

Composición y estabilidad de los ácidos grasos de la pulpa de cachama y de sardina durante el almacenamiento en congelación

Holger Ortíz y Rafael Bello

Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela

RESUMEN. Se evaluó la composición de los ácidos grasos de los lípidos totales (LT) y de los fosfolípidos (FL) de la pulpa de tres tallas de cachama (*Colossoma macropomum*) y de sardina (*Sardinella anchovia*). Los ácidos grasos insaturados más abundantes en los LT de la cachama fueron el C18:1 (31-38%); C18:2, n-6 (13-15%) y el C20:4, n-6 (3-5%) y en la sardina fueron el C18:1, C20:5, n-3 (12-24%) y el C22:6, n-3 (7-24%), donde el C20:5, n-3 incrementó con el aumento de la talla, mientras que el C22:6, n-3 disminuyó. Mediante un análisis de varianza se encontró que el porcentaje de los ácidos grasos polinsaturados (AGP) de la serie n-6 de los LT y de la pulpa de cachama y los AGP de la serie n-3 de los LT de la sardina fueron afectados por el cambio de la temperatura de almacenamiento de -10°C a -20°C ($p < 0,01$), mientras que el tiempo de almacenamiento tuvo mayor influencia en la estabilidad de los ácidos grasos de la sardina ($p < 0,01$) que en la cachama ($p < 0,05$). La pulpa de sardina presentó los valores más altos de ácidos grasos libres a -10°C a los dos meses (620 mg. %) y la cachama a los 4 meses a -10°C (230 mg%). El número de TBA en la sardina a -10°C incremento de 5,5 mg de malonaldehído (MA)/Kg hasta 23 mg MA/Kg a los 4 meses y en la cachama se mantuvo más o menos constante (2-6 mg MA/Kg) durante los 4 meses a -10°C y -20°C.

SUMMARY. Fatty acids composition and stability in cachama and sardine pulp during storage at freezing temperatures. Free fatty acids from total lipids and phospholipids in minced fish flesh from three sizes of Cachama (*Colossoma macropomum*) and Sardine (*Sardinella anchovia*) were evaluated. Cachama's most abundant insaturated fatty acids from the total lipid fraction were: C18:1 (31-38%); C18:2, n-6 (13-15%); and C20:4, n-6 (3-5%), while in sardine were the follows: C18:1; C20:5 n-3 (12-24%) and C22:6, n-3 (7-24%). C20:5, n-3 increased with the size and C22:6, n-3 decreased. The varianza analysis indicated that porcentaje of polyinsaturated fatty acids of-n-6 serie in the total lipids of cachama and n-3 serie in sardine were affected by the storage temperature from -10C to-20 °C ($p < 0.01$). Storage time had effect on the stability of sardine fatty acids ($p < 0.01$) and cachama ($p < 0.05$). Sardine minced flesh presented the highest value of free fatty acids at -10°C during the second month of storage (620 mg%) while cachama at the fourth month (230 mg%). TBA- value in sardine increased at -10°C from 5.5 to 23 mg of malonaldehyde in fourth months while in cachama these value were almost the same (2-6 mg/kg) during the storage period at -10 °C and -20 °C.

INTRODUCCION

La urgente necesidad de aprovechar los recursos alimentarios de origen pesquero que posee Venezuela, es debido no solo a los requerimientos proteicos de la población; sino también, de los ácidos grasos polinsaturados, como el ácido eicosapentaenoico (C20:5, n-3) y docosaheptaenoico (C22:6, n-3) asociados a la reducción del riesgo de las enfermedades cardiovasculares (1), lo cual hace necesario establecer procesos tecnológicos para el

máximo aprovechamiento de estos recursos e incrementar su estabilidad durante su almacenamiento. El proceso de deshuesado permite utilizar la parte comestible (pulpa) de las especies de pescados que por su apariencia y anatomía como de la cachama o el deterioro físico durante el transporte como de la sardina limitan su aceptación. La cachama es una especie fluvial en la que se han desarrollado con éxito las técnicas de cría en cautiverio y la sardina una especie marina que representa un tercio de la captura total del pescado en Venezuela.

Los principales causantes del deterioro de los alimentos de origen pesquero son los lípidos y particularmente los AGP debido al desarrollo de la rancidez oxidativa. Las reacciones de oxidación catalizadas por enzimas requieren que los AGP se encuentren en forma libre, lo cual ocurre principalmente por hidrólisis enzimática de los FL (2,3). Una vez formado los ácidos grasos libres (AGL), las enzimas oxidantes producen hidroperóxidos, cuyas estructuras formadas a partir de los ácidos grasos C20:5, n-3 y C22:6, n-3 son conocidas (4), la lipoxigenasa actúa con más especificidad sobre los AGP de la serie n-3 que sobre los de la serie n-6 (5). Los AGP de la serie n-6 se encuentran en altas concentraciones en los peces de río (6) y los AGP de la serie n-3 son abundantes en las especies de mar (7). Sin embargo, las concentraciones de los ácidos grasos varían de acuerdo a la época de captura (8), diferentes partes anatómicas del pescado (9) y el lugar de captura (10,11). Mientras más baja sea la temperatura de almacenamiento en congelación hay menor degradación de los AGP de los diferentes tejidos del pescado, a -15°C la oxidación de la piel puede ser 8 veces superior al músculo, pero a -40°C la oxidación puede ser inhibida al mismo orden de magnitud en ambos tejidos (12). Por otra parte, el proceso de deshuesado mecánico transforma el tejido en partículas pequeñas, aumentando la superficie de contacto con el oxígeno, acelerando los procesos de oxidación (13).

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar la composición de los ácidos grasos de los LT y de los FL para diferentes tallas de sardina y de cachama, especies de mar y de río de importancia comercial en Venezuela. Evaluar la estabilidad de los AGP, la formación de AGL y el desarrollo de la rancidez oxidativa, durante el almacenamiento a -10°C y -20°C de la pulpa de cachama y de sardina con diferentes tratamientos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron diferentes lotes de aproximadamente 100 Kg de cachama criadas en cautiverio y procedentes de la Represa El Pao del Estado Cojedes y lotes de 50 kg de sardina adquiridas en el Mercado Mayor de Coche de Caracas. En el laboratorio se seleccionaron los ejemplares de acuerdo a la talla, se eliminó cabeza y vísceras y se deshuesó en una máquina marca Yanagiya tipo S que separa la carne de pescado de la piel y los huesos. La composición de los ácidos grasos de los LT y los FL se analizó por cromatografía de gases, previa extracción de los lípidos totales (14) usando butil hidroxil tolueno (10 mg/l de solvente) como antioxidante y la formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos (15). El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo marca

Hewlett-Packard modelo 5880-A con detector de ionización de llama y columna de vidrio de 1.83 m. x 4 mm. (di), empacada con polietileno glicol adipato al 4% en peso sobre Cromosorb AW de 80-100 mallas. La fase móvil fue nitrógeno y la temperatura del horno 200°C . Para el análisis de los ácidos grasos de los FL, los FL se aislaron de los LT por cromatografía en capa fina usando sílica gel G (15), procediendo luego a formar los ésteres metílicos. Los AGL se cuantificaron mediante extracción y titulación (16). La rancidez oxidativa se evaluó mediante el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA) (17) con ciertas modificaciones (18).

Para evaluar la estabilidad de los AGP en la pulpa de pescado, se aplicaron los siguientes tratamientos: (PL) Pulpa lavada con agua a 5°C en proporción 1:3 pulpa:agua, agitando por 1 min. y luego filtrando a través de una bolsa de lienzo, presionando hasta eliminar un volumen de agua igual al adicionado. (T1) Adición de tripolifosfato al 0,58%, almidón al 7,5% y NaCl al 1%, simulando una formulación tipo Hamburguesa. (T2) Adición de BHT-BHA al 0,02% como antioxidante y EDTA a 75 ppm como agente quelante, además del tratamiento T1. Obteniendo 6 tratamientos para cada especie: Pulpa sin tratamiento (PST), PST+T1, PST+T2, PL, PL+T1, PL+T2.

RESULTADOS Y DISCUSION

En los LT para las tres tallas de cachama y de sardina el ácido graso saturado de mayor concentración fue el C16:0 (2527 %), aunque el total de ácidos grasos saturados fue mayor en la cachama que en la sardina. En las dos especies el ácido graso monoinsaturado de mayor porcentaje fue el C18:1, cuya variación fue proporcional solamente con la talla de la sardina desde el 12% hasta 17%. Respecto a los AGP de los LT se encontraron importantes diferencias entre las dos especies, la cachama se presenta como una especie rica en AGP de la serie n-6 y la sardina en AGP de la serie n-3 (Tabla 1): en efecto, parece ser una característica de los lípidos de los pescados de mar y de río (6,7). La separación cromatográfica de los ésteres metílicos de ácidos grasos permitió cuantificar individualmente los ácidos grasos, y en particular los AGP de las series n-3 y n-6 (Figura 1). En las tres tallas para las dos especies se observó mayor porcentaje de AGP en la fracción fosfolipídica que en los LT (Tabla 2), pudiendo ser la causa de la mayor facilidad para oxidarse (19). En la cachama este aumento se debe al incremento del porcentaje de los ácidos grasos C20:4, n-6; C22:5, n-6 y C22:6, n-3, mientras que en la sardina al incremento del C22:6, n-3.

TABLA 1
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS LIPIDOS TOTALES
PARA TRES TALLAS DEL PESCADO

	Cachama			Sardina		
Largo (cm)	31	38	41	13	18	20
Peso (g)	628	1150	1490	26	67	94
Acidos grasos						
Saturados						
C14:0	—	—	—	2,5	0,4	3,4
C16:0	24,8	26,6	27,3	27,2	24,9	25,0
C17:0	0,2	0,2	0,2	1,4	1,8	1,7
C18:0	11,7	9,3	9,9	4,6	4,9	3,4
Total	36,7	36,1	37,4	35,7	32,0	33,5
Monoinsaturados						
C16:1	2,3	2,0	4,9	7,6	9,8	13,3
C18:1	30,5	38,7	33,8	12,0	16,0	16,9
C20:1	—	—	—	4,5	7,3	4,0
Total	32,8	40,7	38,7	24,1	33,1	34,2
AGP serie n-6						
C18:2,n-6	13,1	15,5	12,8	1,1	3,3	0,7
C20:4,n-6	5,3	2,5	3,2	1,8	1,9	1,3
C22:5,n-6	4,5	2,1	3,0	—	—	—
Total	22,9	20,1	19,0	2,9	5,2	2,0
AGP serie n-3						
C20:5,n-3	1,2	0,2	0,3	13,7	14,5	23,7
C22:6,n-3	5,2	2,3	3,6	23,6	15,1	6,5
Total	6,4	2,6	3,9	37,3	29,6	30,2
Lipidos totales (*)	0,7	1,1	1,9	2,2	3,0	4,0

(*) (100g pulpa)

FIGURA 1
Separación de los esteres metílicos de ácidos grasos mediante
cromatografía de gases

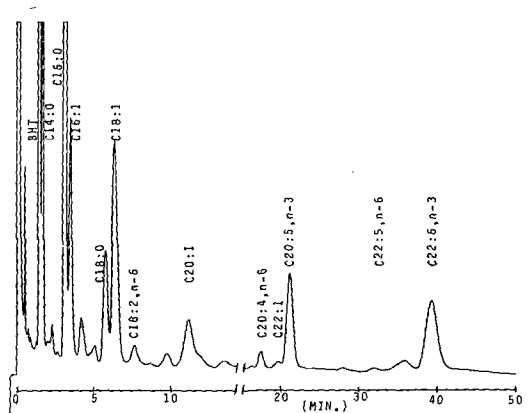


TABLA 2
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS FOSFOLIPIDOS PARA TRES
TALLAS DEL PESCADO

	Cachama			Sardina		
Largo (cm)	31	38	41	13	18	20
Peso (g)	628	1150	1490	26	67	94
Acidos grasos						
Saturados						
C14:0	—	—	—	1,2	0,2	—
C16:0	19,3	20,7	20,1	27,7	25,9	24,8
C17:0	0,2	0,3	—	2,8	0,5	0,4
C18:0	18,3	16,6	19,2	7,5	4,8	5,1
Total	37,8	37,6	39,3	39,2	31,4	30,3
Monoinsaturados						
C16:1	0,6	1,1	0,4	2,1	2,7	3,5
C18:1	16,0	17,1	17,1	7,7	6,5	7,1
C20:1	—	—	—	—	0,9	—
Total	16,6	18,2	17,5	9,8	10,1	10,6
AGP serie n-6						
C18:2,n-6	8,5	9,0	8,1	1,2	2,2	0,7
C20:4,n-6	12,8	12,4	10,8	1,9	3,2	3,9
C22:5,n-6	10,8	10,5	10,4	—	—	—
Total	32,1	31,9	29,4	3,1	5,4	4,6
AGP serie n-3						
C20:5,n-3	0,9	1,1	1,2	10,7	9,5	13,5
C22:6,n-3	12,5	11,1	12,5	37,3	43,7	41,0
Total	13,4	12,2	13,7	48,0	53,2	54,5

En la pulpa de cachama sin tratamiento y almacenada a 10°C en 4 meses, los AGP n-6 disminuyeron en 6% (Tabla 3) mientras que, a -20°C no se observó disminución. El lavado de la pulpa ejerció un efecto protector contra la oxidación lipídica durante el almacenamiento, posiblemente por la eliminación de enzimas como la lipoxigenasa presente en el músculo del pescado (4), el lavado afectó a un bajo porcentaje del contenido inicial de los AGP, tratamiento que puede ser aplicado a la pulpa de pescado para

incrementar su estabilidad, sin afectar el contenido de estos compuestos de importancia nutricional y terapéutica (20). El tratamiento T1 ejerció un efecto protector contra la oxidación de los AGP, al disminuir en solo 1,5% los AGP a-10°C a los 4 meses de almacenamiento. La adición de antioxidante y quelante inhibió la degradación de los AGP en la pulpa de cachama sin lavar.

TABLA 3
PORCENTAJE DE LOS ACIDOS GRASOS POLISATURADOS DE LA SERIE N-6 DE LA PULPA DE CACHAMA, ALMACENADA -10 Y -20°C.

Tiempo (meses)	-20°C				-10°C			
	0	1	3	4	0	1	3	4
Tratamientos:								
PTL	20,3	21,0	23,3	21,3	17,9	16,5	15,8	12,2
PTL + T1	18,3	21,1	21,2	19,3	16,3	20,3	21,0	14,8
PTL + T2	17,9	20,8	20,1	20,1	18,1	19,5	19,4	20,6
PL	16,7	18,3	20,8	18,7	16,2	17,5	16,4	16,7
PL + T1	17,7	21,5	20,6	18,9	16,1	16,6	16,9	17,7
PL + T2	17,9	18,8	20,9	20,2	18,9	18,2	18,8	16,4

La pulpa de sardina tuvo mayor pérdida de AGP que la pulpa de cachama (Tabla 4), posiblemente por las diferencias estructurales de los AGP, ya que los AGP de la serie n-3 como el C20:5,n-3 abundante en la sardina se considera más susceptibles a la oxidación que los AGP de la serie n-6 como el C20:4,n-6 (24). El análisis estadístico fue un análisis de varianza, con un diseño factorial múltiple sin réplica de 6x2x4, compuesto por 6 tratamientos, 2 temperaturas de almacenamiento y 4 tiempo de análisis (Tabla 5) indica que el porcentaje de AGP n-6 de la cachama y los de

la serie n-3 de la sardina fueron afectados por la temperatura de almacenamiento (p 0,01). Además, el tiempo tuvo mayor influencia en los cambios de porcentaje de los AGP de la sardina que en la cachama (p 0,01 y p 0,05). Entre los tratamientos aplicados no hubo diferencias significativas, lo cual indica que aunque los aditivos y tratamientos contribuyeron a aumentar la estabilidad de los AGP en la pulpa de pescado, es más importante e incluso significativa la disminución de la temperatura de almacenamiento.

TABLA 4
PORCENTAJE DE LOS ACIDOS GRASOS POLISATURADOS DE LA SERIE N-6 DE LA PULPA DE SARDINA, ALMACENADA -10 Y -20°C.

Tiempo (meses)	-20°C				-10°C			
	0	1	3	4	0	1	3	4
Tratamientos:								
PTL	37,3	39,7	36,1	37,0	37,3	40,9	32,3	28,3
PTL + T1	39,7	40,2	36,9	38,5	36,8	39,1	36,9	28,7
PTL + T2	36,8	38,2	39,8	38,9	39,7	30,7	32,4	34,0
PL	41,2	42,4	34,0	36,8	41,2	40,1	29,6	30,1
PL + T1	41,1	37,9	38,0	40,8	40,9	39,9	34,3	30,3
PL + T2	39,5	38,8	38,4	43,1	41,4	39,7	29,6	36,1

TABLA 5
ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE ACIDOS GRASOS POLINSATURADOS DE LA PULPA DE CACHAMA Y DE SARDINA

Fuente de variación	GL	F calculado		Diferencia significativa del % AGP	
		Cachama	Sardina	Cachama	Sardina
Tratamiento	5	1,30	0,65		
Temperatura	1	25,50	14,58	**	**
Tiempo	3	3,70	7,45	*	**

GL = Grados de libertad

** = Nivel de significancia 1%

* = Nivel de significancia 5%

El aumento de concentración de los AGL durante el almacenamiento de la pulpa (Figura 2 y 3) fue mayor en la sardina que en la cachama, posiblemente por una mayor actividad de las fosfolipasas en el músculo de esta especie, las cuales actúan aún en las temperaturas de congelación (22). La mayor acumulación de AGL no solo implica mayor disponibilidad de AGP para las reacciones de peroxidación, sino también cambios en la textura del alimento y disminución de la calidad proteica, debido a los enlaces con los grupos polares o iónicos de las cadenas polipeptídicas (2). Con el lavado de la pulpa disminuyó la concentración de los AGL en la pulpa fresca así como durante el almacenamiento, posiblemente por la eliminación de las enzimas hidrolíticas y los AGL formados durante el procesamiento previo al lavado. La pulpa lavada a -10°C tuvo mayor formación de AGL que la pulpa sin lavar a -20°C , por lo que la reducción de la temperatura de almacenamiento de -10°C a -20°C inhibe la hidrólisis lipídica en mayor grado que el lavado.

En la Figura 4 se muestran los cambios de los valores de TBA de la pulpa de cachama con diversos tratamientos. Aunque el lavado reduce los valores iniciales y durante el almacenamiento, los lípidos de la sardina presentan alta sensibilidad a las reacciones de peroxidación evaluadas por la cuantificación de los aldehídos y cetonas como MA, productos finales de la peroxidación lipídica. La figura 5 muestra los valores de TBA para la pulpa de sardina, la pulpa sin tratamiento almacenada a -10°C presentó los valores más altos de TBA de 5, mgMA/kg hasta 23,2 mg MA/kg en 4 meses, observándose un efecto protector del lavado y la adición de los antioxidantes y quelante principalmente a -10°C . El almacenamiento a 20°C disminuye la actividad de las enzimas con actividad peroxidasa que actúan a -10°C . La diferencia en el desarrollo de la rancidez oxidativa entre la pulpa de cachama y de sardina puede ser por la diferencia estructural de los AGP como por la diferencia de actividad de las enzimas entre las dos especies.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se realizó gracias a la colaboración del Dr. Virgilio Bosch R., Jefe de la Sección de Lipidología del I.M.E., U.C.V.; M.Sc. Alfonso Pérez C., miembro de la Sección de Metabolismo y Nutrición I.M.E., U.C.V.

Fue financiado parcialmente por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela.

FIGURA 2
Valores de ácidos grasos libres en la carne deshuesada de cachama, almacenada a -10°C y -20°C .

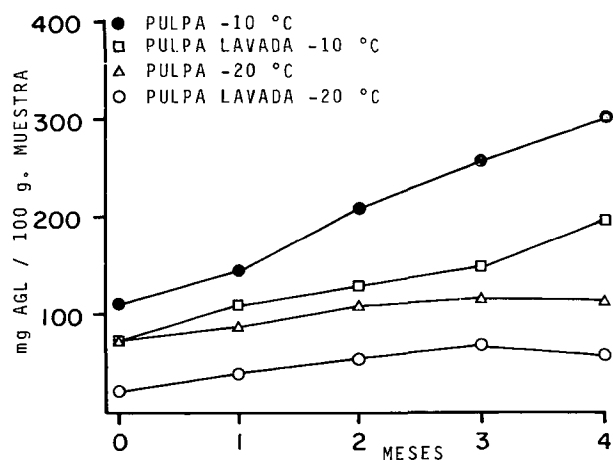


FIGURA 3
Valores de ácidos grasos libres en la carne deshuesada de sardina, almacenada a -10°C y -20°C .

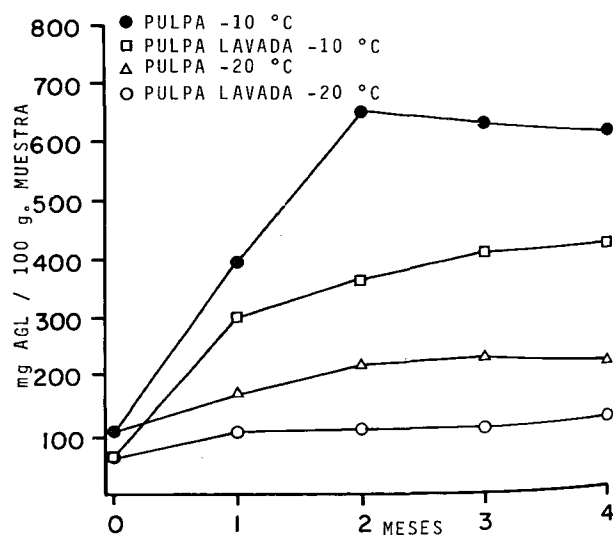


FIGURA 4

Valores de ácido tiobarbitúrico en la carne deshuesada de cachama, almacenada a -10°C y -20°C .

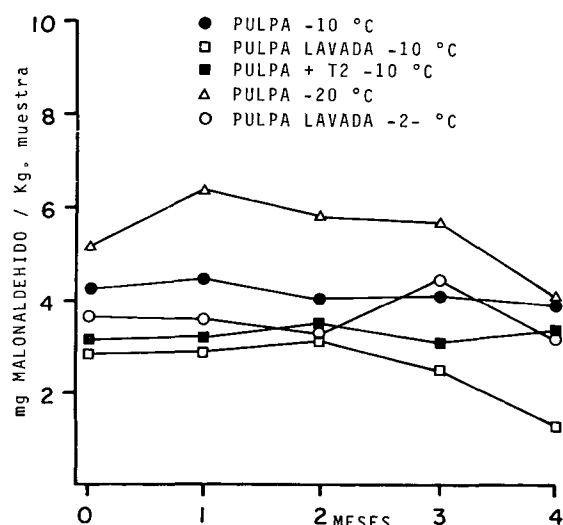
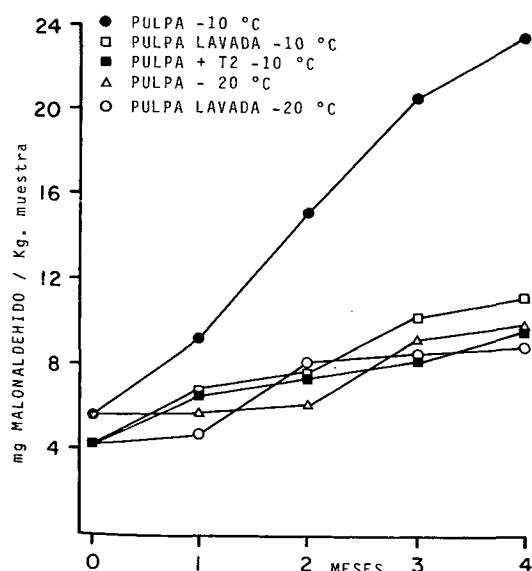


FIGURA 5

Valores de ácido tiobarbitúrico en la carne deshuesada de sardina, almacenada a -10°C y -20°C .



REFERENCIAS

- Herold, P. & Kinsella, J. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease. A comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 43:566-570, 1986.
- Chawla, P. & Ablett, R. Detection of microsomal phospholipase activity in myotomal tissue of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Food Sci.* 52(5):1194-1197, 1987.
- Ohshima, T., Wada, S. & Koizumi, Ch. Preferential enzymatic hydrolysis of phosphatidyl-cholina in Skipjack flesh during frozen storage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 50(2):2091-2098, 1984.
- Hsieh, R., German, J. & Kinsella, J. Lipoxygenase in fish tissue: some properties of the 12-lipoxygenase from trout gill. *J. Agric. Food Chem* 36:680-685, 1988.
- Hsieh, R., & Kinsella, J. Lipoxygenase-catalyzed oxidation of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: Relevance to and activity in fish tissue. *J. Food Sci.* 51(4):940-945, 1986.
- Kinsella, J., Shimp, J. & Wehrach, J. Fatty acid content and composition of freshwater finfish. *J.A.O.C.S.* 54:424-429, 1977.
- Hepburn, F., Exler, J. & Wehrach, J. Provisional tables on the content of omega-3 fatty acids and other fat component of selected foods. *J. of the Amer. Diet. Assoc.* 86(6):788-793, 1986.
- Lee, H., Kim, J., Ahnn, C., Chung, Y., Kim, J. & Jee, S. Seasonal variation in lipids and fatty acid composition of sardine (*Sardinops melanosticta*). *Han'guk Sikp'um Kwahakhoechi.* 18(3):245-248, 1986.
- Exler, J., Kinsella, J. & Watt, B. Lipids and fatty acids of important finfish: New data for nutrient tables. *J.A.O.C.S.* 52:154-159, 1975.
- Sinclair, J. & O'Dea, K. Polyunsaturated fatty acid types in Australian fish. Xth International Congress Trombosis and Hemostasis. Bruselas, Bélgica. Pag. 173, Julio 1985.
- Tornes, E., George, P. & Sánchez, D. Variación del contenido de grasa y sólidos no grasos en especies de peces de importancia industrial en Venezuela. Proyecto de Investigación y Desarrollo Pesquero. Informe Técnico N° 35. Caracas, Venezuela, 1971.
- Ke, P., Ackman, R., Linke, B. & Nash, D. Differential lipid oxidation in various parts of frozen mackerel. *J. Food Technol.* 12:37-47, 1977.
- Gil, W., Rodríguez, M., Borges, M. & Bello, R. Efecto del proceso de deshuesado mecánico en la estabilidad de las grasas de tres especies de pescado tropicales almacenadas a -10°C . *Arch. Latinoamer. Nutr.* XXXV(2):337-346, 1985.
- Bligh, E. & Dyer, W. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:91-917, 1959.
- Stahl, E. Thin-layer chromatography. 2ª edición, Ed. Springer-Verlag Heidelberg. Berlín, 1969.
- Dole, V. & Meinertz, H. Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.* 235:2595-2599, 1960.
- Tarladgis, B., Watts, B. & Younathan, M.A. Distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37(1):44-48, 1960.
- Rhee, K. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-Thiobarbituric acid test of fish and meat. *J. Food Sci.* 43: 1776-1778, 1978.
- Wu, T. & Sheldon, W. Influence of phospholipids on the development of oxidized off flavors in cooked turkey rolls. *J. Food Sci.* 53(1):55-61, 1988.
- Goodnight, S., Harris, W. & Illingworth, D. Polyunsaturated fatty acids, hiperlipemia and thrombosis. *Atherosclerosis* 2(2):87-113, 1982.
- Yamauchi, R., Yamada, T., Kato, K & Veno, Y. Monohydroperoxides formed by autoxidation and photosensitized oxidation of methyleicosapentaenoate. *Agric. Biol. Chem* 47(12):2897-2902, 1983.
- Bosund, I. & Ganrot, B. Lipids hydrolysis in frozen Baltic Herring. *J. Food Sci.* 34:13-18, 1969.