llama (FID, siglas en inglés) y generador de hidrógeno Parker ChromGas Gas Generator 9090. Además, se utilizó una columna capilar Agilent HP-88 de 100 m de longitud, 250 µm de diámetro y 0.25 µm de espesor de película. Es necesario mencionar, que para el desarrollo del método cromatográfico se utilizaron las condiciones iniciales de trabajo establecidas por Bravo (2014), pero fueron modificadas con el fin de obtener un menor tiempo de análisis.

Tabla 2. Condiciones instrumentales para el análisis cromatográfico de ésteres metílicos de ácidos grasos por GC-FID

Módulo	Parámetro	Magnitud
Puerto de inyección	Temperatura	250 °C
	Presión	46.354 psi
	Flujo total	32.4 mL/min
	Purga de septum	3 mL/min
	Modo	Split 20:1 28 mL/min
Columna	Gas Portador	Helio
	Flujo	Constante 1.4 mL/min
	Velocidad lineal promedio	22.814 cm/s
	Modo	Temperatura programada (Ver Tabla 3)
Detector	Temperatura	260 °C
	Flujo de aire	400 mL/min
	Flujo de hidrógeno	40 mL/min
	Flujo de gas auxiliar (nitrógeno)	20 mL/min

El inyector automático se programó para que realice 4 lavados de la jeringa con solvente (2 antes y 2 después de la inyección), 2 lavados con muestra (previo a la inyección) y 3 bombeos de la muestra para homogenizar la jeringa antes de cada inyección. Entre muestra y muestra, se permitió un tiempo de equilibrio de 1 minuto para todo el sistema. Otras condiciones de análisis se detallan en las Tablas 2 y 3.

Tabla 3. Condiciones del horno de columna para la determinación de ésteres metílicos de ácidos grasos por GC-FID

	Velocidad °C/min	Temperatura °C	Tiempo min
Inicio		140	2
Rampa 1	7	160	10
Rampa 2	4	200	5
Rampa 3	1.5	210	6
Rampa 4	10	220	9

Para la optimización del método y realización de las curvas de calibración, se utilizó un estándar Supelco FAME mix C4-C24, cuya composición y orden de elución se indica en el Anexo 2. En base a éste, se identificaron los picos correspondientes a cada ácido graso presente en la muestra. El rango de la curva de calibración fue de 1 a 10 mg/mL con concentraciones de 1, 2.5, 5, 7.5 y 10 mg/mL.

Además, antes de comenzar la optimización del método, se acondicionó la columna con el fin de eliminar cualquier especie retenida en los usos anteriores o durante el almacenamiento, en tres etapas. En la primera etapa, se colocó la columna en el equipo y se fue aumentando la temperatura a 5°C/min hasta 220°C con el mismo flujo de gas portador y gas *make-up*, pero sin conectar la misma al detector. A continuación, se fue bajando la temperatura del horno hasta llegar a 35 °C. En la segunda etapa, se corrió el programa de temperatura previsto para

el análisis durante el tiempo que tarda el programa (70 minutos). Finalmente, se conectó la columna al detector y se monitorizó la línea base hasta obtener una señal estable de aproximadamente 25 pA.

2.4 TRATAMIENTO DE RESULTADOS

Los resultados de los porcentajes de los ácidos grasos presentes en las muestras analizadas, fueron obtenidos a partir de la suma de áreas de cada pico y al cálculo del aporte de cada una de ellas al total obtenido. Posteriormente, se realizó la conversión de los porcentajes de cada ácido graso a mg por cada 100 gramos de porción comestible, mediante el empleo de tablas de conversión tomando en cuenta el peso de cada muestra en base húmeda.

2.4.1 PROMEDIO

El promedio o media aritmética es el resultado que se obtiene a partir de la división de la suma de un número finito de datos experimentales por el número de datos de la serie. Cuando el conjunto es una muestra aleatoria recibe el nombre de media muestral siendo uno de los principales estadísticos muestrales. Se expresa por la siguiente fórmula (Evans & Rosentha, 2015):

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n} = \frac{x_1+x_2+x_3+\dots+x_n}{n} \quad (2.1)$$

2.4.2 DESVIACIÓN ESTÁNDAR

La desviación típica o desviación estándar es una medida de dispersión para variables de razón (variables cuantitativas o cantidades racionales) y de intervalo, en torno a su media aritmética, expresada en las mismas unidades que la variable. Se define como la raíz cuadrada de la varianza de la variable y su ecuación es la siguiente (Evans, et al., 2015):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2.2)$$

Donde:

s= desviación estándar

x_i = dato individual

\bar{X} = media de los datos experimentales

n=número de resultados experimentales

2.4.3 COEFICIENTE DE VARIACIÓN

También llamado coeficiente de dispersión; es la relación entre la desviación típica de una muestra y su media. El coeficiente de variación se suele expresar

en porcentajes, al multiplicar el valor por 100. El coeficiente de variación permite comparar las dispersiones de dos distribuciones distintas, siempre que sus medias sean positivas. Su ecuación es la siguiente (Evans, et al., 2015):

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \quad (2.3)$$

2.4.4 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

En general, el límite de detección (LD) se toma como la concentración más baja de un analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones establecidas del ensayo. Por el contrario, el límite de cuantificación (LC) es la concentración más baja de un analito en una muestra que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas del ensayo (Marsin, Ling, Nasir, & Wan, 2012).

Estos términos se establecen normalmente en unidades de la concentración del analito en la muestra y, en un método instrumental se pueden determinar de varias formas. En algunos casos se determinan como la relación señal/ruido obtenida entre resultados de muestras con concentraciones conocidas de analito y resultados obtenidos en muestras blanco y se establece que el LD es la concentración que proporciona una señal/ruido de 2 o 3 muestras con concentración conocida o blancos y el LC es la concentración que proporciona una relación señal/ruido de 10 (Marsin, et al., 2012).

Para la determinación del LD y LC se realizó una regresión de la curva de calibración de cada ácido graso, mediante la opción *análisis de datos* de Excel, con el fin de determinar su desviación. Luego se calcularon los límites de detección y cuantificación mediante las siguientes ecuaciones (Jofre, 2013):

$$C_{LD} = \frac{((b+3\sigma)-b)}{S} \quad (2.4)$$

$$C_{LC} = \frac{((b+10\sigma)-b)}{S} \quad (2.5)$$

Donde:

C_{LD} = Concentración del límite de detección

C_{LC} = Concentración del límite de cuantificación

σ = Desviación estándar de la regresión

b = intercepto de la curva de calibración

S= pendiente de la curva de calibración

2.4.5 SOFTWARE STATGRAPHICS

El software *STATGRAPHICS*, versión 16.103, es una herramienta de análisis de datos que combina una amplia gama de procedimientos analíticos con gráficos interactivos para proporcionar un entorno integrado de análisis que puede ser aplicado en cada una de las fases de un proyecto (Araujo & Gandur, 2014). Incluye funciones estadísticas avanzadas y al mismo tiempo ofrece una interfase muy intuitiva. Entre las aplicaciones más importantes se destacan: el cálculo de intervalos de confianza, los contrastes de hipótesis, análisis de varianzas y pruebas de rangos múltiples (Araujo, et al., 2014).

- Análisis de varianza ANOVA de un factor: esta prueba es una generalización del contraste de igualdad de medias para dos muestras independientes, que permite comparar varios grupos en una variable cuantitativa. Se aplica para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones independientes, con distribución normal, y concluir si las medias poblacionales difieren o no significativamente entre sí (Luque e Ibáñez, 2012). Este análisis realiza el test estadístico denominado F, de Fisher, que compara la variación de las medias muestrales entre grupos, con las obtenidas dentro de grupos, mediante el cálculo de los grados de libertad (Gl), suma de cuadrados (SC), cuadrados medios (CM), la razón de F y el valor de P, los cuales se resumen en la Tabla 4 (Luque e Ibáñez, 2012).

Tabla 4. Fórmulas de análisis de varianza

Fuente de variación	GI	SC	MC	Razón de F
Entre grupos	$k - 1$ (2.6)	$SCE = \sum_{i=1}^k n_i (y_i - \bar{y})^2$ (2.9)	$\frac{SCE}{k-1}$ (2.12)	$F = \frac{MCE}{MCD}$ (2.14)
Dentro de grupos	$n - k$ (2.7)	$SCD = \sum_{i=1}^n (n_i - 1) s_i^2$ (2.10)	$\frac{SCD}{n-k}$ (2.13)	
Total	$n - 1$ (2.8)	$SCT = \sum_{i=1}^n n_i (y_i - \bar{y})^2$ (2.11)		

- Pruebas de rangos múltiples: esta prueba se realiza cuando la prueba F demuestre la existencia de diferencias, estadísticamente significativas, entre las medias. Este análisis permite establecer, cuáles difieren significativamente de otras, mediante su agrupación en grupos homogéneos, dentro de los cuales no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellas (Luque e Ibáñez, 2012).

2.5 ASEGURAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Se tomaron algunas acciones durante el proceso analítico para asegurar que los datos obtenidos sean confiables. A continuación, se detalla cada una de ellas:

- Blancos: Con el fin de demostrar que no hubo ningún tipo de contaminación durante el análisis, se analizaron blancos preparados con el mismo procedimiento de las muestras. Adicionalmente se inyectaron blancos (n-hexano) al inicio y al final de cada secuencia de análisis, para verificar la ausencia de *carry-over*.
- Precisión: Se analizaron las muestras por triplicado, luego, se determinó la desviación estándar y el coeficiente de variación con el fin de determinar la dispersión de los resultados.

CAPÍTULO III

3. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 ANÁLISIS DE BLANCOS

La Figura 3 indica un cromatograma que compara el análisis del solvente n-hexano (en color negro), de un blanco (en color verde) y de una muestra de Tilapia (en color rojo). La imagen fue modificada (offset = 1.7 pA) para comparar de mejor manera cada cromatograma.

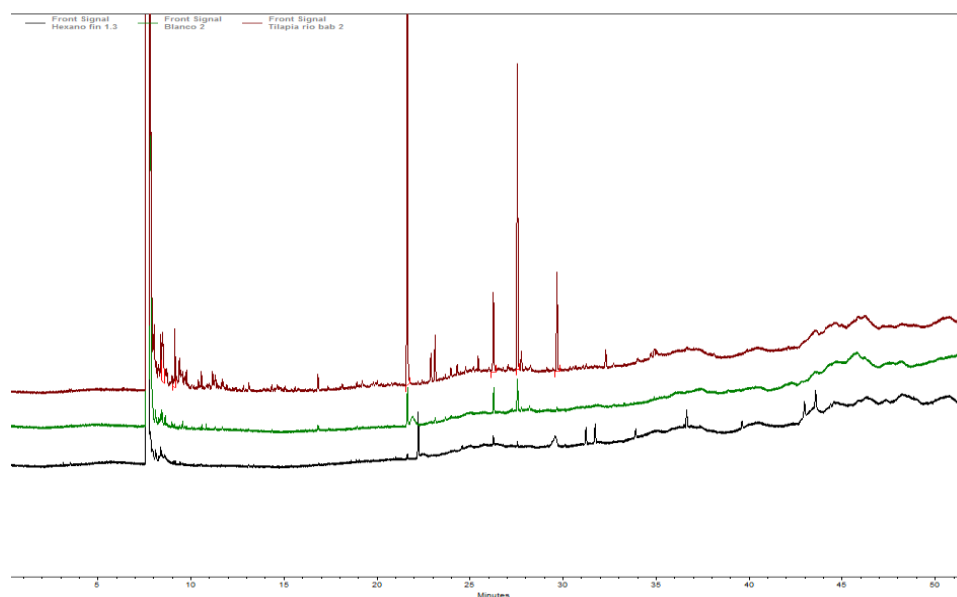


Figura 3. Cromatograma de n-hexano (negro), un blanco (verde) y una muestra de Tilapia (rojo)

Es posible notar que existe una clara diferencia entre los tres cromatogramas, puesto que en los gráficos correspondientes al blanco y del n-hexano, se encuentran solamente picos de área mínima. Esto se debe a que pudieron existir pequeñas impurezas que fueron adquiridas al realizar el procedimiento de extracción y derivatización, y en los materiales empleados, ya que el blanco fue sometido al mismo procedimiento de las muestras. Además, de que el n-hexano utilizado no era nuevo y pudo existir algún tipo de contaminación en el mismo debido a su almacenamiento. También, se puede verificar que los picos de la muestra son de una mayor intensidad y área que los de los otros dos cromatogramas, por lo cual, se puede constatar que los picos obtenidos corresponden a los ácidos grasos y no a las interferencias que pudieron existir durante la separación de los analitos.

Sin embargo, se debe tomar en cuenta que en el blanco se presentaron dos picos de tamaño considerable, tal como se puede observar en la Figura 3. Por lo tanto, estos dos picos pudieron ser una limitación durante el proceso de cuantificación de los ácidos palmítico y esteárico, ya que eluyeron en el mismo tiempo de retención que estos ácidos grasos. Dichos picos pudieron ser interferencias que adquiridas durante el proceso de preparación del blanco, por lo que se recomienda, para próximas investigaciones, tener un protocolo de limpieza del material riguroso con el fin de eliminar este tipo de interferencias.

En la Figura 4 se realiza una comparación entre el blanco (solvente inyectado al inicio del análisis de las muestras), de color negro, y el que se inyectó luego de terminar toda la secuencia (color rosa pálido).

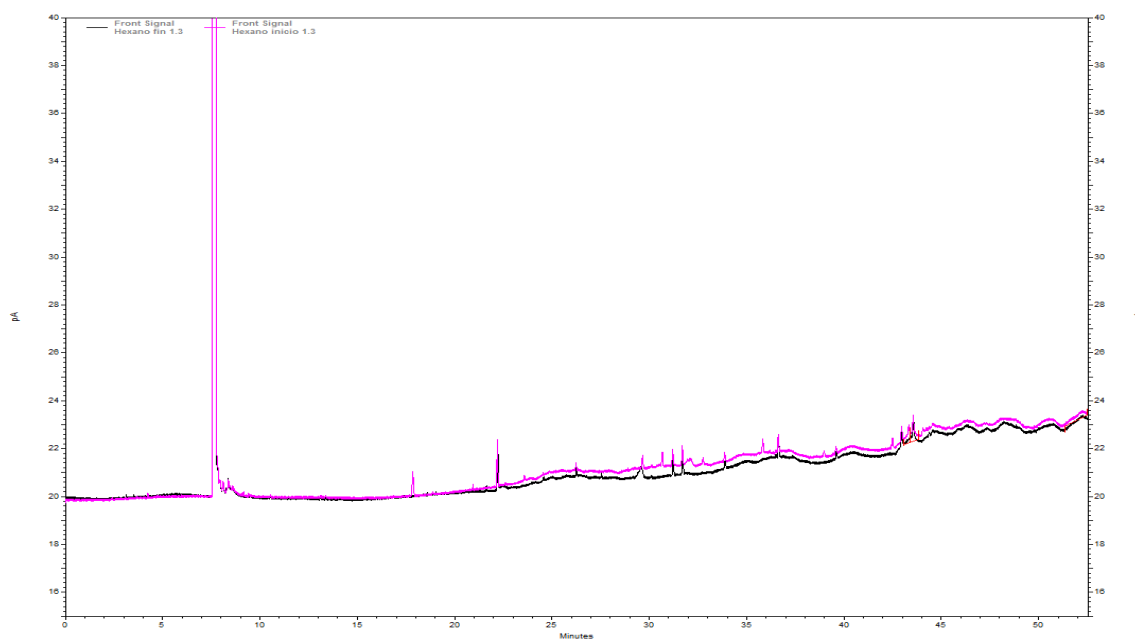


Figura 4. Cromatogramas superpuestos del blanco inyectado al inicio (negro) y final (rosa) de la secuencia de análisis

Como es posible observar, existen pequeños picos atribuibles a impurezas en los materiales utilizados, como se ha mencionado anteriormente. Pero si se observa detalladamente, es posible percatarse que no hay una gran diferencia en el número y magnitud de los picos del inicio y el final de la corrida; así mismo, la línea base se mantiene casi constante. Esto indica que las condiciones de análisis fueron óptimas y que no hay presencia de contaminación cruzada (*carry over*).

3.2 ANÁLISIS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

La Figura 5, representa el cromatograma de un estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos de concentración de 10 mg/mL, el cual fue el punto de mayor concentración de la curva de calibración. El certificado de composición del Supelco FAME mix C4-C24 utilizado para la realización de las curvas de calibración se encuentran en el Anexo 2.

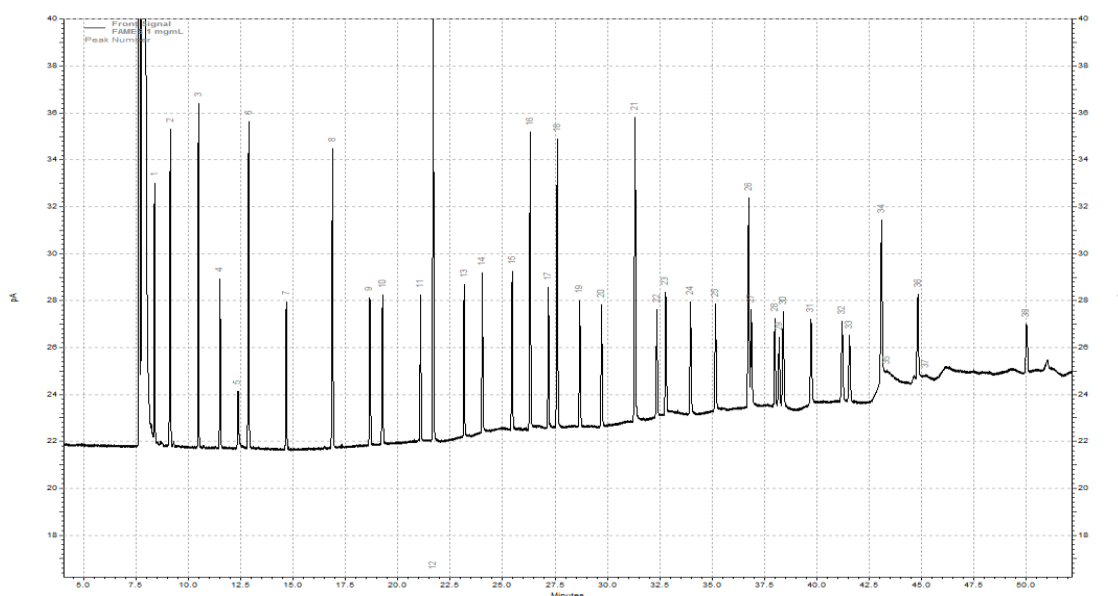


Figura 5. Cromatograma del estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos (C4-C24)

Como se puede observar, existe una muy buena separación entre la mayoría de los picos, además de que se observó que los tiempos de retención de cada uno son similares en cada nivel de la curva de calibración, y también en las muestras analizadas.

Cabe mencionar que para el desarrollo del método cromatográfico, se utilizaron las condiciones iniciales de trabajo establecidas por Bravo (2014), las cuales fueron modificadas con la finalidad de disminuir el tiempo de análisis (60 min comparados a los 90 min de Bravo, 2014), lo cual también se puede evidenciar en la Figura 5. Por ende, se deduce que se logró una óptima separación de la mezcla de ácidos grasos, tanto en las muestras como en los estándares, lo cual permitió una correcta identificación y cuantificación de los mismos.

Adicionalmente, es necesario acotar que durante el proceso de optimización del método cromatográfico se tuvo un problema con el ácido cis 11, 14 eicosadienoico, puesto se produjo una coelución con otro ácido graso lo que produjo que no se pudiera realizar su cuantificación. Por lo cual, se recomienda para futuras investigaciones realizar un análisis por GC-MS, con el fin de lograr la cuantificación de este ácido graso.

En la Tabla 5, se puede evidenciar que cada ácido graso tiene su respectivo límite de detección y cuantificación. Por lo cual, es posible observar que el ácido Behénico es el que presenta los menores límites de detección y cuantificación, lo que indica que el equipo GC-FID puede detectar menores concentraciones de este ácido graso con precisión y exactitud aceptables dentro de una muestra, a comparación de los otros ácidos grasos. Por el contrario, el ácido Undecanoico, es aquel que presenta los mayores límites de detección y cuantificación, esto se

debe a que este compuesto no es fácilmente ionizable durante la combustión en el detector FID.

Tabla 5. Parámetros de desempeño del método cromatográfico optimizado

Ácido Graso	Límite de detección (mg/mL)	Límite de cuantificación (mg/mL)	Pendiente (mg/mL)
Caprónico	0,07	0,23	7,00E+06
Caprílico	0,07	0,24	8,00E+06
Caprico	0,07	0,23	9,00E+06
Undecanoico	0,84	2,78	3,00E+04
Laurico	0,07	0,25	9,00E+06
Tridecanoico	0,80	2,73	9,00E+06
Mirístico	0,80	2,75	4,00E+06
Miristoleico	0,08	0,27	4,00E+06
Pentadecanoico	0,04	0,13	9,00E+06
cis-10 pentadecenoico	0,04	0,12	9,00E+06
Palmítico	0,12	0,39	9,00E+06
Palmitoleico	0,04	0,13	9,00E+06
Heptadecenoico	0,04	0,12	1,00E+07
cis-10 Heptadecenoico	0,04	0,12	9,00E+06
Estearico	0,07	0,25	1,00E+07
Elaídico	0,04	0,12	9,00E+06
Oleico	0,07	0,25	1,00E+07
Linoleaídico	0,04	0,13	9,00E+06
Linoleico	0,04	0,12	9,00E+06
Araquídico	0,10	0,33	1,00E+07
y-Linolénico	0,04	0,13	8,00E+06
cis-11 eicosadienoico	0,04	0,13	1,00E+07
linolénico	0,04	0,12	1,00E+07
Heneicosanoico	0,04	0,13	9,00E+06
Behenico	0,02	0,06	2,00E+07
Cis-8,11,14-eicosatrienoico	0,04	0,13	8,00E+06
Erúcico	0,04	0,14	6,00E+06
Cis-11,14,17 - eicosatrienoico	0,04	0,15	1,00E+07

Araquidónico	0,04	0,14	9,00E+06
Tricosanoico	0,04	0,13	9,00E+06
Cis-13,16- docosadienoico	0,04	0,12	9,00E+06
Lignocérico	0,04	0,11	9,00E+06
Nervónico	0,04	0,13	8,00E+06
DHA	0,04	0,14	8,00E+06

3.3 ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS Y PRECISIÓN DEL MÉTODO

Tabla 6. Resumen estadístico del contenido de ácidos grasos saturados e insaturados de las especies de pescado analizadas

Especie	Ácidos grasos saturados			Ácidos grasos insaturados		
	Media (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)	Media (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
Bagre	30,30	0,04	0,13	69,69	0,04	0,06
Cachama	49,10	0,13	0,26	50,86	0,08	0,15
Carpa	62,75	0,64	1,02	37,24	0,64	1,72
Chalaco	57,82	0,95	1,64	42,18	0,95	2,25
Chame	78,66	1,10	1,41	21,65	0,59	2,73
Corvina	36,23	0,15	0,41	63,76	0,16	0,25
Dama	78,89	0,09	0,11	21,10	0,09	0,45
Dica	45,17	1,28	2,83	55,32	1,04	1,89
Guadina	53,10	0,16	0,30	46,89	0,16	0,34
Guanchiche Puyo	45,94	0,64	1,41	54,62	0,57	1,04
Guanchiche de río Babahoyo	52,27	0,33	0,63	49,24	2,65	5,38
Guanchiche de criadero Babahoyo	58,51	0,06	0,10	41,51	0,02	0,04
Jandia	48,63	0,31	0,64	51,27	0,07	0,13
Ratón	56,48	0,28	0,49	43,51	0,28	0,64
Tilapia Puyo	52,36	2,07	3,96	47,63	2,07	4,35
Tilapia Roja	40,02	0,08	0,20	59,97	0,08	0,13

Tilapia Río Babahoyo	57,68	0,25	0,43	42,31	0,25	0,59
Trucha	41,60	0,05	0,13	58,24	0,08	0,13

La composición del contenido de ácidos grasos saturados e insaturados en el pescado varía entre las diferentes especies, e incluso, entre individuos de una misma especie, como se puede observar en la Tabla 6; esto depende mucho de varios factores como la edad, sexo, medio ambiente y estación del año (Ninan, 2013); sin embargo, como se puede apreciar, la mayoría de los pescados presentan similitudes en los porcentajes de ácidos saturados e insaturados

El Bagre de agua dulce es el pescado que presenta una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados con relación a los saturados; esto puede ser consecuencia de que esta especie es cazadora de peces más pequeños en su hábitat natural, lo que también influye en su tamaño y peso, que puede llegar hasta los 100 kg, por lo que acumula la mayor cantidad de grasa en su parte muscular. Por otra parte, los pescados como la Dama, Chame, Chalaco y Ratón, tienen un alto contenido de grasa saturada, debido al alto consumo energético que tienen durante las largas migraciones del desove y el desarrollo de las gónadas (Ramírez, 2012).

Como se puede observar en la Tabla 7, hay una gran variación entre especies con relación al contenido, tanto de Omega - 3 como de Omega - 6, puesto que, especies como el Chalaco, Carpa, Cachama y Tilapia no presentan un porcentaje apreciable de Omega - 3, a causa de que la mayoría de especies con

bajos contenidos de Omega - 3, son capturadas en los ríos cercanos a los poblados e impiden que tengan un desarrollo adecuado.

Tabla 7. Resumen estadístico del contenido de ácidos grasos Omega - 3 y 6 de las especies de pescado analizadas

Especies	OMEGA – 3			OMEGA - 6		
	Media (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)	Media (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
Bagre	1,65	0,03	1,69	0,16	0,01	5,17
Cachama	<LC			17,62	0,06	0,33
Carpa	<LC			11,67	0,18	1,54
Chalaco	<LC			6,56	0,39	5,99
Chame	1,73	0,10	5,68	4,35	0,47	10,86
Corvina	1,18	0,09	7,36	14,97	0,47	3,16
Dama	1,74	0,05	2,67	4,38	0,01	0,32
Dica	3,19	0,24	7,73	13,75	0,88	6,37
Guadina	2,49	0,15	5,91	8,37	0,69	8,28
Guanchiche Puyo	7,16	0,02	0,33	12,79	0,10	0,79
Guanchiche de río Babahoyo	6,12	0,15	2,43	7,15	0,03	0,43
Guanchiche de criadero Babahoyo	3,10	0,01	0,16	5,80	0,05	0,89
Jandia	2,51	0,06	2,59	14,42	0,06	0,39
Ratón	1,40	0,01	0,69	0,43	0,002	0,66
Tilapia Puyo	<LC			17,95	0,19	1,07
Tilapia Roja	1,32	0,03	1,95	17,25	0,04	0,20
Tilapia de río Babahoyo	<LC			10,27	0,07	0,68
Trucha	8,67	0,01	0,17	14,82	0,04	0,25

Además, existe una clara diferencia en relación a los pescados de criadero, puesto que estos presentan una mayor cantidad de Omega - 3 y Omega - 6, gracias a que su alimentación se basa en la ingesta de un balanceado especial. Corrales, Rivero, Fernández & Culebras (2013) sostienen que, por esta razón, los pescados de criadero son de mayor tamaño y presentan mayor proporción de grasa cargada de ácidos grasos esenciales como el Omega - 3, 6 y 9, ya que no tienen escasez de alimento y se espera hasta su completo desarrollo para el consumo humano, en comparación con los de río. Por lo cual, especies como la Corvina de río, Trucha Arcoiris, Carpa y Tilapia pueden presentar mayor cantidad de ácidos grasos esenciales, ya que estas especies son de criadero. A comparación, de especies como el Guanchiche, Chame, Dica, Ratón, Dama, Guadina, Bagre de agua dulce, Cachama, Jandia y Chalaco, puesto que estas especies son de río.

También, como se puede observar en la Tabla 7, el contenido de Omega - 6 es mayor al contenido de Omega - 3. La variación de este tipo de ácidos grasos depende, específicamente, de la alimentación, sexo y edad del pescado. Hasta el momento, se estima que la relación ideal para el contenido de Omega - 3 y 6, es que el Omega - 6 debe ser el doble o triple que el Omega - 3; lo que se puede observar en los resultados obtenidos para la mayoría de las especies de pescado como es el caso del Bagre, Chame, Corvina y Dama, por lo tanto, la relación es la ideal para producir beneficios a la salud (Lextxundi, Rocado, & Rincón, 2014).

En relación a la Tabla 8, se puede observar que los porcentajes de Omega - 9 son mayores a los de Omega - 3 y 6. Esto es debido a que el Omega - 9 está formado por el ácido oleico, el cual se almacena, principalmente, en la zona muscular del pescado, y constituye una fuente de energía para el nado y migraciones de desove, mientras que ácidos grasos como: el ácido linoleico, linoleico y araquidónico, se pueden almacenar en el hígado y piel del pescado. Además, se debe considerar que la variación del contenido de Omega - 9 se encuentra influida por la edad del pescado, ya que, a mayor edad del pescado disminuye el contenido de agua y aumenta la porción muscular y contenido de grasa en el mismo (Corrales, et al., 2013).

Tabla 8. Resumen estadístico del contenido de ácidos grasos Omega - 9 de las especies de pescado analizadas

Especies	OMEGA - 9		
	Media (%)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
Bagre	58,23	0,01	0,02
Cachama	33,23	0,11	0,35
Carpa	25,57	0,53	2,06
Chalaco	23,17	1,10	4,74
Chame	4,12	0,06	1,54
Corvina	3,06	0,02	0,75
Dama	4,09	0,03	0,79
Dica	29,87	0,65	2,18
Guadina	3,25	0,03	1,01
Guanchiche Puyo	5,57	0,09	1,69
Guanchiche de río Babahoyo	4,62	0,18	3,99
Guanchiche criadero Babahoyo	15,97	0,02	0,13
Jandia	29,35	0,09	0,31
Ratón	35,02	0,23	0,66
Tilapia Puyo	29,67	2,15	7,25
Tilapia Roja	31,89	0,04	0,12

Tilapia de río Babahoyo	27,66	0,24	0,87
Trucha	29,16	0,07	0,25

En referencia a la precisión del análisis realizado, al observar las Tablas 5, 6 y 7, de manera general, se demuestra que los coeficientes de variación son menores al 10% para la mayoría de los casos. Esto indica que los resultados obtenidos en los análisis realizados son bastante precisos y que no hay una alta dispersión de datos entre sí y respecto al valor medio, por lo que es posible establecer que existe una buena precisión del análisis realizado. Aunque, se debe tomar a consideración que en muchas especies de pescados se obtuvieron tres peces por especie, lo que pudo influir en que exista una variación en algunos de los resultados; como es el caso del Chame en la Tabla 7, cuyo valor de coeficiente de variación supera el 10%.

3.4 ANÁLISIS DE LOS PARES HOMÓLOGOS ENTRE ESPECIES

Las Tablas 9 y 10, obtenidas mediante el programa *STATGRAPHICS*, contienen los pares homólogos entre las especies de pescado estudiadas, es decir aquellas que muestran similitud en sus contenidos de ácidos grasos insaturados, saturados, Omega - 3, 6 y 9. Con el fin de identificar a los pares homólogos con mayor facilidad, las especies similares se encuentran con un mismo color.

Además, mediante este programa se realizó el análisis de varianza ANOVA de un factor, con un nivel de confianza del 95%. Todos los resultados obtenidos en la comparación realizada se encuentran en el Anexo 3, y evidencian diferencias significativas entre las medias, ya que el valor P es menor a 0.05.

Como se puede observar en la Tabla 9, hay diferencias significativas en los contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados de las especies de pescados analizados, e incluso dentro de una misma especie, como es el caso del Guachinche y la Tilapia, debidas, principalmente, al lugar de recolección, la madurez sexual y la alimentación del pescado (Ninan, 2013).

Tabla 9. Prueba de Rangos Múltiples para el contenido de ácidos grasos saturados e insaturados de las especies de pescado analizadas

Ácidos grasos saturados										Ácidos grasos insaturados										
Especie	Grupos Homogéneos									Especie	Grupos Homogéneos									
Bagre	■									Dama	■									
Corvina		■								Chame	■									
Tilapia Roja			■							Carpa	■									
Trucha				■						Guanchiche criadero		■								
Dica					■					Babahoyo		■								
Guanchiche Puyo						■				Chalaco			■							
Jandia							■			Tilapia Río Babahoyo			■							
Cachama								■		Ratón				■						
Guanchiche Río Babahoyo									■	Guadina					■					
										Tilapia Puyo						■				

Al observar los resultados obtenidos en las Tablas 10 y 11, es posible identificar que existe una variación entre los grupos homólogos del Omega - 3, 6 y 9; es decir, cada Omega agrupa a distintas especies según su contenido. Por ejemplo, un grupo homólogo que llama nuestra atención en el Omega - 3 son: la Cachama, Tilapia del Puyo, Chalaco, Carpa y la Tilapia Río de Babahoyo. Puesto que, este grupo de especies homólogas no se repite en el Omega - 6 ni 9, y muchas de las especies presentadas en este grupo homólogo son de Río como el caso de la Tilapia Río de Babahoyo, así como de criadero como la Tilapia Puyo. Esto indica que en algunos casos la misma especie de pescado puede presentar un similar contenido de Omega - 3, aunque sus condiciones de cría sean diferentes.

Tabla 10. Prueba de Rangos Múltiples para el contenido de ácidos grasos Omega – 3 y 6 de las especies de pescado analizadas

Omega - 3		Omega – 6	
Especie	Grupos Homogéneos	Especie	Grupos Homogéneos
Cachama	█	Bagre	█
Tilapia Puyo	█	Ratón	█
Chalaco	█	Chame	█
Carpa	█	Dama	█
Tilapia Río Babahoyo	█	Guanchiche criadero Babahoyo	█
Corvina	█	Chalaco	█
Tilapia Roja	█	Guanchiche Río Babahoyo	█
Ratón	█	Guadina	█
Bagre	█	Tilapia Río Babahoyo	█

Por otra parte, si se verifican los grupos homólogos en el caso del Omega - 6 y 9, es posible percatarse que aquellas especies que coinciden en su procedencia comparten el mismo grupo, como es el caso del Bagre y Ratón en relación al Omega - 6, y la trucha, Jandia y Tilapia Puyo con respecto al Omega - 9. Esto se debe a que las condiciones de cría y desarrollo juegan un papel importante. Puesto que, cuando el pescado se desarrolla en un criadero se puede controlar su dieta, la cual para la mayoría de casos es rica en lípidos; mientras que, cuando los pescados son recolectados directamente de los ríos, carecen en muchos casos de una fuente de alimento constante, lo que puede producir un déficit de ácidos grasos como Omega - 3, 6 y 9 (Ramírez, 2012).

También es posible observar en la Tabla 10 y 11 que muchas de las especies no tienen grupos homólogos como es el caso Cachama, Dica y Jandia en el caso del Omega - 6 y el Chalaco, la Carpa y Tilapia Roja en relación al Omega - 9. Esto se debe a que el contenido de ácidos grasos entre las distintas especies de pescado es una variable y dependen de muchos factores entre los cuales se encuentran la época de desove, la disposición de la grasa y las condiciones de desarrollo del pescado (Salas, Galdós & Ruiz, 2017).

3.5 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS CON OTROS ANÁLISIS DE REFERENCIA Y OTROS ALIMENTOS

Con la finalidad de realizar una comparación de los resultados obtenidos con otros de referencia, se convirtieron los resultados en mg por cada 100 gramos de muestra, los cuales se encuentran expresados en la Tabla 12.

Según Aranceta, et al., (2012), en un estudio realizado por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) del perfil lipídico de las principales especies de consumo en América, se puede observar gran similitud con los resultados obtenidos. Un ejemplo es la Trucha, puesto que la FAO reporta un contenido de 580 mg /100g de muestra entre ácidos saturados e insaturados y el valor obtenido experimentalmente fue de 503 mg /100 g. Además, el contenido de Omega 3 presentado por la FAO es aproximadamente 98 mg / 100 g para la trucha, lo cual difiere un poco con el valor obtenido en la investigación realizada, debido a las razones antes mencionadas.

Tabla 12. Contenido de los ácidos grasos en mg por cada 100 gramos de porción comestible de pescado

Especie	Media de los ácidos grasos en mg/100g				
	Saturado	Insaturado	Omega 3	Omega 6	Omega 9
Tilapia Puyo	49,3	229,8	<LC	91,7	138,1
Tilapia Roja	202,4	302,1	6,6	86,9	160,7
Carpa	82,0	192,3	<LC	59,5	132,8
Jandia	245,4	260,8	12,4	73,3	149,3
Guanchiche Puyo	232,9	273,4	36,3	63,3	27,7
Dica	225,5	282,8	11,8	72,6	152,6
Guanchiche Río Babahoyo	263,8	240,8	30,5	36,0	23,7
Cachama	249,3	259,2	<LC	89,9	169,3
Guanchiche criadero Babahoyo	297,6	211,4	16,6	29,6	81,4
Chame	397,5	105,8	9,3	20,0	20,5
Dama	422,6	112,7	9,0	23,5	21,8
Ratón	285,3	221,2	7,1	2,2	178,2
Guadina	267,3	236,3	12,9	40,5	16,6
Chalaco	286,9	214,5	<LC	34,2	120,6

Bagre	154,34	354,1	8,3	0,79	290,6
Tilapia Río Babahoyo	299,6	222,4	<LC	54,0	145,8
Trucha	209,9	293,8	43,7	74,9	141,6
Corvina	182,8	324,1	5,6	77,9	15,7

Otra especie que debemos tomar a consideración es el Bagre, ya que el valor de ácidos grasos saturados e insaturados puede llegar hasta 800 mg / 100 g, de acuerdo a lo indicado en la investigación de la FAO, el cual es mayor a lo obtenido en el presente estudio. Pero, se debe considerar que el valor obtenido por la FAO es el valor máximo de grasa total que se ha encontrado para esta especie de pescado y se realizó un promedio entre distintas especies intermareales.

Por otro lado, en referencia al contenido de Omega 3 indicado por la FAO coincide bastante al del Bagre analizado en esta disertación, puesto que se describe un valor de hasta 23 mg / 100 g, lo que indica que los resultados son confiables y concuerdan con lo establecido en la teoría. Cabe destacar que, en algunos casos, los datos obtenidos difieren un poco, a causa de que los investigadores obtuvieron un promedio de los datos obtenidos a nivel continental y en distintas épocas del año; mientras que en este trabajo, solamente se obtuvieron peces endémicos e introducidos a nivel regional Ecuador y en una sola época del año (Aranceta, et al., 2012).

En la investigación realizada por Nast (2014), la cual presenta los datos referenciales del *Data Nutrition* e indica un valor aproximado del contenido

nutricional de cualquier alimento, se puede observar que los datos referenciales indican que el contenido de Omega - 3 puede estar entre 4.6 – 156 mg/100 g. Con relación al Omega - 6, los valores referenciales mostrados fueron de 7-70 mg/100 g. Por ende, los datos obtenidos experimentalmente en la Tabla 11 se encuentran dentro de los rangos de referencia e indican un buen nivel de exactitud.

Por último, con el objetivo de determinar si el contenido de ácidos grasos esenciales de las especies estudiadas es mayor a muchos de los alimentos que se consumen diariamente, se tomó como referencia un estudio realizado por Monje (2013) en la Universidad de Harvard, en el cual se determinó el contenido de ácidos grasos esenciales de los principales alimentos de consumo en Latinoamérica. Los investigadores reportan que el aguacate tiene un valor aproximado de 332 y 199 mg / 100 g de Omega - 3 y Omega - 6, respectivamente. Al realizar la comparación con los datos obtenidos en el presente estudio, se puede observar que son mucho mayores, pero en los peces, estos ácidos grasos solamente constituyen alrededor del 2 por ciento del total de lípidos, un porcentaje pequeño comparado con muchos vegetales.

Sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que muchas de las especies de pescado superan el contenido de ácidos grasos esenciales de otros productos cárnicos, como es el caso de la pechuga de pollo, la cual contiene, según Monge (2013), una concentración aproximada de 13 y 20 mg / 100g de Omega - 3 y 6, respectivamente. Otro alimento que resulta interesante en otras

investigaciones es el huevo, puesto que su contenido de Omega - 3 es superior (196 mg/ 100 g) pero su contenido de Omega - 9 es bastante parecido al de algunas especies como el Bagre, llegando a obtener 366 mg/ 100 g (Monje, 2013). Por estos motivos, se puede afirmar que las especies estudiadas de pescados continentales ecuatorianos podrían aportar a la dieta y a la salud, los mismos beneficios que otros productos alimenticios, en cuanto a la composición de ácidos grasos esenciales.

3.6 COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS

Con relación a estudios similares se encontró varias similitudes. Por ejemplo, un estudio realizado por Restrepo, Díaz & Pardo, (2012), en la región de Córdoba (Colombia), se demostró que el contenido de Omega - 3 y Omega - 6 en la Tilapia Roja es de 1.5 y 4.8 %, a pesar de que las Tilapias rojas analizadas en dicha investigación son de criadero y son alimentadas con un balanceado especial. Por lo cual, al realizar una comparación con las Tilapias analizadas en la presente investigación se puede encontrar que hay mucho similitud con las especies de pescado que son de criadero como la Tilapia Puyo y la Tilapia Roja.

Otros estudios, como el de Izquierdo et al. (2011) en la Universidad de Zulia, realizó un análisis proximal y del perfil lipídico de especies emblemáticas del estado de Zulia. Aquí se indica que las especies: Cachama, Trucha, Corvina y la Tilapia, presentan un porcentaje aproximado de ácidos insaturados de 51.7,

60.3, 70.4 y 48.1 % respectivamente. También, muestran porcentajes representativos de Omega - 3 de 20, 18, 30 y 13.3 % respectivamente y Omega - 6 de 20.4, 12.6, 5.6 y 30 %. En muchos de los casos son un poco mayores a los porcentajes obtenido en esta disertación, pero también se deben considerar los factores por los que varía el contenido de ácidos grasos que se han mencionado anteriormente.

Hay que tomar a consideración, que en el país no se han realizado estudios de esta índole respecto a la mayoría de especies de tipo continental o de agua dulce, por lo cual no hay estudios relacionados de muchas de las especies que se han estudiado en esta investigación, ya que son propias del Ecuador y no se ha logrado realizar una comparación más amplia ni establecer si hay diferencias o similitudes con otros datos.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

1. Se estableció que, de las 18 muestras de pescados continentales o de agua dulce, el Bagre es el pez con mayor contenido de ácidos grasos insaturados (69,69%) y menor contenido de ácidos grasos saturados (30,30%), mientras que la Dama es la especie que muestra un mayor contenido de ácidos grasos saturados (78,66%) y menor contenido de ácidos grasos insaturados (21,10%).
2. De las 18 muestras de pescados continentales, la Trucha presenta un mayor contenido de Omega - 3 (8,67%) y el Chalaco, Cachama, Carpa, Tilapia Puyo y Tilapia de Río Babahoyo son las que presentan menor porcentaje de Omega - 3 (<LC).
3. De las 18 muestras de pescado continentales, la Tilapia del Puyo presentó el mayor contenido de Omega - 6 (17,95%), mientras que la especie que demostró menor contenido Omega - 6 fue el Bagre (0,16%).

4. De las 18 muestras de pescado, el Bagre es la especie con mayor contenido de Omega - 9 (58,23%) y la Corvina el pez con menor contenido de Omega - 9 (3.07%).

5. Por medio de los resultados obtenidos, se demostró que, de las 18 especies estudiadas, el Bagre, Tilapia del Puyo y Trucha, podrían ser las especies de peces más saludables por su alto contenido de ácidos grasos insaturados y contenido de ácidos grasos esenciales como el Omega - 3, 6 y 9, los cuales constituyen nutrientes necesarios para el correcto funcionamiento del organismo.

6. Las Pruebas de Rangos Múltiples demostraron diferencias significativas del contenido de ácidos grasos insaturados entre peces de la misma especie, como es el caso del Guachinche de criadero y río, y entre la Tilapia del Puyo y Babahoyo.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones similares en las especies de agua dulce del país, pero en diferentes épocas del año, la disposición de la grasa y las condiciones de desarrollo del pescado para determinar si hay variaciones en la fracción lipídica.

2. Para futuras investigaciones en especies de pescados, se recomienda adquirir las muestras fileteadas, con el objetivo de simplificar la preparación, reducir el tiempo, evitar cualquier tipo de contaminación y facilitar homogenización de las mismas.

3. La determinación del perfil lipídico de las especies de pescados de agua dulce del Ecuador, por medio de la extracción, derivatización y análisis por cromatografía de gases, demostró que este alimento presenta un mayor contenido de ácidos grasos esenciales que otras fuentes cárnicas alimenticias como la pechuga de pollo, por lo cual se debería priorizar su ingesta en la dieta.

4. Por los resultados obtenidos en este análisis de los pescados continentales, se recomienda el consumo de las especies estudiadas al menos tres veces por semana, puesto que presentan altos contenidos de Omega - 3, 6 y 9, los cuales beneficiosos para la salud y podrían ayudar a prevenir enfermedades.

5. Para futuras investigaciones se recomienda seguir un protocolo de limpieza del material riguroso, con el fin de eliminar cualquier tipo de interferencias que puedan afectar el análisis.

BIBLIOGRAFÍA

Aranceta, J., Gil, M., Martínez, E., Ortega, R., & Serra, L (2012). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Granada, España: Editorial FAO y FINUT, 1ra edición. Pp (20-100)

Araujo, M. & Gandur, R. (2014). Statgraphics. Obtenido de Proyectos de estudio de: <http://www.fce.unal.edu.co/uifce/proyectos-de-estudio/pdf/StatGrphics>

Barriga, R. (2011). Lista de peces de agua dulce e intermareales del Ecuador, Revista Politécnica, 30(3), 83-119. Obtenido de: [http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5068/4/Peces%20agua%20dulce-intermareales%20Ecuador%202012Politecnica30\(3\).pdf](http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5068/4/Peces%20agua%20dulce-intermareales%20Ecuador%202012Politecnica30(3).pdf)

Bravo, F. (2014). Determinación del perfil de ácidos grasos en embutidos y mayonesas de mayor consumo en el Distrito Metropolitano de Quito por cromatografía de gases. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.

Calvo, M. (2012). Ácidos grasos. Obtenido de: Bioquímica de los alimentos de: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/lipidos/acidosgrasos.html>

Campos, M., Gonzáles, G., Acereto, P. & Chel, A. (2015). Perfil de ácidos grasos de mero crudo y procesado en aceite en la península de Yucatán, Revista de Nutrición, 31 (2), 928-935. Obtenido de: <http://www.redalyc.org/html/3092/309233495052/>

Castro, M. & Masafs, A. (2013). Perfil de ácidos grasos de diversas especies de pescados consumidos en México, Revista de biología, 61 (4), 1981-1998. Obtenido de: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v61n4/a32v61n4.pdf>

Coronado, H., Vega, S., Gutiérrez, R. & Díaz, G. (2012). Los ácidos grasos Omega-3 y Omega-6: nutrición, bioquímica y salud, Revista de Educación

Bioquímica, 25(3), 72-79. Obtenido de:
http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2006/03/e_AcidosGrasos.pdf

Corrales, G., Rivero, L., Fernández, O., & Culebras, J., (2013). Análisis del perfil lipídico de dos especies de merluza “*Merluccius capensis* y *Merluccius paradoxus*” y su aportación a la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Archivos de Nutrición hospitalaria*, 29(1), 212-311. Obtenido de:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000100008

Evans, M., & Rosentha, J., (2015). *Probabilidad y estadística*. Barcelona, España: Editorial Reverté, 1ra edición. Pp (168-180)

Folch, J. & Stanley, S. (1956). A simple method for isolation and purification of total lipides from the animal tissues, *Journal Biological Chemistry* 226:497-509. Obtenido de: <http://www.jbc.org/content/226/1/497.long>

Izquierdo, Torres, Marquéz & Allara, (2011). Composición de ácidos grasos y contenido de humedad en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela, *Unidad de investigación de la Universidad de Zulia*, 9(6), 463-466. Obtenido de:
www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/cientifica/article/download/.../14524

Jackson, A. & Chamberlain, A., (2013). Los Omega-3 más saludables EPA y DHA se encuentran principalmente en el aceite y la harina de pescado. Obtenido de la Organización internacional de harina y aceite de pescado:
<http://www.piaschile.cl/wp-content/uploads/2015/04/Los-OMEGA3-mas-saludables-EPA-y-DHA-se-encuentran-se-encuentran-principalmente-en-el-aceite-y-la-harina-de-pescado.pdf>

Jiménez, P., Aguirre, W., Laaz, E., Navarrete, R., Nugra, F., Rebolledo, E., Torres, A., & Valdiviezo, J. (2015). *Guía de peces para aguas continentales en la vertiente occidental del Ecuador*. Quito, Ecuador: Imprenta Mariscal Cía Ltda. Pp (292-315).

Jofre, V., (2012). Validación de la metodología analítica para la determinación de ácidos grasos en aceites de oliva extra virgen (Tesis de pregrado). Universidad de Chile.

Koolman, J. & Rohm, K. (2014). Bioquímica: texto y atlas. Madrid, España: Editorial Panamericana, 3ra edición. Pp (10-11).

Luque, M. e Ibáñez, Z. (2012). Técnicas de análisis de datos en investigación de mercados. 2da edición. Madrid, España: Ediciones Pirámide. Pp. 313-316.

Lextxundi, A., Rocandio, A., & Rincón, E., (2014). Relación entre el índice de consumo de pescado y carne y la adecuación y calidad de la dieta en mujeres jóvenes universitarias, Archivos de Nutrición hospitalaria, 30(5), 233-450. Obtenido de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112014001200020

Martínez, G., & Rosaura, M. (2012). Perfil De Ácidos Grasos de Peces Marinos Comerciales, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(2), 187-194. Obtenido de: <http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/handle/123456789/4048>

Marsin, M., Ling, S., Nasir, Z., & Wan, W., (2012). Comparación entre la señal a ruido, la determinación en blanco y los métodos de regresión lineal para la estimación de límites de detección y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles por cromatografía de gases. Obtenido de la Universidad Tecnológica de Malaysia:
www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/109734/.../Regresion%20lineal.pdf

Monje, R., (2013). Tabla de composición de alimentos de Costa Rica: Ácidos grasos. San José, Costa Rica: Editorial INCIENSA, 1ra edición. Pp (55-70).

Nast, C., (2014). Self nutrition data, know what you eat. Obtenido de: <http://nutritiondata.self.com/facts/finfish-and-shellfish-products/4045/2>

Ninan, G. (2013). Chemical Composition of Fish and Shell Fish. Obtenido de Central Institute of Fisheries Technology: <http://210.212.228.207/bitstream/handle/123456789/164/chemical%20composition%20of%20fish%20and%20shellfish.pdf?sequence=3>

Horwitz, W. & Latimer, W. (Eds.). (2005). Official Methods of Analysis of the AOAC INTERNATIONAL. 18^a edición. Washington DC: Helrich, K.C. Pp (91-98).

Oliver, A., Segura, C., Bonet, M. & Serra, F. (2012). El libro blanco de las grasas en la alimentación funcional. España: Editorial Innuo, 1ra edición. Pp (73-116)

Ortega, R., Jiménez, F. & Sagnier, L. (2011), Prejuicios y verdades sobre las grasas y otros alimentos. Obtenido del Departamento de nutrición, de la Universidad de Madrid: http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/prejuicios_y_verdades_sobre_grasas.pdf

Perea, A., Gómez, E., C.E. (2011). Caracterización nutricional de pescados de roducción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58(1), 91-97. Obtenido de: <http://www.scielo.org/ve/pdf/alan/v58n1/art13.pdf>

Pérez, J. (2014). Evaluación cuantitativa de la producción de biodiesel de microalgas de lagunas de tratamiento de agua residual. (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca.

Perona, J., Gutiérrez, V. & Barrón, L. (2012). La cromatografía de alta eficiencia en la separación de triglicéridos de grasas animales complejas, Archivos de la Universidad de Vasco, 50 (4), 298-311. Obtenido de: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/22002/1/682.pdf>

Ramírez, J. (2012). Composición química de pescados y mariscos. Obtenido de Bioquímica en productos de origen cárnico: http://bioquimicadeproductoscarnicos.blogspot.com/2012/06/composicion-quimica-de-pescados-y_03.html

Restrepo, I., Díaz, G., & Pardo, S., (2012). Peces dulceacuícolas como alimento funcional: perfil de ácidos grasos en Tilapia y Bocachico criados en policultivo. Archivos de Latinoamericanos de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 10(2), 44-53. Obtenido de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n2/v10n2a06.pdf>

Romero, N., Robert, P., Masson, L. & Pineda, R., C.E. (2013). Composición de los ácidos grasos y proximales de siete especies de pescados de la Isla de Pascua, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(3), 304-308. Obtenido de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000300016

Salas, A., Galdós, A., & Ruiz, M., (2017). Composición de EPA y DHA en aceite de crudo de pescado producido en el Perú durante el periodo 1996-2000, Archivos del Instituto Tecnológico del Perú, 3(5), 283-287. Obtenido de: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358120209487740>

Salazar, L. (2012), Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel. (Tesis de pregrado). Universidad de Piura.

Sánchez, M. (2013). Aplicación de la cromatografía de gases acoplada a detector de espectrometría de masas en tándem a la determinación de residuos de plaguicidas en frutas y vegetales. (Tesis doctoral). Universidad de Almería

Skoog D. (2009), Principios de análisis instrumental. Madrid, España: Ed. McGraw-Hill, 5ª edición. Pp (759-768).

Teijón, M. (2014). Fundamentos de bioquímica estructural. Madrid, España: Editorial Tebar, 1ra edición. Pp (220-260)

Valenzuela, A. & Nieto, S. (2015). Ácidos grasos Omega-6 y Omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia, Revista chilena de pediatría, 74(2), 149-157. Obtenido de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-4106200300020000

ANEXOS

ANEXO 1: FOTOGRAFÍAS DE PESCADOS CONTINENTALES

- Dica



- Ratón



- Tilapia



- Guanchiche



- Cachama



- Bagre de agua dulce



- Carpa



- Chame



- Tilapia Roja



- Guadina



- Jandia



- Chalaco



- Dama



ANEXO 2

CERTIFICADO DE COMPOSICIÓN DEL ESTÁNDAR DE METIL ÉSTERES DE ÁCIDOS GRADOS

Certificate of Composition

DESCRIPTION: F.A.M.E. Mix C4-C24

CATALOG NO.: 18919-1AMP

MFG. DATE: Aug 2013

LOT NO.: LC02357

EXP. DATE: Aug 2016

ANALYTE	CAS NO.	PURITY (1)	WEIGHT% (2)	SUPELCO LOT NO.
MYRISTOLEIC ACID METHYL ESTER	56219-06-8	99.9	2.01	LB93227
CIS-10-PENTADECENOIC ACID METH	90176-52-6	99.0 (a)	2.00	LB92709
LINOLELAIDIC ACID METHYL ESTER	2566-97-4	99.9	2.00	LB98119
GAMMA-LINOLENIC ACID METHYL ES	16326-32-2	99.9	2.00	LB91798
METHYL CIS-5,8,11,14-EICOSATET	2566-89-4	98.8	2.00	LB88820
ALL CIS-4,7,10,13,16,19-DOCOSA	2566-90-7	99.9	2.00	LB95143
METHYL CIS-5,8,11,14,17-EICOSA	2734-47-6	99.8	2.00	LB95206
METHYL BUTYRATE	623-42-7	99.9	4.00	LB99087
METHYL HEXANOATE	106-70-7	99.9	3.99	LB78270
METHYL OCTANOATE	111-11-5	99.9	3.99	LB84159
METHYL DECANOATE (CAPRATE)	110-42-9	99.9	4.01	LB86422
METHYL UNDECANOATE	1731-86-8	99.5	2.01	LB79889
METHYL LAURATE	111-82-0	99.8	3.99	LB32645
METHYL TRIDECANOATE	1731-88-0	99.9	2.00	LB79989
METHYL MYRISTATE	124-10-7	99.9	3.99	LB89997
METHYL PENTADECANOATE	7132-64-1	99.9	2.00	LB84181
METHYL PALMITATE	112-39-0	99.7	5.99	LB88583
METHYL HEPTADECANOATE	1731-92-6	99.6	2.00	LB87552
METHYL STEARATE	112-61-8	99.9	3.99	LB97274
METHYL HENEICOSANOATE	6064-90-0	99.9	2.00	LB85704
METHYL BEHENATE	929-77-1	99.8	3.99	LB89082
METHYL TRICOSANOATE	2433-97-8	99.6	2.00	LB81902
METHYL PALMITOLEATE (METHYL CI	1120-25-8	99.9	2.00	LB99097
CIS-9-OLEIC METHYL ESTER	112-62-9	99.9	4.00	LB91078
METHYL LINOLEATE	112-63-0	99.9	2.00	LB92660
METHYL ERUCATE (CIS-13-DOCOSEN	1120-34-9	99.9	2.00	LB99614
METHYL NERVONATE	2733-88-2	99.9	2.00	LB95090
METHYL ARACHIDATE	1120-28-1	99.9	4.00	LB88395
METHYL LIGNOCERATE	2442-49-1	99.9	4.00	LB90233

(1) Determined by GC-FID unless otherwise noted.

(a) Resale Item.

(2) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.

NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.



Duane Funk
Quality Manager

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.



595 North Harrison Road
Bellefonte, PA 16823-0048 USA
Phone (814) 359-3441

Certificate of Composition

DESCRIPTION: F.A.M.E. Mix C4-C24

CATALOG NO.: 18919-1AMP
 LOT NO.: LC02357

MFG. DATE: Aug 2013
 EXP. DATE: Aug 2016

ANALYTE	CAS NO.	PURITY (1)	WEIGHT% (2)	SUPELCO LOT NO.
TRANS-9-ELAIDIC METHYL ESTER	1937-62-8	99.7	2.00	LB93221
METHYL LINOLENATE	301-00-8	99.9	2.00	LB89406
METHYL EICOSENOATE	2390-09-2	99.9	2.01	LC01495
CIS-10-HEPTADECENOIC ACID METH	75190-82-8	99.9	2.07	LB97262
CIS-11,14-EICOSADIENOIC ACID M	2463-02-7	99.9	2.01	LB92980
CIS-11,14,17-EICOSATRIENOIC AC	55682-88-7	99.9	2.00	LB94324
CIS-8,11,14-EICOSATRIENOIC ACI	21061-10-9	99.9	2.00	LB99668
CIS-13,16-DOCOSADIENOIC ACID M	61012-47-3	99.9	2.00	LB90799

(1) Determined by GC-FID unless otherwise noted.

(a) Resale Item.

(2) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed.

NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

Duane Funk

Duane Funk
 Quality Manager

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

SUPELCO
 Solutions within.™

595 North Harrison Road
 Bellefonte, PA 16823-0048 USA
 Phone (814) 359-3441

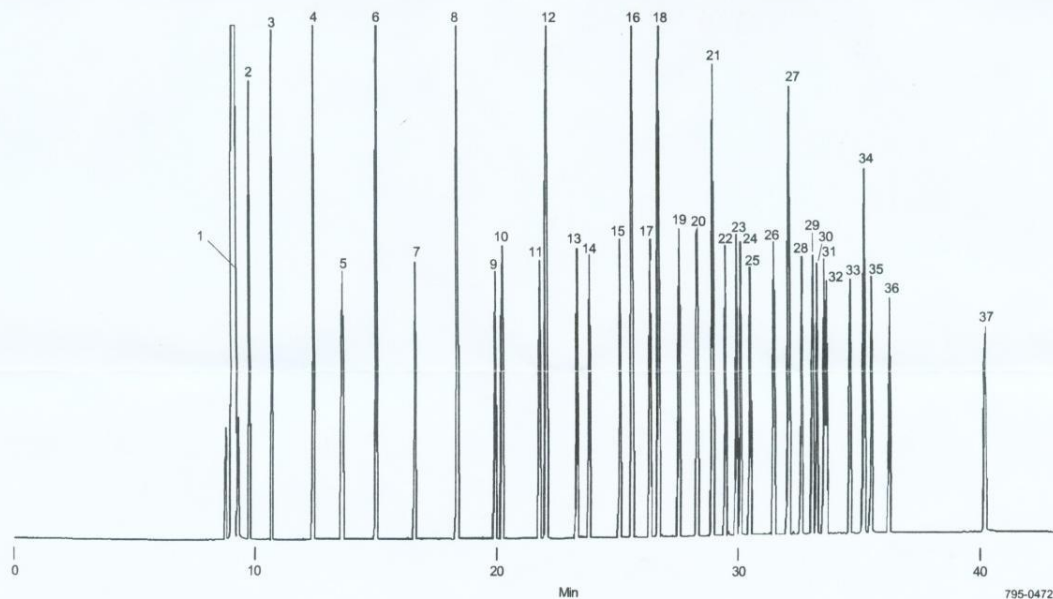
This Data Sheet Contains Important Information About The Product.

Supelco™ 37 Component FAME Mix, 100mg Neat
Catalog No. 18919-1AMP

This fatty acid methyl ester (FAME) mixture is carefully prepared by weight. The weight percentage of each component is indicated.

Column: **SP™-2560, 100m x 0.25mm ID, 0.20µm film**
 Cat. No.: **24056**
 Oven: **140°C (5 min) to 240°C at 4°C/min**
 Carrier: **helium, 20cm/sec**
 Det.: **FID, 260°C**
 Inj.: **1µL, 260°C, split 100:1**
 Sample: **Dilute to 10mg/mL in methylene chloride**

Component	Weight %
1. Butyric Acid Methyl Ester (C4:0)	4%
2. Caproic Acid Methyl Ester (C6:0)	4%
3. Caprylic Acid Methyl Ester (C8:0)	4%
4. Capric Acid Methyl Ester (C10:0)	4%
5. Undecanoic Acid Methyl Ester (C11:0)	2%
6. Lauric Acid Methyl Ester (C12:0)	4%
7. Tridecanoic Acid Methyl Ester (C13:0)	2%
8. Myristic Acid Methyl Ester (C14:0)	4%
9. Myristoleic Acid Methyl Ester (C14:1)	2%
10. Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:0)	2%
11. cis-10-Pentadecenoic Acid Methyl Ester (C15:1)	2%
12. Palmitic Acid Methyl Ester (C16:0)	6%
13. Palmitoleic Acid Methyl Ester (C16:1)	2%
14. Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:0)	2%
15. cis-10-Heptadecenoic Acid Methyl Ester (C17:1)	2%
16. Stearic Acid Methyl Ester (C18:0)	4%
17. Elaidic Acid Methyl Ester (C18:1n9t)	2%
18. Oleic Acid Methyl Ester (C18:1n9c)	4%
19. Linolelaidic Acid Methyl Ester (C18:2n6t)	2%
20. Linoleic Acid Methyl Ester (C18:2n6c)	2%
21. Arachidic Acid Methyl Ester (C20:0)	4%
22. γ-Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n6)	2%
23. cis-11-Eicosenoic Acid Methyl Ester (C20:1)	2%
24. Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n3)	2%
25. Heneicosanoic Acid Methyl Ester (C21:0)	2%
26. cis-11,14-Eicosadienoic Acid Methyl Ester (C20:2)	2%
27. Behenic Acid Methyl Ester (C22:0)	4%
28. cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n6)	2%
29. Erucic Acid Methyl Ester (C22:1n9)	2%
30. cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid Methyl Ester (C20:3n3)	2%
31. Arachidonic Acid Methyl Ester (C20:4n6)	2%
32. Tricosanoic Acid Methyl Ester (C23:0)	2%
33. cis-13,16-Docosadienoic Acid Methyl Ester (C22:2)	2%
34. Lignoceric Acid Methyl Ester (C24:0)	4%
35. cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid Methyl Ester (C20:5n3)	2%
36. Nervonic Acid Methyl Ester (C24:1)	2%
37. cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid Methyl Ester (C22:6n3)	2%



ANEXO 3: RESULTADOS TABLA ANOVA DE UN FACTOR DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

TABLA 13. ÁCIDOS GRASOS SATURADOS DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8245,89	17	485,052	936,26	0,0000
Intra grupos	18,6507	36	0,518076		
Total (Corr.)	8264,54	53			

TABLA 14. ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8235,82	17	484,46	596,86	0,0000
Intra grupos	29,2205	36	0,811682		
Total (Corr.)	8265,04	53			

TABLA 15. OMEGA - 3 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	332,509	17	19,5594	2690,32	0,0000
Intra grupos	0,26173	36	0,00727027		
Total (Corr.)	332,771	53			

TABLA 16. OMEGA - 6 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1672,8	17	98,4002	909,39	0,0000
Intra grupos	3,89535	36	0,108204		
Total (Corr.)	1676,7	53			

TABLA 17. OMEGA - 9 DE LAS ESPECIES DE PESCADO ANALIZADAS

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	11807,7	17	694,573	1856,98	0,0000
Intra grupos	13,4652	36	0,374033		
Total (Corr.)	11821,2	53			

ANEXO 4: CROMATOGRAMAS DE LAS ESPECIES DE PESCADOS ANALIZADOS

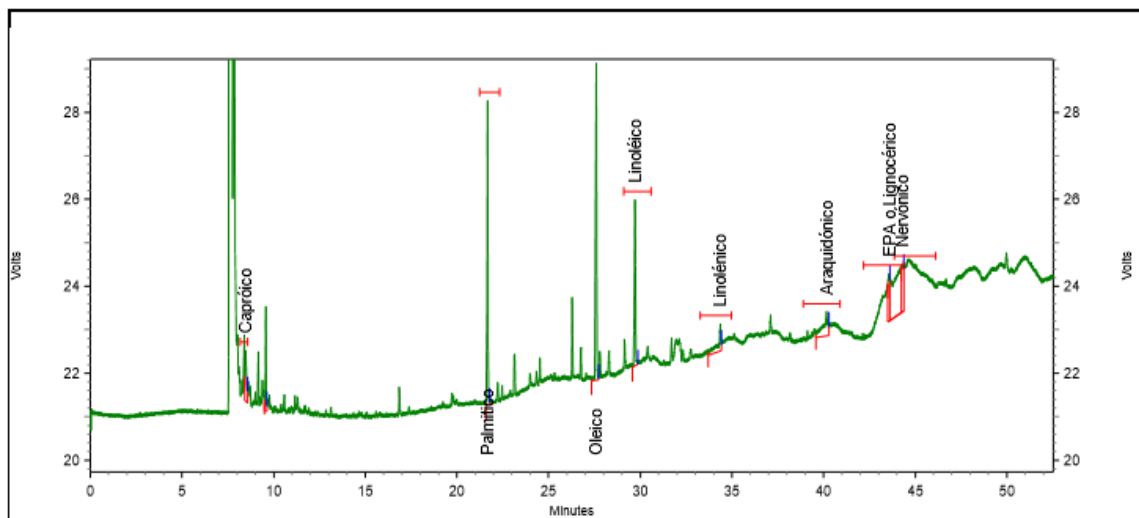


Figura 6. Cromatograma obtenido del análisis de la Tilapia del Puyo

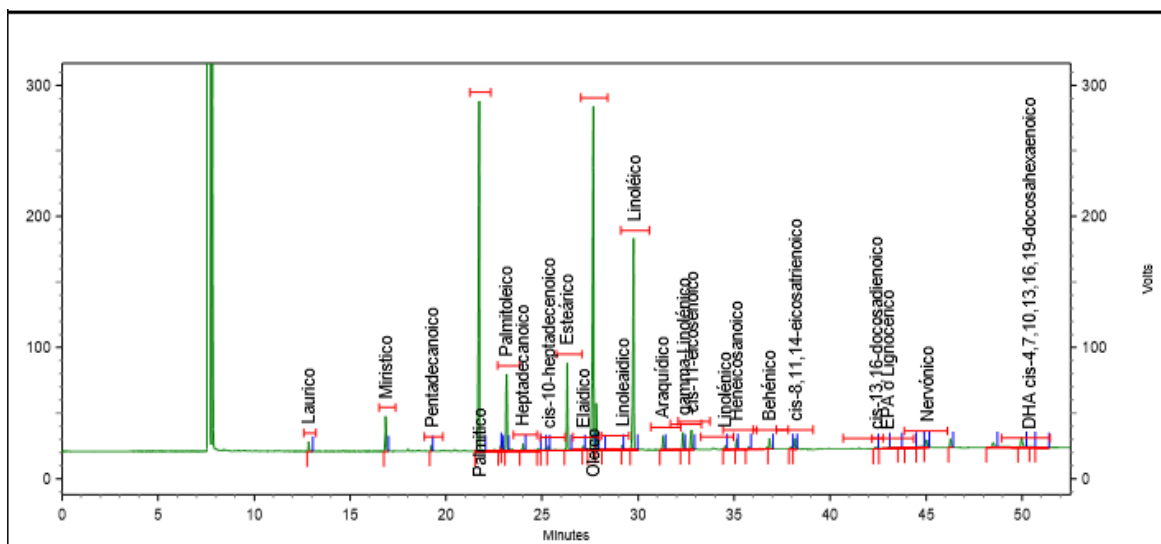


Figura 7. Cromatograma obtenido del análisis de la Tilapia Roja

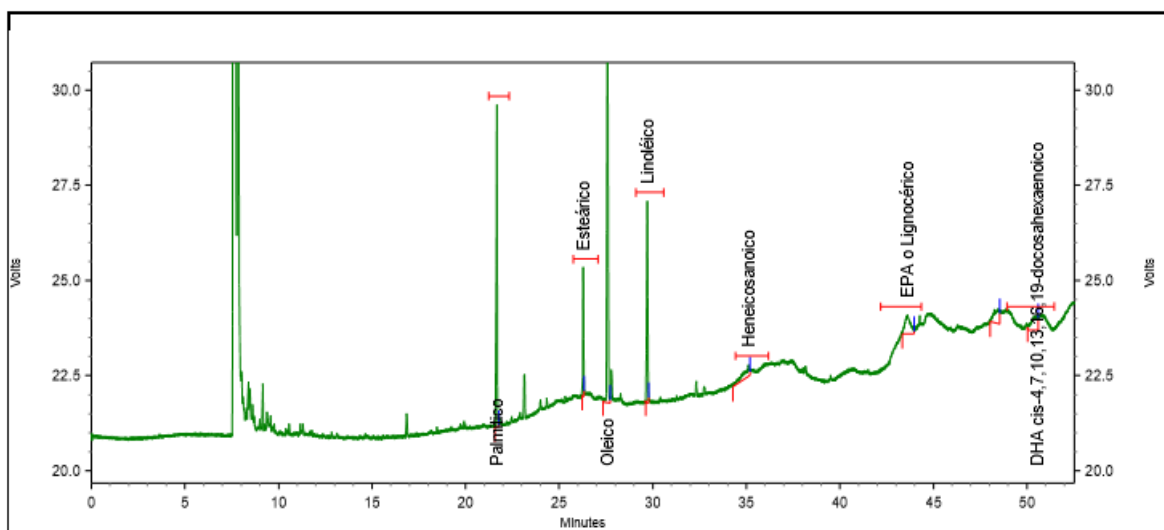


Figura 7. Cromatograma obtenido del análisis de la Carpa

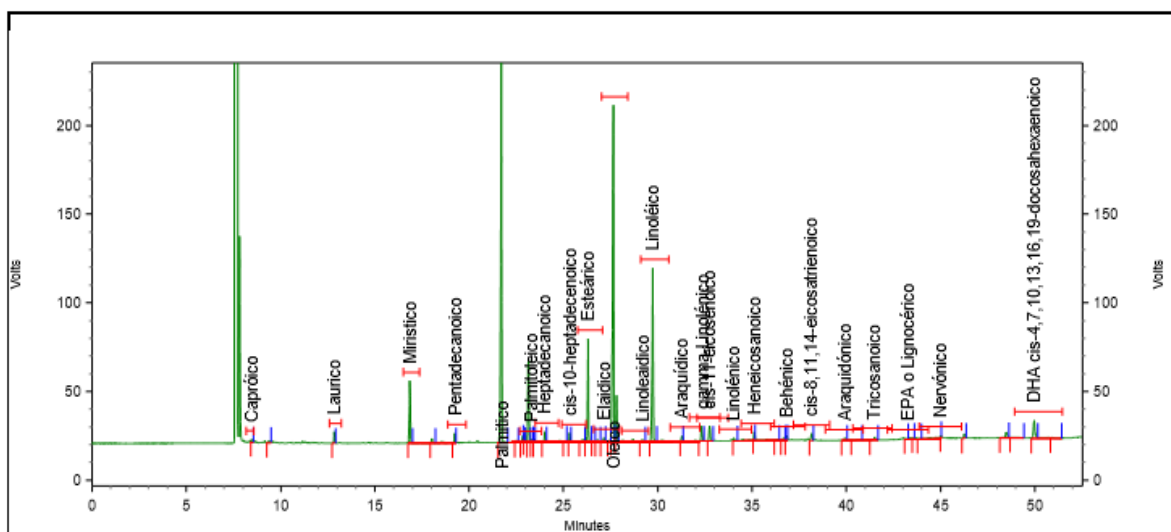


Figura 8. Cromatograma obtenido del análisis de la Jandia

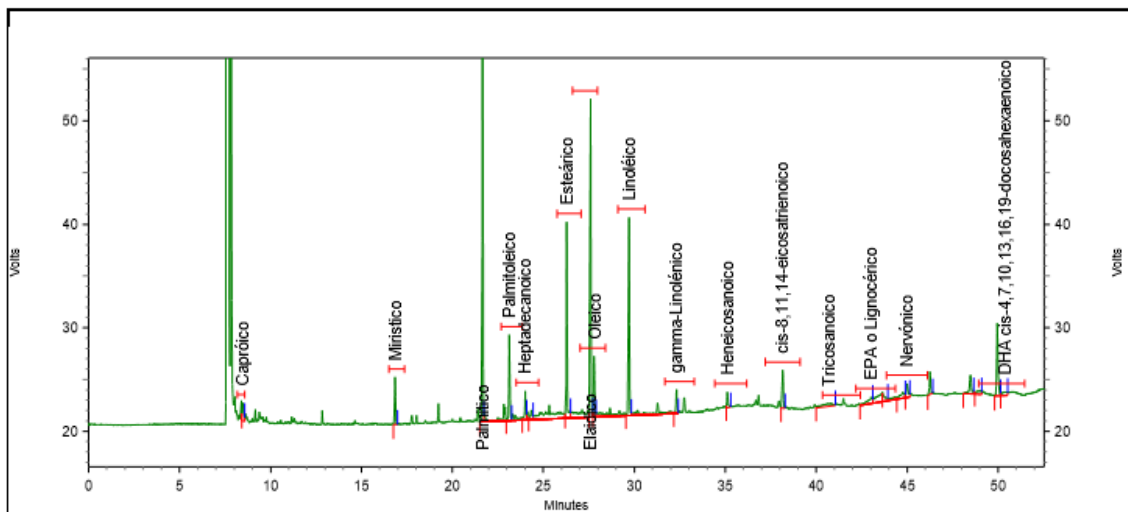


Figura 9. Cromatograma obtenido del análisis del Guachinche del Puyo

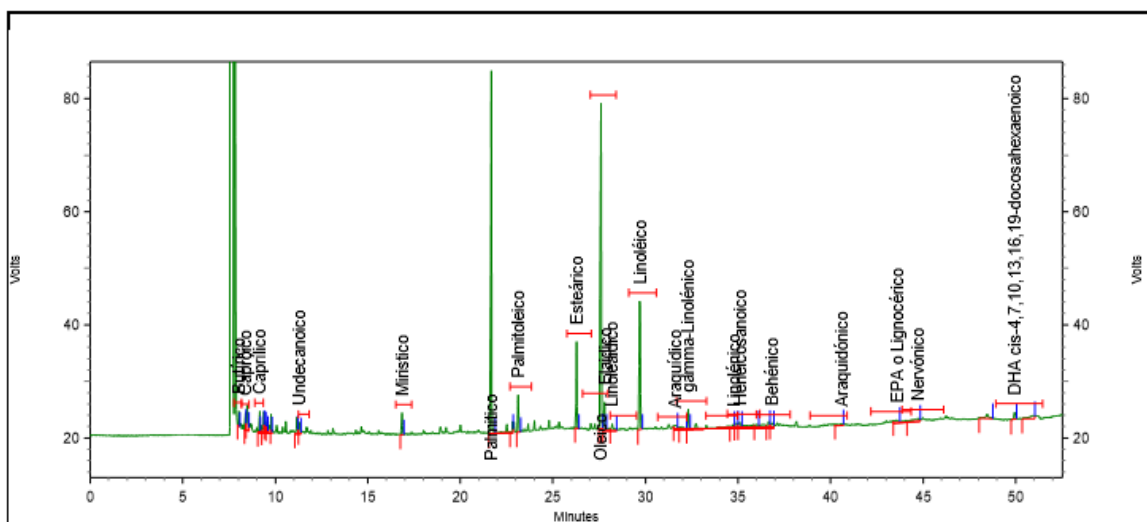


Figura 10. Cromatograma obtenido del análisis del Dica

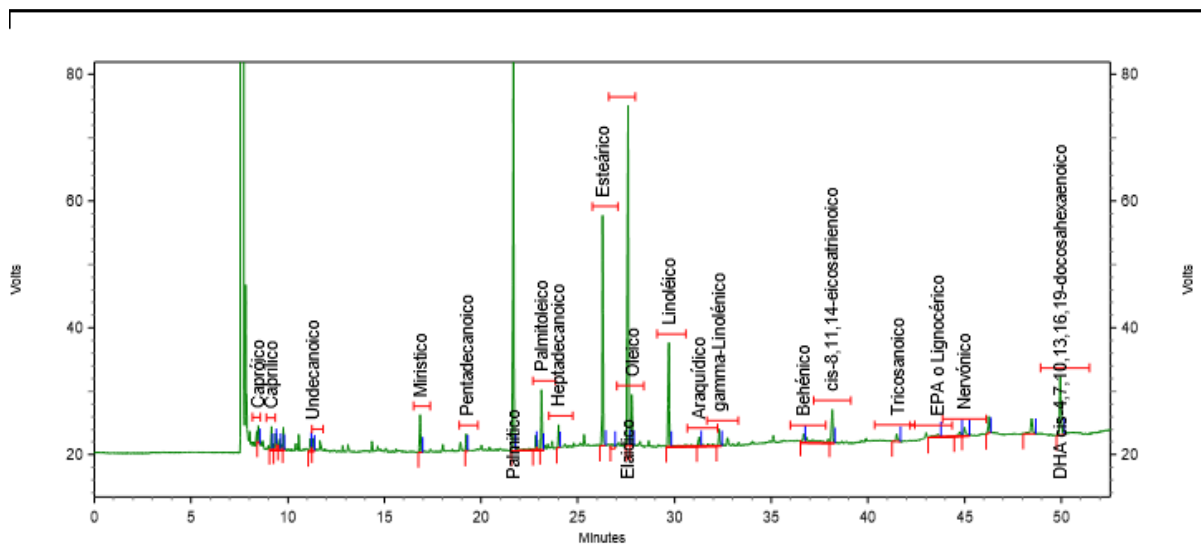


Figura 11. Cromatograma obtenido del análisis del Guachinche de río de Babahoyo

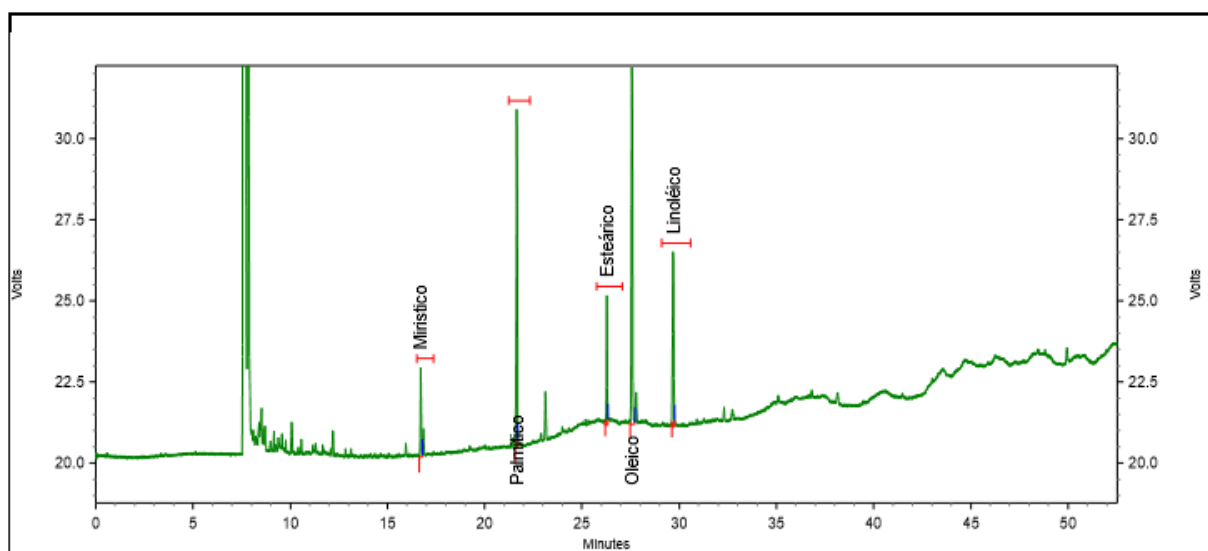


Figura 12. Cromatograma obtenido del análisis de la Cachama

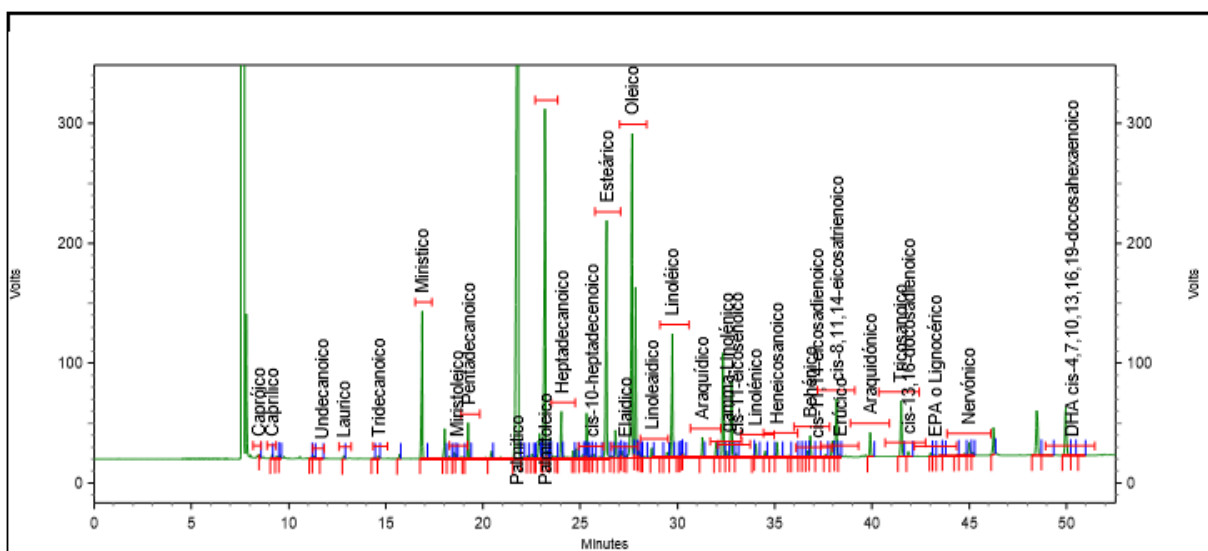


Figura 13. Cromatograma obtenido del análisis del Guachinche de criadero de Babahoyo

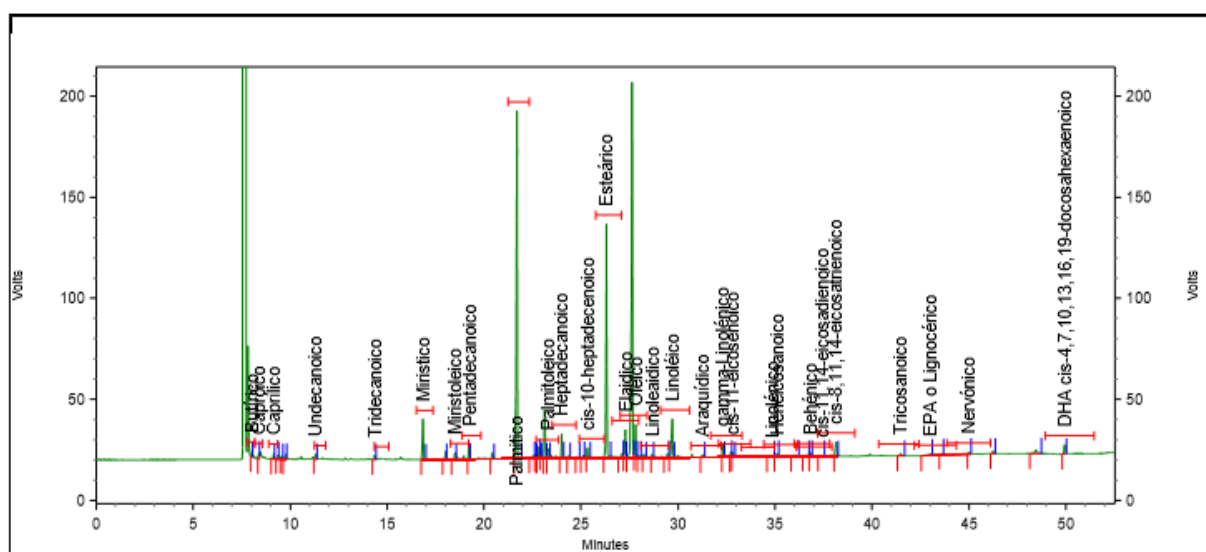


Figura 14. Cromatograma obtenido del análisis del Chame

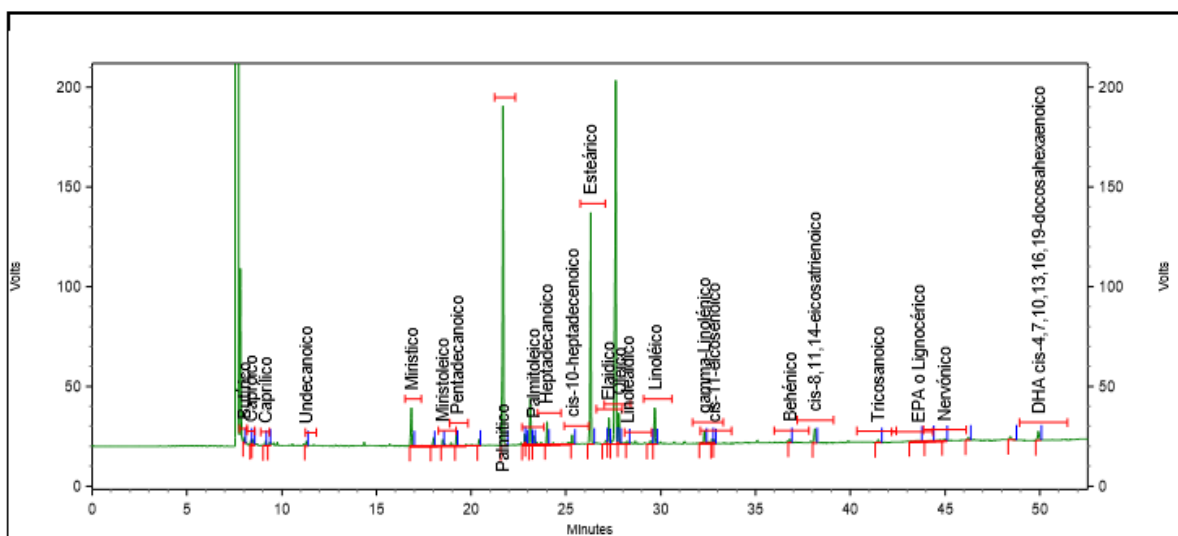


Figura 15. Cromatograma obtenido del análisis de la Dama

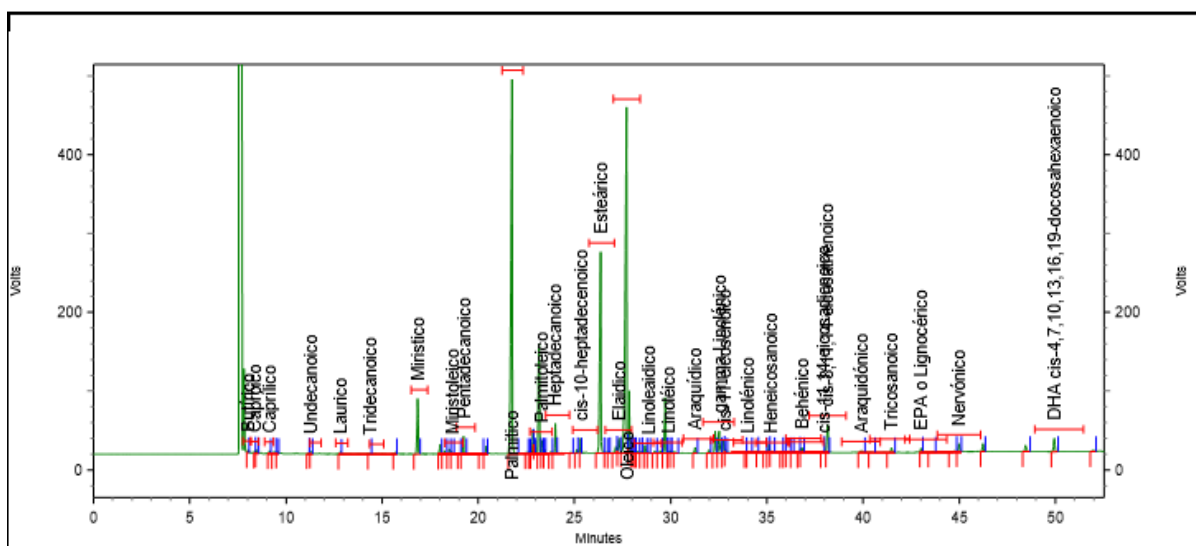


Figura 16. Cromatograma obtenido del análisis del ratón

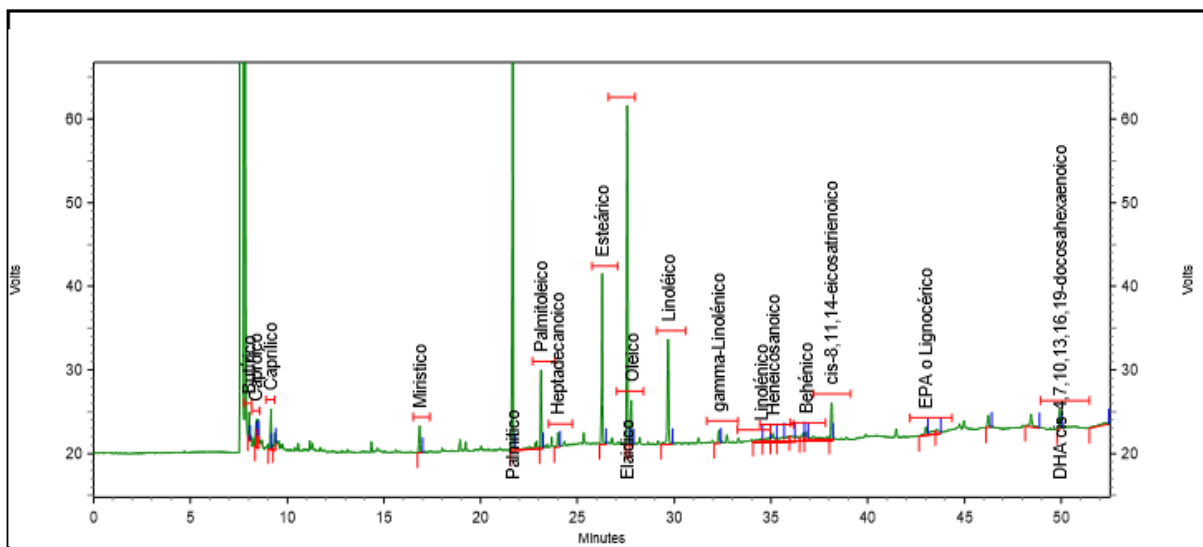


Figura 17. Cromatograma obtenido del análisis de la Guadina

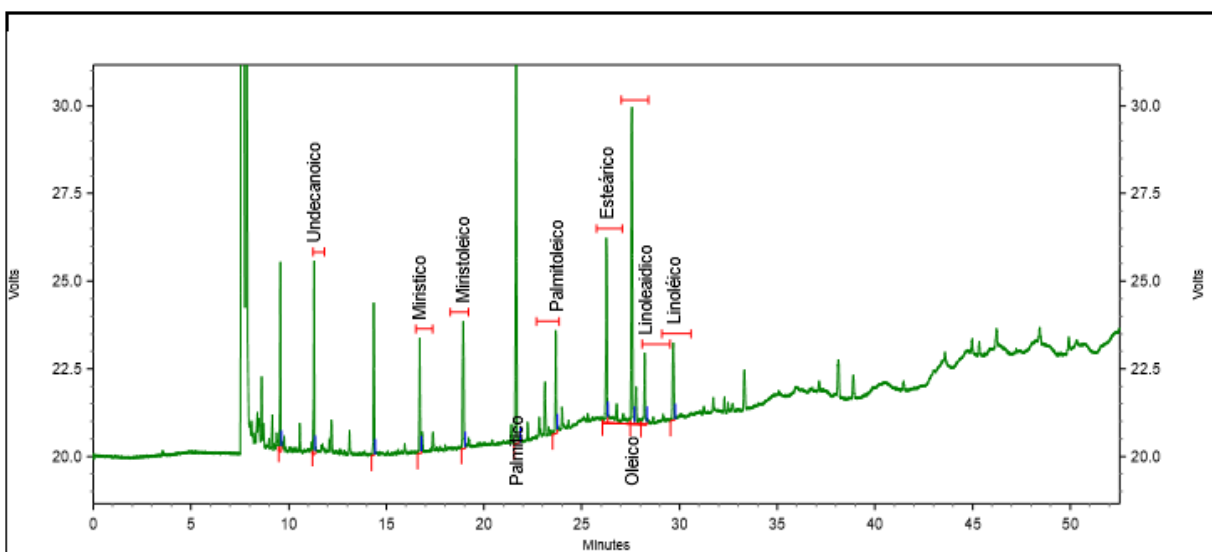


Figura 18. Cromatograma obtenido del análisis del Chalaco

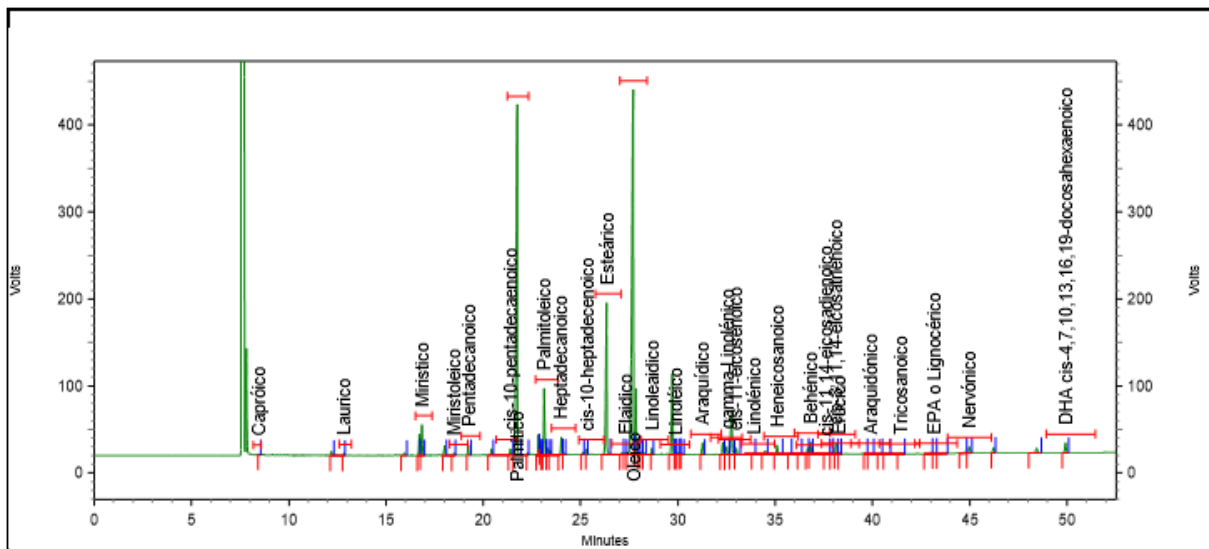


Figura 19. Cromatograma obtenido del análisis del Bagre

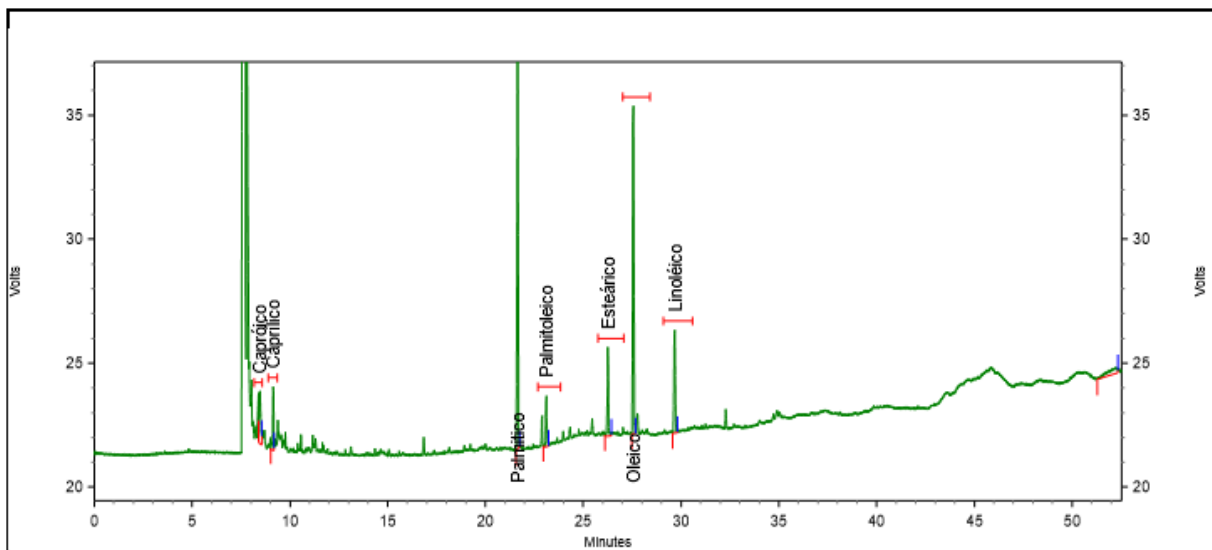


Figura 20. Cromatograma obtenido del análisis de la Tilapia de río de Babahoyo

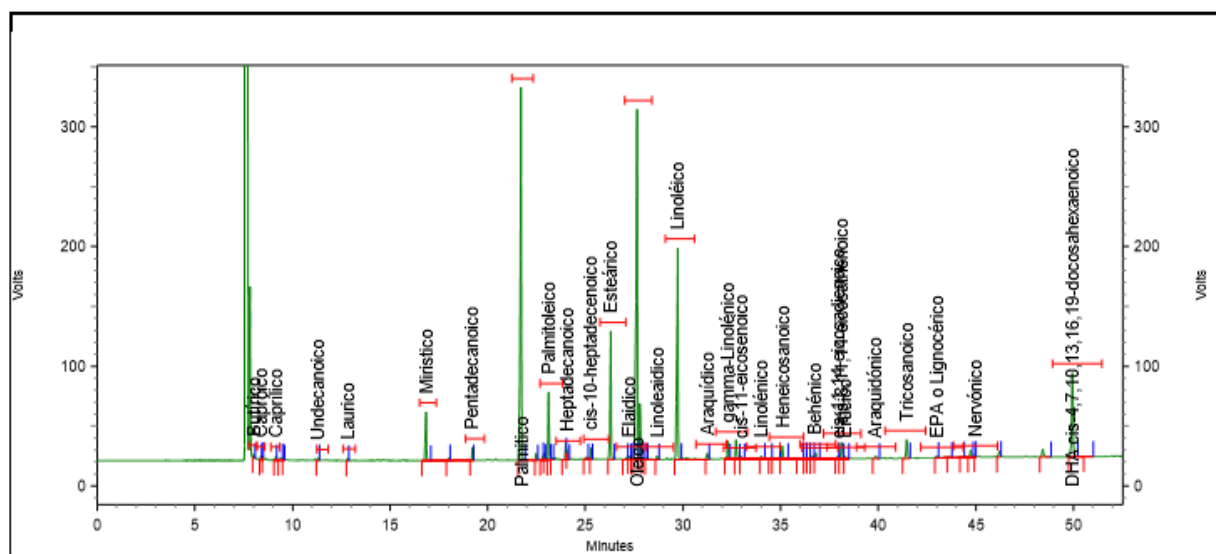


Figura 21. Cromatograma obtenido del análisis de la Trucha

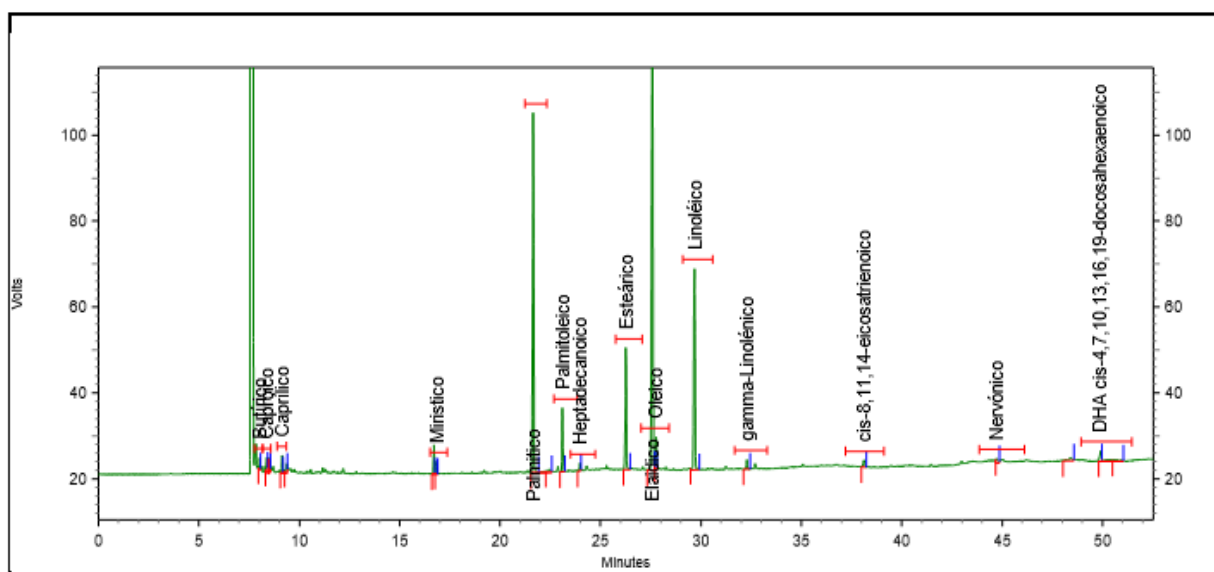


Figura 22. Cromatograma obtenido del análisis de la Corvina

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Kevin Eduardo Vargas Piedra, con CC. 0503056921, autor del trabajo de graduación titulado: “Determinación del perfil de ácidos grasos en pescados de agua dulce comercializados en Ecuador”, previa la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 20 de noviembre del 2017

f) Kevin Eduardo Vargas Piedra

CC # 0503056921