

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DEL HÍGADO DE POTA O CALAMAR GIGANTE (*DOSIDICUS GIGAS*)

OBTENTION AND CHARACTERIZATION OF THE GIANT SQUID'S (*DOSIDICUS GIGAS*) LIVER OIL

Miguel Albrecht-Ruiz¹, Guido Baltuano², Miguel Gallo Seminario¹

¹Dirección de Investigación y Desarrollo Tecnológico. ² Dirección de Desarrollo Industrial. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Carretera a Ventanilla Km. 5,200 Callao. malbrecht@itp.org.pe

RESUMEN

ALBRECHT M, BALTUANO G, GALLO M. 2008. *Obtención y caracterización del aceite del hígado de pota o calamar gigante (Dosidicus gigas)*. Bol. Invest. Inst. tecnol. pesq. Perú. 8: 1-7.- En la búsqueda de nuevas fuentes alternativas de aceite con alto contenido de ácidos grasos ω -3, y con el interés de lograr un mejor aprovechamiento del calamar gigante o pota, se realizó el trabajo experimental dirigido a evaluar los métodos de extracción y caracterización del aceite contenido en el hígado de este cefalópodo. El diseño experimental incluyó la determinación de la relación del peso del hígado con respecto al peso total del cuerpo, análisis proximal estacional, contenido de metales pesados y la evaluación de métodos de extracción de aceite utilizando enzimas comerciales, para proceder luego con su caracterización y tratamientos posteriores. El hígado representó entre 1,8% y 7,3% del peso total de la pota, observándose una relación inversa entre el peso del hígado y el peso total de los especímenes ($r = 0,776$ y $\alpha = 0,01\%$). El valor máximo de grasa fue de 45%, observándose una gran variación del contenido graso, en función a los meses de captura, junto a una elevada concentración de Cadmio. El uso de enzimas no produjo mejoras en la extracción de los aceites del hígado de pota, al compararse con los datos de las muestras testigo. El aceite extraído presentó aproximadamente 42% de ácidos grasos ω -3, ricos en compuestos carotenoides, presentando valores próximos a 17 escala de color Gardner, 5% material insaponificable, 3,5% de colesterol y 5% acidez expresado como ácido oleico.

PALABRAS CLAVE: *Dosidicus gigas*, cefalópodos, hígado, aceite ω -3, enzimas para separación de aceite, metales pesados en hígado.

ABSTRACT

ALBRECHT M, BALTUANO G, GALLO M. 2008. *Obtention and characterization of giant squid's (Dosidicus gigas) liver oil*. Bol. Invest. Inst. tecnol. pesq. Perú. 8: 1-7.- In the search for new alternative sources of oil with high content of ω -3 fatty acids and with the interest of achieving a better use of the giant squid or pota, an experimental work - focused on evaluating the extraction methods and characterization of the oil content from the liver of this cephalopod - was conducted. The experimental work was designed to determine the relative weight of the liver with respect to the total weight of the body, monthly proximate analysis, heavy metals content and evaluation of methods for oil extraction by using commercial enzymes, to proceed with oil characterization and treatment. The liver weight represented from 1.8% to 7.3% of the total body weight, observing an inverse relationship between liver weight and the total weight of the specimens ($r = 0.776$ and $\alpha = 0.01\%$). Likewise, the maximum value of fat was 45%, with a wide variation of fat, according to the months of capture, along with a high concentration of cadmium. The use of enzymes produced no improvement in the extraction of oil from giant squid's liver. The extracted oil showed approximately 42% of ω -3 fatty acids, rich in carotenoids compounds, with values close to 17 Gardner color value, 5% unsaponifiable material, 3.5% cholesterol and 5% acidity expressed as oleic acid.

Keywords: *Dosidicus gigas*, cephalopods, liver, oil ω -3, enzymes for oil extraction, heavy metals in liver.

INTRODUCCIÓN

Estudios iniciales sobre el hígado de los cefalópodos lo refieren como un órgano de gran actividad metabólica, que contiene una gran cantidad de enzimas relacionadas a este proceso, incluyendo proteasas y lipasas, además de servir como a almacén de grasas (ALBRECHT 1923). El hígado por ser un órgano encargado de eliminar sustancias tóxicas, presenta una elevada concentración de metabolitos tóxicos y de metales pesados, que lo hace poco apropiado para su consumo en forma directa.

La gran actividad proteolítica y lipolítica en el hígado de cefalópodos (HATATE et al. 2000) ligada a la acumulación de elementos tóxicos (BUSTAMANTE et al. 2002; CRAIG 2003; KANGSEN et al. 2006) deviene en la recomendación de eliminar rápidamente las vísceras, luego de su captura, para evitar la licuefacción del hígado y la posterior contaminación del manto con este fluido (OKUZUMI 2000).

La especie *Dosidicus gigas*, conocida como calamar gigante, jibia o pota, es un cefalópodo que se encuentra distribuido en el océano Pacífico oriental, desde California (37°N) hasta el sur de Chile (47°S) frente a las costas de Norte y Sudamérica (125°W), situándose las mayores concentraciones en el golfo de California en Norteamérica y en el norte de Perú en Sudamérica (TAIPE et al. 2001).

La gran actividad metabólica de esta especie le permite alcanzar gran tamaño en periodos cortos. La captura de pota constituye una de las pesquerías más importantes en el Pacífico oriental y en Perú alcanza las 430 mil toneladas anuales (Anuario Estadístico 2005). Existe muy poca información sobre las vísceras de la pota, que representan un 15% del peso total, y en especial el hígado que posee un alto contenido de grasa.

Los aceites provenientes de vísceras de cefalópodos son fuente de ácidos grasos ω -3; por ejemplo, del calamar del Atlántico sur *Illex argentinus*, estos aceites se extraen por métodos físicos y enzimáticos, y son luego estabilizados con antioxidantes naturales.

Muchas zonas marinas al norte de Perú han sido declaradas como de alta contaminación, debido

a la cantidad de residuos de la pota arrojados al mar, principalmente sus vísceras, pues se comercializa el músculo. Por este motivo, es necesario suministrar el conocimiento básico que permita aprovechar integralmente este recurso.

Es objetivo del presente trabajo establecer un procedimiento para extraer aceite del hígado de la pota, utilizando proteasas comerciales (BIMBO 1990), para luego proceder con su caracterización, previo estudio del hígado entero, en lo que concierne a composición proximal y contenido de metales pesados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materia prima

Se trabajó con materia prima muy fresca, entre febrero y octubre 2006. La pota entera recién capturada en la zona de Paita (5°10'S) fue congelada y luego llevada a la planta piloto del ITP para su estudio. Para este efecto, el hígado fue extraído y pesado y una muestra representativa fue sometida en cada oportunidad a análisis para determinar su composición proximal (FAO 1986) y su contenido de Plomo, Cadmio y Cobre (BOE 1991). Los hígados extraídos fueron inmediatamente congelados hasta su ulterior procesamiento.

Extracción del aceite

Se procedió a la extracción de aceite a partir de los hígados de la pota que presentaron el mayor contenido graso, utilizando diferentes tratamientos con enzimas proteolíticas. Para esto, para cada tratamiento se picó con un cuchillo, lo más finamente posible, un peso de 500 g de hígado congelado. Se colocó en un beaker, al que se le agregó 500 mL de agua destilada y enzimas proteolíticas, en una concentración de 0,1% con respecto al volumen total. La enzimas (Merck) utilizadas fueron: pancreatina con actividad proteasa / lipasa / amilasa, bromelina (EC 3.4.22.32) y papaína (EC 3.4.22.2) y una muestra testigo. Las mezclas fueron incubadas en agitación constante a 35 °C durante 40 minutos; luego se inactivaron las proteasas en baño María a 80 °C por 10 minutos para finalmente obtener el aceite crudo centrifugando a 1500 g por 10 minutos (BIMBO 1990, PACHECO 1994).

Caracterización

En los aceites extraídos, se procedió a determinar: los niveles de colesterol (KOVACS et al. 1979), material insaponificable (AOAC, 933.08), ácidos grasos libres (FFA) (AOAC 940.28), perfil de ácidos grasos (NTP 209.011; PREVOT y MORDRET 1976), humedad y materias volátiles (NTP 209.004), valor peróxido (AOAC 965.33) e índice de anisidina (NTP 209.217). Los niveles de cobre, plomo y cadmio (BOE, 1991) fueron determinados a partir de sus respectivas cenizas. El análisis de metales pesados fue después extendido a los aceites extraídos. Los aceites fueron también tratados con tierra de diatomeas (Tonsil Supreme 161) a concentraciones de 2% y 5% por 30 minutos, con la finalidad de determinar si se producía mejoramiento en el color del aceite crudo de hígado de pota.

Estadística

Para determinar la relación entre peso del hígado y el peso total de la pota se aplicó la correlación del coeficiente de PEARSON. Los tratamientos de extracción de aceite fueron realizados por triplicado, y se compararon los resultados mediante un análisis de varianza con el Test de DUNCAN utilizando el programa SPSS Versión 12 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje del peso del hígado respecto al peso total.- Se observó una relación inversa entre el peso del hígado y el peso total de los especímenes, con un coeficiente de correlación de PEARSON de $r = 0,776$ y con una significancia de 0,01%. La proporción del peso del hígado respecto al peso total de la pota no fue significativamente diferente durante el transcurso de los meses de año, no obstante indicar que tal información no fue contrastada con los periodos de desove (Figura 1).

Variación en la composición proximal estacional del hígado.- La Tabla 1 muestra los valores de la composición química proximal de los hígados de la pota en varios meses del año 2006. Los mayores valores de grasa se observaron en julio y agosto, tiempo en que según TAÍPE et al. (2001) se inicia el periodo de desove de esta especie, que se prolonga hasta enero. Por tanto,

puede asegurarse que el contenido graso del hígado de pota guarda estrecha relación con los periodos de desove de esta especie, cuyo nivel más bajo, sin embargo, alcanza niveles de aproximadamente 15% de grasa en el hígado.

Los datos confirman la conocida relación inversa entre humedad y grasa, con tendencia a observar la misma relación entre la grasa y la proteína, cuyo valor fue de 8,4 % cuando el contenido graso fue prácticamente 45%. La acumulación de reservas grasas en los periodos predesove ya ha sido registrada en *Illex argentinus* (DE MORENO et al. 1998).

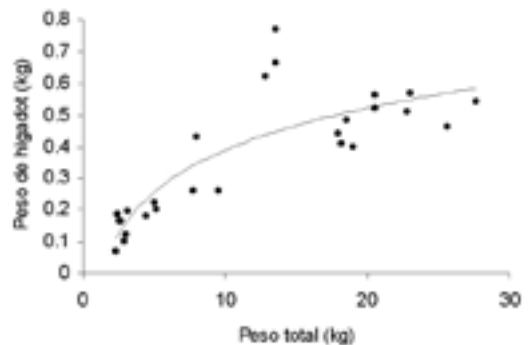


Figura 1.- Relación entre el peso del hígado versus el peso total en la pota (*Dosidicus gigas*).

Tabla 1.- Composición proximal del hígado de pota. Año 2006.

Mes	Humedad	Grasas	Cenizas	Proteínas
Febrero	60,1	19,6	1,4	17,3
Abril	65,2	21,4	1,6	12,1
Mayo	54,5	24,1	1,6	18,2
Julio	41,6	45,9	1,2	11,3
Agosto	44,9	45,3	1,4	8,4
Septiembre	50,8	34,8	1,5	12,9
Octubre	66,8	14,8	1,8	16,6

Contenido de metales pesados en el hígado

En el hígado de los cefalópodos se ha registrado una alta concentración de metales, la misma que resulta de la alta variabilidad entre diferentes especies, e incluso individuos de una misma especie (MARTIN y FLEGAL 1975). Se ha sugerido que el hígado sería un órgano que almacena metales para requerimientos fisiológico-metabólicos (Cu) o para procesos de

detoxificación mediante metalotioneínas (Cd, Pb) (BUSTAMANTE et al. 2002, CRAIG y OVERNELL 2003).

En nuestros experimentos, los datos confirman la alta variabilidad en el contenido de metales encontrados en el hígado de la pota. Se ha registrado niveles de cadmio desde 291 a 1154 ppm; los tenores de plomo estuvieron entre 0,5 y 1,1 ppm y el cobre entre 141 y 462 ppm. Es remarcable la gran variación que registra el contenido de cadmio, confirmando, por otro lado, el eficiente mecanismo de detoxificación que tiene este molusco en relación a este metal (BUSTAMANTE et al. 2002).

Extracción de aceites

Se utilizó el procedimiento de centrifugación y tratamientos enzimáticos, sobre aquellos hígados que presentaron mayor contenido de grasa cruda (BIMBO 1990), es decir los capturados en julio y agosto (Tabla 1).

La eficiencia en la extracción del aceite, de acuerdo a la enzima utilizada fue: (a) con la pancreatina, de $50,6 \pm 3,8\%$; (b) con la papaína, $41,7 \pm 3,4\%$; (c) con la bromelina, $42,2 \pm 1,9\%$ y (d) con la muestra testigo, de $57,6 \pm 3,9\%$.

Los resultados indican, por tanto, que el uso de enzimas, en comparación con el testigo, no produjo mejoras en la extracción del aceite de hígado de pota; y, por el contrario, disminuyó su capacidad de separación de la fase acuosa.

Estos resultados discrepan con los de DUMAY et al. (2004) quienes informaron que el uso de proteasas contribuyó a mejorar los procesos de extracción de aceite en subproductos pesqueros.

Coincidiendo con CÁRDENAS-LÓPEZ et al. (2005), cabe añadir que el proceso de autólisis visto en el hígado de la pota es muy dinámico, tanto que a temperatura ambiente se produce una hidrólisis total de este órgano.

La menor eficiencia en la extracción de aceite cuando se utilizaron enzimas comerciales, puede ser explicada porque existe la posibilidad que los péptidos formados en el proceso hidrolítico podrían, de alguna manera, interferir en la separación y la calidad de los aceites obtenidos.

Cabe comentar que estos métodos de extracción no resultaron eficientes cuando los nive-

les de grasa cruda en el hígado se encontraron por debajo de 35%. Se realizaron 2 pruebas de extracción con hígados que contenían 24,1% y 34,8% de grasa respectivamente, en ninguno de los casos hubo una buena separación de la fase lipídica, quedando ésta como una emulsión después del proceso de centrifugación.

Caracterización de los aceites extraídos

En las Tablas 2 y 3, se aprecia que el contenido de colesterol y de lípidos insaponificables en los aceites extraídos fue de aproximadamente 3,5% y 5,2% respectivamente, no habiéndose registrado diferencias significativas entre los tratamientos, durante los diferentes procesos de extracción. El color de los aceites fue rojo-naranja translúcido, debido probablemente al gran contenido de carotenoides, entre ellos la vitamina A y astaxeno (BRACHI 1952, FISHER et al. 1956) con valores de 17 en la escala de color Gardner (Figura 2).



Figura 2.- Obtención de aceite de hígado de pota (*Dosi-dicus gigas*) luego de la centrifugación de las muestras tratadas.

La acidez de los aceites extraídos, expresada como ácido oleico, estuvo alrededor de 5%. Puede argumentarse que la actividad lipolítica no fue afectada por las enzimas agregadas y que, por tanto, ésta fue aparentemente de la misma intensidad en todos los tratamientos.

En relación al grado de oxidación presentado en los aceites, es preciso establecer que, mientras que los valores del índice de anisidina, que cuantifican los productos secundarios de un proceso de oxidación, alcanzaron valores sin di-

Tabla 2: Caracterización de los aceites crudos extraídos del hígado de pota (*Dosidicus gigas*) en los distintos tratamientos.

Tratamientos	Pancreatina (0,1%)	Papaína (0,1%)	Bromelina (0,1%)	Blanco
Colesterol (mg%)	3659 ± 73	3516 ± 53	3276 ± 107	3385 ± 279
Insaponificables (%)	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,4	5,3 ± 0,2	4,7 ± 0,2
Color (Gardner)	17,3 ± 0,6	17,3 ± 0,6	17,3 ± 0,6	17 ± 0
Acidez (% oleico)	4,5 ± 0,3	5,3 ± 1,4	5,7 ± 1,1	5,5 ± 0,4
Valor de Anisidina	21,1 ± 1,3	18,3 ± 4,3	18,9 ± 3,0	18,0 ± 1,7
POV(mEq/Kg grasa)	5,8 ± 1,4	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,3	2,5 ± 0,7 *

* Presentó diferencias significativas respecto a los demás tratamientos.

Tabla 3: Composición de ácidos grasos de los aceites extraídos del hígado de pota (*Dosidicus gigas*).

	Pancreatina	Papaina	Bromelina	Blanco
14:0	5,32 ± 0,11	4,57 ± 1,13	5,73 ± 1,12	4,61 ± 1,10
16:0	16,02 ± 0,14	15,41 ± 0,91	16,01 ± 0,85	15,71 ± 0,08
16:1	5,79 ± 0,65	4,96 ± 0,09	6,13 ± 0,02	5,01 ± 0,04
18:0	3,20 ± 0,22	3,39 ± 0,14	2,95 ± 0,95	3,34 ± 0,12
18:1 w9	6,15 ± 0,02	6,12 ± 0,05	5,95 ± 0,05	6,14 ± 0,06
18:1 w7	3,69 ± 0,06	3,27 ± 0,03	3,69 ± 0,01	3,30 ± 0,05
18:2 w6	0,58 ± 0,11	0,58 ± 0,22	0,57 ± 0,06	0,57 ± 0,11
18:3 w6	0,18 ± 0,02	0,27 ± 0,04	0,32 ± 0,02	0,27 ± 0,01
18:3 w3	0,56 ± 0,05	0,58 ± 0,02	0,57 ± 0,06	0,56 ± 0,01
18:4 w3	1,16 ± 0,05	1,13 ± 0,08	1,29 ± 0,01	1,15 ± 0,01
20:1 w9	4,17 ± 0,19	4,06 ± 0,10	3,39 ± 0,01	4,21 ± 0,07
20:3 w3	2,14 ± 0,15	2,40 ± 0,02	2,15 ± 0,04	2,34 ± 0,03
20:5 w3	17,56 ± 0,44	16,15 ± 0,99	17,39 ± 1,13	16,28 ± 1,17
22:5 w3	1,25 ± 0,01	1,27 ± 0,03	1,21 ± 0,01	1,22 ± 0,01
22:6 w3	18,95 ± 1,61	20,85 ± 0,95	19,15 ± 1,09	22,51 ± 1,1

ferencias significativas entre 18 y 21, en todos los tratamientos, el valor peróxido en la muestras testigo fue significativamente menor respecto a los tratamientos que utilizaron enzimas.

Los valores obtenidos en la caracterización de estos aceites son comparables a los registrados para aceites crudos de pescado (BIMBO 1990, CASTILLO 1996), aunque menores valores de acidez y POV han sido reportados para aceites crudos de hígado del tiburón (*Prionace glauca*) sometido a cocimiento a 75 °C (PACHECO 1994). El hecho aparente de haber congelado los hígados hasta su extracción pudo haber fomentado el inicio del proceso de oxidación, durante el almacenamiento de las muestras, lo que coincidiría con los observado por GROMPONE et al. (2004) en hígado de la merluza *Merluccius*

hubbsi, de allí que sea frecuente la recomendación de extraer los aceites del hígado de estas especies lo antes posible.

De manera general, el perfil de ácidos grasos de los aceites obtenidos bajo los diferentes tratamientos, no presentaron variaciones notables respecto al control o testigo. El espectro de ácidos grasos encontrados, muestra un patrón similar al de otros cefalópodos (DE MORENO et al. 1998; ROSA et al. 2005), incluyendo el hecho que los porcentajes de DHA (C_{22:6}) fueron mayores que los de EPA (C_{20:5}). Por otra parte, la sumatoria de los ácidos grasos ω-3 (altamente polinsaturados) está alrededor de 42%, pudiendo esta cualidad determinar una mayor susceptibilidad a la oxidación de esta muestra que la observada, por ejemplo, en los

aceites provenientes de *Prionace glauca* o *Merluccius hubbsi*^{16,28} cuyos valores de ácidos grasos ω -3 no fueron mayores al 30%.

Dada la alta concentración de metales pesados, detectados en el hígado de la pota, se hizo necesario determinar el contenido remanente de estos metales en los aceites extraídos. El contenido de plomo estuvo por debajo de 0,2 ppm y de cobre por debajo de 0,5 ppm en todos los tratamientos. Respecto al cadmio, los niveles estuvieron alrededor de 2,0 ppm en los tratamientos con enzimas y por debajo de 0,7 ppm en las muestras testigo, lo que podría indicarnos que las proteasas actuaron sobre las metalotioneínas logrando desligar parte de este metal y transferirlo al aceite.

La adición de enzimas proteolíticas para contribuir con la ruptura de tejidos y membranas celulares para una mejor extracción de lípidos (DUMAY et al. 2004), no tuvo el efecto esperado en las muestras de hígado. Según nuestros resultados, bastaría solo con esperar la ocurrencia del proceso de autólisis al ambiente, durante un tiempo discreto, para obtener un aceite crudo.

Finalmente, con el propósito de mejorar el color del aceite crudo de hígado de pota, éste fue sometido a un tratamiento con tierra de diatomeas (Tonsil Supreme 161) a concentraciones de 2% y 5% (Figura 3B y 3C, respectivamente) por 30 minutos antes de proceder con su filtrado. Se puede observar que el tratamiento con 5% (Tratamiento C) fue más efectivo en el proceso de blanqueado, obteniéndose un color amarillo muy tenue (4 en escala Gardner). El calentamiento del aceite a 180 °C también produjo una decoloración, por la destrucción térmica de los carotenoides presentes (Tratamiento D). Sin embargo, este proceso no sería recomendable por el abuso de temperatura que impactaría sobre la calidad del aceite, fomentando su oxidación. Dependiendo del uso al que se quisiera dirigir el aceite extraído, queda a consideración del usuario el proceder con el proceso de blanqueado, debiendo tener en claro que los carotenoides, presentes en el aceite crudo, poseen importantes propiedades antioxidantes y nutritivas.

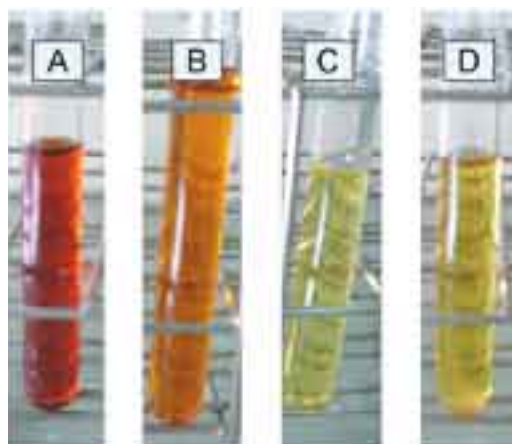


Figura 3.- Procesos de blanqueamiento del aceite crudo de hígado de pota: A crudo; B y C blanqueado con tierra de diatomeas Tonsil Supreme 161 al 2% y 5% respectivamente; D calentado a 180 °C por 30 minutos.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa ILLARI S.A., especialmente a JEAN y JOSÉ PENA, quienes brindaron su apoyo para la obtención de muestras.

REFERENCIAS

1. Albrecht PG. Chemical study of several marine mollusks of the Pacific coast. The Liver. J. Biol. Chem. 1923; vol LVII (3): 789-94
2. Anuario Estadístico 2005. Ministerio de la Producción. Oficina General de Tecnología de la Información y Estadística. Junio, 2006. Lima, Perú. 227 p.
3. AOAC 940.28. Fatty acid (free) in crude and refined oils. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 1990: 957
4. AOAC 965.33. Peroxide value of oils and fats. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 1990: 956
5. AOAC 933.08. Residue (unsaponifiable) of oil and fats. Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 1990: 971-2
6. Bimbo A. Production of Fish Oil (Chapter 6). Fish Oils in Nutrition. Edited Maurice Stansby. Northwest Fisheries Center National Marine Fisheries Service Seattle, Washington 1990: 141-180
7. Boletín Oficial Español N° 195, Anexo 1. Métodos de Análisis de metales pesados. BOE 1991: 5938-40.
8. Brachi RM. Examination of some components of cephalopod and sperm-whale liver oils by chromatographic method. Biochem. 1953; 54: 459-65
9. Bustamante P, Cosson R, Gallien I, Caurant F, Mi-

- ramand P. Cadmium detoxification process in the digestive gland of cephalopods in relation to accumulate cadmium concentrations. *Mar. Env. Res.* 2002; 53: 227-241
10. Cardenas-Lopez J, Norman F. Cysteine proteinase activity in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) hepatopancreas extracts. *J. Food Biochem.* 2005; 29 (2) :171-86.
 11. Castillo L. Evaluación de la oxidación del aceite semirrefinado de pescado utilizando antioxidantes químicos y naturales. Tesis de investigación para optar el título de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Agraria La Molina. Lima, Perú pp: 123; 1996
 12. Craig S, Overnell J. Metals in squid, *Loligo forbesi*, adults, eggs and hatchlings. No evidence for a role for Cu- or Zn- metallothionein. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 2003; 134: 311-317
 13. Dumay J., Barthomeuf C., Berge J-P. 2004. How enzymes may be helpful for upgrading fish by-products: Enhancement of fat extraction. *J. Aq. Food Pro. Tech.* 13 (2): 69 – 84.
 14. FAO Food and Nutrition Paper. Manuals of food quality control. 7. Food analysis: general techniques, additives, contaminants and composition. T14 / 7; 1986. p. 238.
 15. Fisher L, Kon S, Thompson S. Vitamin A and carotenoids in certain invertebrates. V. Mollusca: cephalopoda. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 1956; 35: 63-80
 16. Grompone M, Pagano M, Pinchak Y, Harispe R. Deterioro del aceite durante el almacenamiento de los hígados de merluza en comparación con el del aceite extraído de ellos. *Grasas y Aceites* 2004; 55 (3): 291-5
 17. Hatate H, Tanaka R, Suzuki N, Hama Y. Comparison of protease activity in liver among several species of squid and cuttlefish. *Fish. Sci.* 2000; 66: 182-3
 18. de Moreno JEA, Moreno V, Ricci L, Gerpe M. Variations in the biochemical composition of the squid *Illex argentinus* from the South Atlantic Ocean. *Comp. Biochem. Physiol.* 1998; 119 Part B: 631-7
 19. Kangsen M, Huitao L, Qinghui A, Qingyuan D, Wei X, Chunxiao Z, Lu Z, Beiping T, Zhiguo L. Effects of dietary squid viscera meal on growth and cadmium accumulation in tissues of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier 1828). *Aq. Res.* 2006; 37 (1): 1063-6
 20. Kovacs M, Anderson W, Ackman R. A simple method for the determination of cholesterol and some plant sterols in fishery-based food products. *J. Food Sci.* 1979; 44: 1299-305
 21. Martin J, Flegal A. High copper concentrations in squid livers in association with elevated levels of silver, cadmium and zinc. *Mar. Biol.* 1975; 30: 51-5
 22. Norma Técnica Peruana, NTP 209.011. Método para determinar la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases. Instituto de investigación tecnológica industrial y de normas técnicas (ITINTEC). Lima, Perú. 1966; p. 5.
 23. Norma Técnica Peruana, NTP 209.004. Método de determinación del contenido de humedad y materias volátiles. Instituto de investigación tecnológica industrial y de normas técnicas (ITINTEC). Lima, Perú. 1968; p. 2.
 24. Norma Técnica Peruana, NTP 209.217. Método de determinación del Índice de Anisidina. Instituto de investigación tecnológica industrial y de normas técnicas (ITINTEC). Lima, Perú. 1983; p. 3.
 25. Okuzumi M, Fujii T. Nutritional and functional properties of squid and cuttlefish. 35th Anniversary Commemorative Publication. National Cooperative Association of Squid Processors 2000; p. 223.
 26. Pacheco M, Barrera-Arellano D. Fraccionamiento del aceite de hígado de tiburón azul (*Prionace glauca*) y su estabilización con antioxidantes. *Grasas y Aceites*, 1994; 45 (3): 155-60.
 27. Prevot AF, Mordret F. Utilisation des colonnes capillaires de verre pour l'analyse des corps gras en chromatographie en phase gazeuse. *Revue Française des Corps Gra* 1976 ; 23 N° 7-8: 409-25
 28. Rosa R, Pereira J, Nunes M. Biochemical composition of cephalopods with different life strategies, with special reference to a giant squid *Architeuthis sp.* *Mar. Biol.* 2005; 146: 739 -51
 29. Taipe A, Yamashiro C, Mariátegui L, Rojas P, Roque C. Distribution and concentrations of Jumbo Flying squid (*Dosidicus gigas*) off the Peruvian coast between 1991-1999. *Fish. Res.* 2001; 54:21-32.