

# EFECTO DE LA CONGELACIÓN -40°C EN LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA PULPA DE SARDINA (*Sardinella aurita*) LAVADA CON UNA SOLUCIÓN DE BICARBONATO DE SODIO AL 0,5%

Effect of freezing at -40°C on free fatty acids of Sardine (*Sardinella aurita*) minced flesh washed in sodium bicarbonate 0.5% solution

Marinela Barrero y Rafael Bello

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Calle Suapure. Lomas de Bello Monte. Apartado 47. 097. Caracas. Venezuela. E-mail: mbarrero@strix.ciens.ucv.ve

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la congelación a -40°C de la pulpa de sardina lavada con solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0,5% en las diferentes fracciones de los lípidos (fosfolípidos, triglicéridos y ácidos grasos libres). Las diferentes fracciones de lípidos fueron separadas por cromatografía en capa fina y luego evaluadas por cromatografía de gases y espectrometría de masas, durante el almacenamiento a bajas temperaturas. El índice de TBA aumenta desde 0,06 hasta 0,17 mg/kg a medida que incrementa el tiempo de almacenamiento en congelación en la pulpa de sardina lavada con NaHCO<sub>3</sub> al 0,5%, indicando la formación de compuestos de bajo peso molecular, producto de la degradación de los ácidos grasos de alto peso molecular. Estos resultados coinciden con las cromatografías de gases y las espectrometrías de masas realizadas a la pulpa lavada. Estos compuestos presentan tiempos de retención similares a los ácidos grasos C18:2, n-6; C18:3, n-3; C20:4, n-6; C20:5, n-3 y C22:6, n-3, además de la formación de aldehídos, cetonas y alcoholes.

**Palabras clave:** Ácidos grasos, congelación, lípidos, sardina, pulpa.

## ABSTRACT

Changes in the fatty acid composition (phospholipids, triglycerides and free fatty acids) in sardine minced flesh washed with water and sodium bicarbonate 0,5% solution and stability in frozen storage at -40°C was studied. The different fractions were separated by thin layer chromatography and analysed by gas chromatography and mass spectrometry. Lipid

content and 2-thiobarbituric acid (TBA) index were significantly reduced in washed minced flesh with sodium bicarbonate 0,5% solution than sardine minced flesh washed with water. The fatty acids from free fatty acid fractions, polyunsaturated from phospholipids and triglyceride fractions were removed, however the saturated fraction was concentrated. Minced sardine flesh and minced sardine flesh washed with water presented the greatest concentration of high molecular weight polyenol compounds and saturated and monosaturated compounds, during frozen storage.

**Key words:** Fatty acids, lipids, mince, sardine.

## INTRODUCCIÓN

La congelación es un método muy utilizado en la preservación del pescado; éste y la mayormente las especies pelágicas son abundantes en ácidos grasos de cadena larga, poli-insaturados, que durante su almacenamiento en congelación pueden ocurrir cambios, debido a la oxidación de los lípidos [2, 5]. Dicho cambios son el resultado de la hidrólisis de los fosfolípidos, los cuales se descomponen produciendo un aumento en los ácidos grasos libres. Los mismos autores señalaron que el deterioro de los lípidos se debe a la oxidación de las largas cadenas de ácidos grasos poli-insaturados o, a la hidrólisis neutra de éstos. Los hidroperóxidos producidos en cantidades relativamente grandes durante la propagación son insípidos y, por tanto, quizás no sea una sorpresa que el ampliamente usado valor peróxido generalmente guarde escasa relación con las propiedades sensoriales. Los hidroperóxidos continúan dividiéndose, catalizados por iones de metales pesados, hasta la formación de cadenas carbonadas más cortas, productos secundarios de la autooxidación. Estos productos secundarios



principalmente aldehídos, cetonas, alcoholes, pequeños ácidos carboxílicos y alcanos originan un extenso espectro de olores y en algunos casos decoloración amarillenta, que pueden ser determinados como "sustancias reactivas al ácido tio-barbitúrico [3, 7, 8, 12].

El lavado de la pulpa de sardina es un proceso que ayuda a remover varios componentes que influyen en la estabilidad oxidativa, como son los pro-oxidantes acuosos, pigmentos y grasas (Hultin, señalado por Underland y col. [21]. Sin embargo se han reportado resultados puntualizando incremento [13], y disminución de la estabilidad de las pulpas de pescado lavadas (Ekstrand y col, Spencer y Bling, señalados por Underland y col.[21], estas contradicciones pueden ser atribuidas a la simultánea remoción de compuestos antioxidantes y al relativo incremento de la polaridad e insaturación en la fracción remanente de lípidos.

Algunos autores señalan que el lavado de la pulpa no previene el incremento en la rancidez oxidativa, pero ésta es significativamente menores que en la pulpa sin lavar. Contradictoriamente, otros autores [4, 9] han señalado que el lavado de la pulpa desafortunadamente incrementa la susceptibilidad a la oxidación de los lípidos, ya que estos se concentran en la pulpa de pescado.

Por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar los ácidos grasos remanentes en la pulpa de sardina lavada con soluciones de bicarbonato de sodio al 0,5% durante el almacenamiento en congelación a una temperatura de -40°C por 180 d.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materia prima

Para la realización del presente trabajo se utilizaron sardinas (*Sardinella aurita*) obtenidas en los caladeros de sardinas en Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela y trasladada al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, U.C.V, en cavas con hielo.

### Obtención de la pulpa

Las sardinas una vez en el Instituto se lavaron con abundante agua, para la eliminación de contaminantes del medio. Luego se les eliminó la cabeza y las vísceras, realizándoles un corte a nivel ventral. Se lavaron de nuevo con abundante agua para eliminar restos de vísceras y otros contaminantes y colocaron en cavas con hielo. Para obtener la pulpa, las sardinas sin cabeza y vísceras fueron pasadas por la deshuesadora mecánica marca Yanagiya tipo S, obteniéndose por un lado los desechos (piel y espina) y por otro, la pulpa.

### Lavado de la pulpa de sardina

Luego de obtener la pulpa, se le realizó el lavado con una solución de bicarbonato de sodio 0,06 M ó 0,5%. La pulpa de

sardina fue colocada en un recipiente de acero inoxidable, el cual contenía la solución de lavado (NaHCO<sub>3</sub> al 0,5%) previamente enfriada entre 0-4°C y en una relación pulpa: solución 1:5. Se realizaron tres (3) lavados en cada experiencia, agitándose la mezcla cada vez durante cinco (5) min. luego se dejó sedimentar la pulpa cinco min. y se decantó la solución. Al final del lavado, se centrifugó a 2000 rpm por 15 min a 5°C en una centrífuga marca Sorlvox. Finalmente la pulpa lavada y el control fueron colocadas en bolsas plásticas, se congelaron a -30°C y almacenaron a -40°C hasta el momento de su análisis.

### Métodos analíticos

La determinación de humedad, cenizas, proteína, grasa, se realizó según los métodos reportados por la Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C) [1].

pH: Según el método propuesto por Nontrapip y col. [15] utilizando un potenciómetro marca HANNA Instruments modelo 8417, y una relación 1:5 pulpa:agua destilada.

Rancidez oxidativa: Determinando malonaldehído según el método de destilación de Tarladgis y col. [20], modificado por Rhee [16], añadiendo EDTA y Propilgalato al 0,5%. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro marca Spectro modelo 22RS, a una longitud de onda de 538 nm. Los resultados son expresados como miligramos de malonaldehído por kilogramos de muestra.

### Espectrometría de masas

Este análisis fue realizado en el Instituto venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) utilizando un GC/MS Varian modelo 3400 CX con una columna: DB5,30m,25Um, helio como fase móvil y el siguiente programa de temperatura: temperatura del inyector 250°C, temperatura inicial de la columna 100°C, tiempo 0,2 min, tiempo de estabilización 2 min, temperatura final de la columna 290°C, Velocidad de calentamiento 6°C por min, tiempo de calentamiento 10 min., con masa Saturno 2000 para la identificación de compuestos

Color: Según el método propuesto por Roussel y Cheftel [17], por medio de un colorímetro Macbeth modelo color-eye 2445, usando una placa estándar y midiendo los parámetros L (luminosidad, claro/oscurito), a (relación rojo/verde) y b (relación amarillo/azul).

Perfil de ácidos grasos de los lípidos (fosfolípidos, triglicéridos y ácidos grasos libres):

Este análisis se realizó en el Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela con la metodología aplicada en la Sección de Lipidología.

Se extrajeron los lípidos totales del músculo de pescado usando una relación pulpa:cloroformo:metanol de 1:6:3 (p:v:v), según método de Folch y col. [6]. A una alícuota de 1 ml de la fase clorofórmica se le realizó cromatografía de capa fina contra un standard para separar los fosfolípidos, triglicéridos y ácidos grasos libres. Los fosfolípidos y triglicéridos se transesteri-



ficaron a ésteres metílicos de ácidos grasos mediante calentamiento a 80°C en reflujo durante 1 h, con una mezcla de 5 ml de metanol:tolueno:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en relación 80:10:5 (v:v:v) según el método de Stahl [26].

Los ésteres metílicos obtenidos se analizaron por cromatografía de gases usando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard, modelo 5880-A. La fase móvil fue nitrógeno gaseoso, la temperatura del horno 200°C en condiciones isotérmicas. El detector utilizado fue un fotométrico de llama con una temperatura de 250°C, la temperatura del inyector fue de 250°C. Para la cuantificación de los diferentes ácidos grasos se usó como standard el ácido heptanóico (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>) de SIGMA Chem. Co. en 1,5 µl/ml, antes de la esterificación.

### **Espectrometría de masas**

Este análisis se realizó en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) con un cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas marca xxxxx.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Materia prima**

En la TABLA I, se muestran los resultados obtenidos de los cambios en los ácidos grasos de las diferentes fracciones (FL, TG y AGL) durante el almacenamiento en congelación a -40°C.

### **Fracción de fosfolípidos**

A los 60 d. de almacenamiento se observó un aumento en el porcentaje del área de los ácidos grasos saturados (AGS) hasta 64,76, debido al incremento del ácido graso C<sub>16:0</sub>, componente principal en esta fracción. Un efecto contrario ocurre en los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) donde a los 60 d de almacenamiento presentaron un valor mínimo, debido al C<sub>22:6</sub>, n-3 el cual disminuye significativamente en los primeros 60 d desde 14,6 a 0,33%, pero luego incrementa hasta 34,36% a los 180 d. El EPA (C<sub>20:5</sub> (n-3)) no se detectó después de 60 d de almacenamiento, debido al aumento significativo en los AGS, por lo que se puede inferir que la formación de ácidos grasos de cadena corta (AGS) disminuye la concentración o el porcentaje de área de los AGPI ó, la degradación de los AGPI produce un incremento en la concentración de los AGS, debido a la formación de compuestos de bajo peso molecular.

Los ácidos grasos monoinsaturados AGMI presentan pocas variaciones, desde 17% hasta 25,61% en los 180 d de almacenamiento. El C<sub>16:1</sub>, n-7, el cual es el componente en mayor concentración aumenta durante el almacenamiento desde 9,51% a 16,27%, coincidiendo con lo señalado por Gibson y Worthington [9], quienes concluyeron que los lípidos sufren cambios considerables durante el almacenamiento a -35°C, siendo los fosfolípidos los que presentan mayores diferencias

e incrementan desde 1,85 hasta 3,5% (p/p) a los 220 d de almacenamiento, para luego disminuir a 2,75% (p/p) a los 312 d, en muestras de bague de canal congeladas con nitrógeno líquido, coincidiendo con los resultados obtenidos.

### **Fracción de triglicéridos**

En esta fracción se observó un aumento en el porcentaje de área a partir de los 120 d de almacenamiento en congelación de la pulpa de sardina, debido al incremento del C<sub>18:0</sub> desde 3,38% hasta 11,24% y al C<sub>16:0</sub> que asciende desde 19,87 hasta 34,96% al final del almacenamiento. El C<sub>14:0</sub> no se detecta después de 60 d., pero luego a los 120 d aparece un pico al mismo tiempo de retención (TR) del C<sub>14:0</sub> con una concentración de 22,50%, el cual corresponde según espectros de masas a productos de degradación de los ácidos grasos poliinsaturados, FIG. 1, como el C<sub>20:5</sub>, n-3 (EPA) que representa el 23,05% de los AGPI no se detecta después de los 60 d. de almacenamiento y el C<sub>20:3</sub> (n-9) y C<sub>20:4</sub>(n-9), los cuales producen compuestos hidroperóxido de bajo peso molecular; el resto de los AGPI permanecen prácticamente invariables, por lo que se puede pensar que el EPA juega un papel importante en la formación de compuestos de bajo peso molecular incluidos en los AGS y AGMI.

McGill y col. [14], reportaron gran variedad de aldehídos, cetonas y alcoholes del tipo C:7 a C:10 los que aparecen durante el almacenamiento en congelación de filetes de pescado, señalando también que estos tipos de compuestos aumentan hasta los 100 d de almacenamiento a -30°C y luego desaparecen, sugiriendo que son adsorbidos por las proteínas.

### **Fracción de ácidos grasos libres**

Se observó que en esta fracción los ácidos grasos disminuyen su porcentaje de área con el almacenamiento, por la aparición en grandes concentraciones de compuestos mayormente poliinsaturados con TR 44-45 min, señalados como desconocido 3 en la materia prima y desconocido 3 y 4 en la pulpa de sardina lavada, además de aldehídos, cetonas y alcoholes a tiempos de retención de 2-3 min señalados como desconocido 1 y 2. Así también se observó que al mismo TR del C<sub>16:1</sub>, n-7 aparece un compuesto con 63,36% de concentración y 60 d de almacenamiento de la pulpa de sardina, que por espectrometría de masas de estas muestras se observó, que los mismos son producto de degradación por oxidación e hidrólisis de los ácidos grasos, resultando una variedad de compuestos con pesos moleculares entre 298 y 340 como se muestra en la FIG. 1 coincidiendo con lo reportado por McGill y col. [14] y, Gibson y Worthington [9], los cuales señalaron que las diferencias observadas en la cantidad de ácidos grasos, en la fracción de ácidos grasos libres, puede ser atribuida a la actividad de las lipasas, la cual fue más pronunciada en las muestras de pescado congeladas a -35°C.

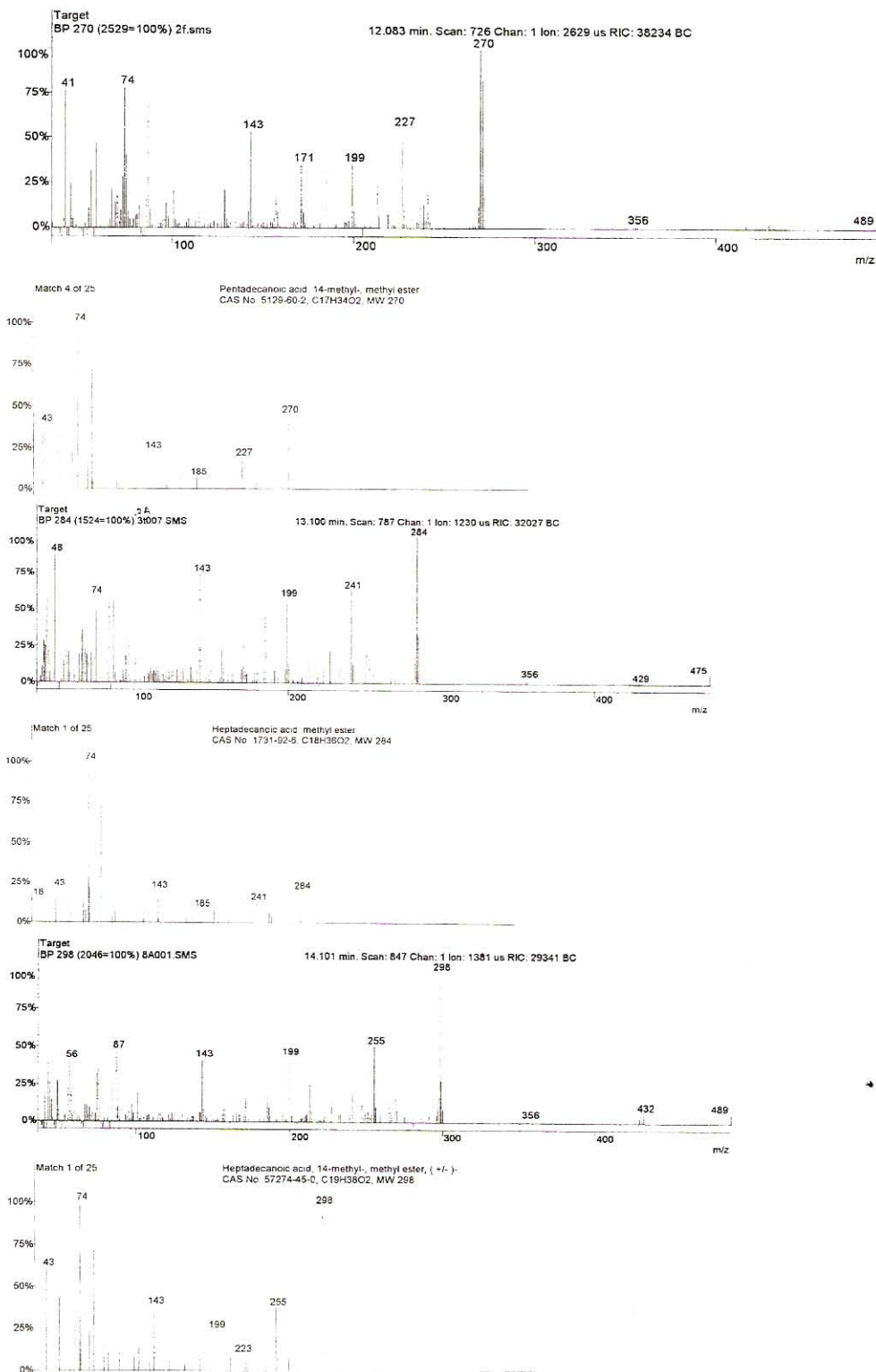
El incremento en los ácidos grasos libres y la disminución de los fosfolípidos, evidencia de la actividad de las lipasas



**TABLA I**  
**VARIACIÓN DE LOS ÁCIDOS (% DE ÁREA), EN LAS FRACCIONES DE: FOSFOLÍPIDOS, TRIGLICÉRIDOS Y ÁCIDOS GRASOS LIBRES DE LA MATERIA PRIMA SARDINA (*Sardinella aurita*), DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN A -40°C**

Días		0	60	120	180
F	Palmitico C16:0	29,61±0,41	64,76±2,36	37,87±1,69	32,19±2,41
<b>o</b>	<b>Total saturados</b>	<b>29,61±0,41</b>	<b>64,76±2,36</b>	<b>37,87±1,69</b>	<b>32,19±2,41</b>
s	Palmitoleico C16:1 (n-7)	9,51±0,39	11,55±0,23	10,54±0,58	16,27±0,87
f	Oleico C18:1 (n-9)	7,49±0,27	15,40±0,65	10,13±0,41	9,34±0,21
o	Tetracosaeicoico 24:1 (n-9)	0,80±0,09	4,26±0,81	2,03±0,70	
<b>l</b>	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>17,00±0,75</b>	<b>26,95±1,69</b>	<b>20,67±1,69</b>	<b>25,61±1,08</b>
í	Linoleico C18:2 (n-6)	0,98±0,09	1,83±0,98	1,13±0,81	4,08±0,24
p	Eicosatrienoico C20:3 (n-9)	1,74±0,08	0,48±0,43		
i	Araquidónico C20:4 (n-6)	2,44±0,15	1,39±0,39	4,54±0,79	3,76±0,47
d	Eicosapentaenoico C20:5(n-3)	12,81±0,39			
o	Docosahexaenoico C22:6 (n-3)	14,60±0,56	0,33±0,07	33,77±3,74	34,36±0,36
<b>s</b>	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>32,57±1,27</b>	<b>4,03±1,87</b>	<b>39,43±1,78</b>	<b>42,20±1,07</b>
	Laurico C12:0	0,20±0,02	0,16±0,39	0,23±0,56	
T	Mirístico C14:0	14,36±0,32		22,50±3,58	
r	Palmitico C16:0	19,87±0,98	27,87±1,74	27,13±1,41	34,96±1,99
i	Estearico C18:0	3,38±0,47	4,67±0,84	4,39±0,30	11,24±0,74
<b>g</b>	<b>Total saturados</b>	<b>37,80±1,79</b>	<b>32,70±2,97</b>	<b>54,25±6,85</b>	<b>46,20±2,73</b>
l	Palmitoleico C16:1 (n-7)	15,32±0,54	20,04±0,35	20,53±0,26	28,52±0,70
i	Oleico C18:1 (n-9)	11,82±0,69	13,64±0,69	13,82±0,94	16,02±0,56
<b>c</b>	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>27,14±1,23</b>	<b>33,68±1,04</b>	<b>34,34±0,60</b>	<b>44,54±1,26</b>
é	Linoleico C18:2 (n-6)	2,05±0,04	2,60±0,66	1,69±0,12	1,54±0,13
r	Linolenico C18:3 (n-3)	0,63±0,02	0,56±0,17	0,29±0,09	0,39±0,16
i	Eicosatrienoico C20:3 (n-9)	0,57±0,02	0,38±0,14		
d	Araquidónico C20:4 (n-9)	2,34±0,10	2,60±0,10		
o	Eicosapentaenoico C20:5 (n-3)	23,05±0,21	19,80±0,70		
s	Docosahexaenoico C22:6 (n-3)	6,42±0,87	7,68±0,34	9,42±0,48	7,32±0,57
	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>35,06±1,26</b>	<b>33,62±1,51</b>	<b>11,40±1,69</b>	<b>9,25±1,86</b>
A	Mirístico C14:0	17,03±0,46			
c.	Palmitico C16:0	25,53±0,32	0,66±0,02	1,36±0,04	0,34±0,04
G	Estearico C18:0	3,95±0,64	9,03±0,34	0,16±0,01	0,30±0,01
<b>r</b>	<b>Total saturados</b>	<b>46,51±1,42</b>	<b>9,69±0,36</b>	<b>1,52±0,05</b>	<b>0,64±0,05</b>
a	Palmitoleico C16:1 (n-7)	20,10±0,17	63,36±2,74	0,86±0,14	0,33±0,01
s	Oleico C18:1 (n-9)	17,21±0,25	6,64±0,01	0,91±0,01	0,87±0,01
<b>o</b>	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>37,31±0,42</b>	<b>70,00±2,75</b>	<b>1,77±0,15</b>	<b>1,20±0,02</b>
s	Linoleico C18:2 (n-6)	2,87±0,32			
L	Eicosatrienoico 20:3 (n-9)	0,52±0,12	7,11±0,74	0,94±0,04	2,01±0,34
i	Araquidónico C20:4 (n-6)	2,61±0,20			
<b>b</b>	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>5,99±0,64</b>	<b>7,11±0,74</b>	<b>0,94±0,04</b>	<b>2,01±0,34</b>
r	<b>Desconocido 1</b>				<b>8,62±1,01</b>
e	<b>Desconocido 2</b>				<b>13,31±1,31</b>
<b>s</b>	<b>Desconocido 3</b>	<b>10,19±0,34</b>	<b>13,20±0,74</b>	<b>95,78±4,21</b>	<b>74,23±2,85</b>

Estos valores corresponden al promedio± el error estandar, y cada uno se obtuvo de 4 mediciones.



**FIGURA 1. ESPECTROS DE MASA DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS CONTENIDOS EN LA MATERIA PRIMA, SARDINA (*Sardinella aurita*) ALMACENADA A -40°C, POR 180 DÍAS.**



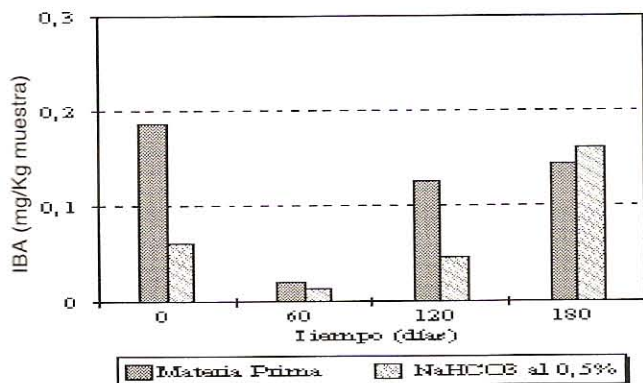
durante el almacenamiento congelado en esta fracción (AGL) así como en la de TG. También Fernández-Reiriz y col. [5] señalaron que durante el almacenamiento independientemente de la temperatura, la concentración de ácidos grasos son incrementados y el C22:5, n-3 y C22:6, n-3 experimentan ligeras variaciones y luego de los 180 d. observaron gran cantidad de ácidos grasos poli-insaturados y del tipo n-3. Así también De-Koning y Mol [4] señalaron al evaluar los FL, TG y AGL en la pulpa de merluza congelada a -5, -18 y -40°C, que los ácidos grasos libres muestran un rápido aumento, seguido de una segunda fase de generación de ácidos grasos libres con la pérdida del enlace fósforo-proteína, coincidiendo con los resultados obtenidos.

Una medida muy usada para evaluar la oxidación de los lípidos es el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA). En la FIG. 2 se muestran los valores obtenidos para la materia prima. Se observó que a los 60 d, este índice disminuye significativamente y luego incrementa a los 120 y 180 d. de almacenamiento, por lo que se infiere que a partir de los 120 d comienza a ser detectable la oxidación de lípidos o la formación de compuestos carbonilos de bajo peso molecular, los cuales son los que sirven como índice de evaluación con el TBA y que al inicio del almacenamiento se forman compuestos polienólicos ó polímeros de alto peso molecular.

#### Pulpa lavada con solución de NaHCO<sub>3</sub> 0,5%

##### Fracción de fosfolípidos

En la TABLA II se muestran los resultados obtenidos de la variación de los diferentes ácidos grasos en la fracción de fosfolípidos de la pulpa de sardina lavada con una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0,5%, durante el almacenamiento en congelación a -40°C. En esta fracción se observan pocas variaciones de los ácidos grasos, siendo los AGS los que aumentan ligeramente desde 32,33% hasta 37,53% al inicio y final del almacenamiento en congelación. A los 120 d, se observó que el de



**FIGURA 2. CAMBIOS EN EL ÍNDICE DE TBA DE LA PULPA DE SARDINA (*Sardinella aurita*) COMO MATERIA PRIMA Y LAVADA CON UNA SOLUCIÓN DE NaHCO<sub>3</sub> AL 0,5%, DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN A -40°C.**

estos AGS alcanzó un valor de 43,40% que podría deberse a la formación de un compuesto producto de la degradación de los ácidos grasos de esta fracción, con el mismo tiempo de retención del C16:0, este efecto también se observa el el porcentaje de área del ácido graso monoinsaturado C18:1 (n-9), a los 60 d de almacenamiento, por lo que el área total presenta un valor máximo, coincidiendo con lo señalado por Hsieh y Kinsella [11].

##### Fracción de triglicéridos

En esta fracción se observó que los AGMI se incrementaron desde 33,19% hasta 56,82% en el almacenamiento durante congelación por 180 d., debido al incremento en porcentaje de área del C16:1 (n-7) desde 9,05% hasta 41,69%, posiblemente debido a la formación de compuestos producto de la hidrólisis y/o oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados en esta fracción, los cuales presentan una disminución en el porcentaje de área desde 12,70% hasta 7,08%. Estos ácidos grasos formados presentan el mismo tiempo de retención del C16:1 (n-7), coincidiendo con los resultados obtenidos por Hsieh y Kinsella [11], quienes señalaron que la lipoxigenasa cataliza específicamente la oxidación de los carbonos n-6, tanto de los ácidos grasos n-3 como n-6, produciendo hidroperóxidos y productos finales como aldehídos, cetonas y alcoholes, con tiempos de retención de 8,2 y 12,2 min. tales como el ácido hidroxilinolénico y ácido hidroxydocosahexaenóico.

En los análisis realizados por espectrometría de masas de la pulpa lavada, como se muestra en la FIG. 3, siendo el ácido heptadecanóico, 16 metil-metil ester el de mayor concentración, coincidiendo con los resultados reportados por Hsieh y Kinsella [11] y McGill y col. [14].

Este mismo efecto se puede observar en la FIG. 2 donde se representan los índices de TBA para la pulpa lavada, a los 60 d. este índice disminuye debido a la formación de compuestos polienólicos de alto peso molecular (polímeros), degradados a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento, a compuesto de bajo peso molecular como aldehídos y cetonas, por lo que este índice vuelve a incrementar. Es decir cuando el índice de TBA disminuye, se observa por cromatografía de gases la formación de compuesto de larga cadena, poli-insaturados y cuando este índice de TBA aumenta se observa la formación de compuestos saturados de bajo peso molecular producto de la degradación de los ácidos grasos. Castrillón y col. [2] encontraron que la concentración de C20:5, n-3 y C22:3, n-3 disminuyen ligeramente debido a la autooxidación; mientras que el porcentaje de área del ácido linolenico, oleico y palmitoleico se incrementan en el almacenamiento congelado. Así también Fernández-Reiriz y col. [5] señalaron que los cambios que ocurren en los lípidos durante el almacenamiento congelado, son el resultado de la hidrólisis de los fosfolípidos los cuales se descomponen produciendo un aumento en los ácidos grasos libres y que otros autores señalan que el deterioro de los lípidos es debido a la oxidación de las largas cade-

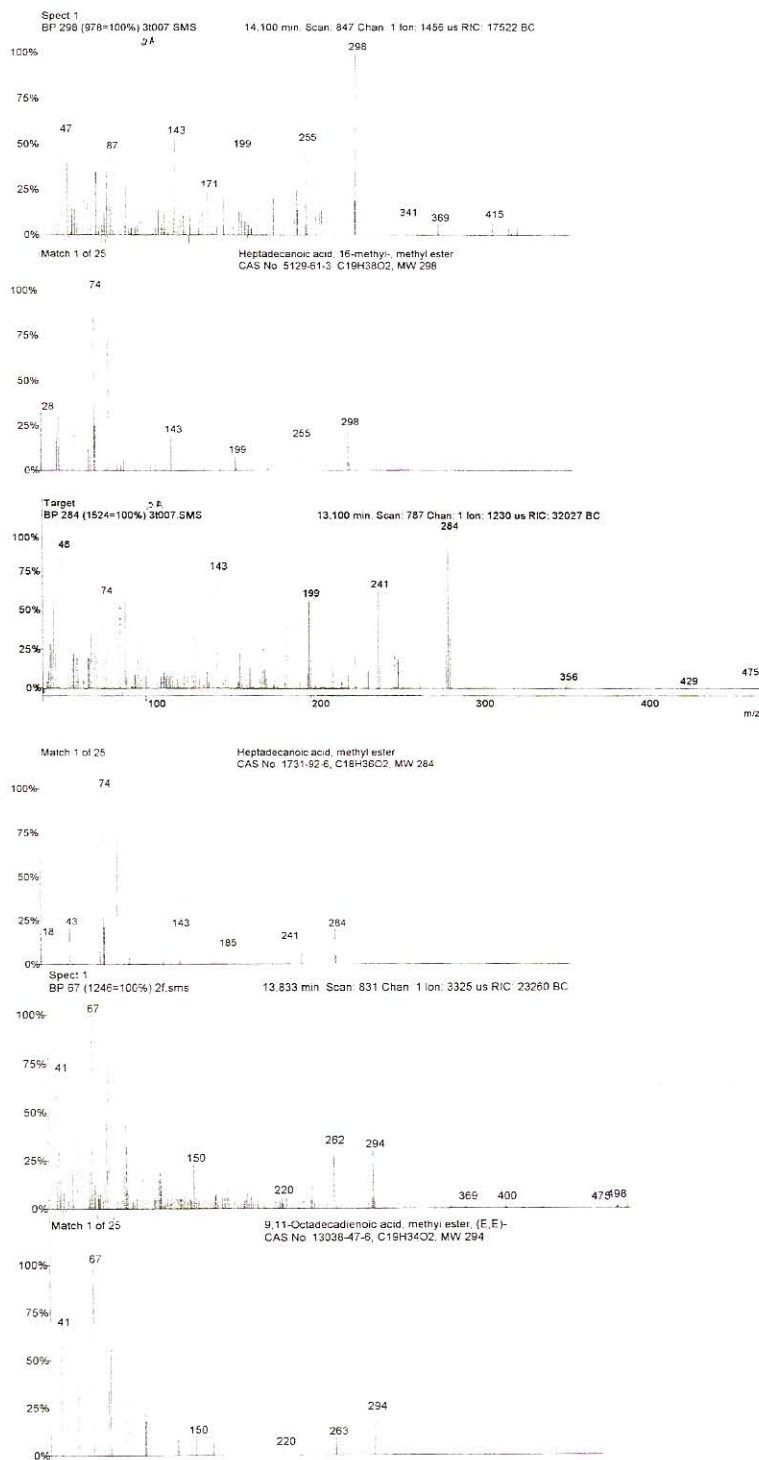


TABLA II

VARIACIÓN DE LOS ÁCIDOS (% DE ÁREA), EN LAS FRACCIONES DE: FOSFOLÍPIDOS, TRIGLICÉRIDOS Y ÁCIDOS GRASOS LIBRES DE LA PULPA DE SARDINA (*SARDINELLA AURITA*), LAVADA CON SOLUCIÓN DE NaHCO<sub>3</sub> al 0,5%, DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN A -40°C

Días		0	60	120	180
F	Palmitico C16:0	32,33±0,69	21,27±0,52	43,40±0,63	37,53±0,99
o	<b>Total saturados</b>	<b>32,33±0,69</b>	<b>21,27±0,52</b>	<b>43,40±0,63</b>	<b>37,53±0,99</b>
s	Palmitoleico C16:1 (n-7)	16,75±0,23	14,53±0,85	14,45±0,87	13,89±0,23
f	Oleico C18:1 (n-9)	18,82±0,59	30,86±0,36	17,83±0,45	16,57±0,52
o	Tetracosaeicoico 24:1 (n-9)				
l	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>35,57±0,82</b>	<b>45,39±1,21</b>	<b>32,28±1,32</b>	<b>30,46±0,75</b>
í	Linoleico C18:2 (n-6)	4,16±0,14	15,75±0,56	1,79±0,08	11,38±0,45
p	Eicosatrienoico C20:3 (n-9)	8,32±0,25			
i	Araquidónico C20:4 (n-6)	3,42±0,12			
d	Eicosapentaenoico C20:5(n-3)				
o	Docosahexaenoico C22:6 (n-3)	16,21±0,26	17,58±0,78	22,52±0,65	20,64±0,47
s	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>32,11±0,77</b>	<b>33,33±1,34</b>	<b>24,31±0,73</b>	<b>32,02±0,92</b>
	Laurico C12:0				
T	Mirístico C14:0				
r	Palmitico C16:0	36,97±0,87	33,57±1,45	40,09±1,75	35,43±1,56
i	Estearico C18:0	17,14±0,23	5,98±0,69	6,90±0,87	
g	<b>Total saturados</b>	<b>54,11±1,10</b>	<b>39,55±2,14</b>	<b>46,99±2,62</b>	<b>35,43±1,56</b>
l	Palmitoleico C16:1 (n-7)	9,05±0,58	23,92±0,36	25,57±0,26	41,69±1,54
i	Oleico C18:1 (n-9)	24,14±0,32	17,12±0,21	18,73±0,94	15,13±0,56
c	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>33,19±0,90</b>	<b>41,04±0,57</b>	<b>44,30±0,60</b>	<b>56,82±2,10</b>
é	Linoleico C18:2 (n-6)	1,56±0,21	3,67±0,14	1,85±0,08	1,27±0,07
r	Linolenico C18:3 (n-3)		4,65±0,16		
i	Eicosatrienoico C20:3 (n-9)	2,74±0,04	0,69±0,10		
d	Araquidónico C20:4 (n-9)				
o	Eicosapentaenoico C20:5 (n-3)				
s	Docosahexaenoico C22:6 (n-3)	8,40±0,20	10,40±0,23	9,64±0,12	5,81±0,25
	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>12,70±0,11</b>	<b>19,41±0,63</b>	<b>11,49±0,10</b>	<b>7,08±0,32</b>
A	Mirístico C14:0				
c.	Palmitico C16:0	7,01±0,12	23,11±0,36	1,22±0,11	0,75±0,03
G	Estearico C18:0	0,88±0,02	14,79±0,89		
r	<b>Total saturados</b>	<b>7,89±0,06</b>	<b>37,9±1,25</b>	<b>1,22±0,11</b>	<b>0,75±0,03</b>
a	Palmitoleico C16:1 (n-7)	2,82±0,19	10,28±0,36	1,27±0,12	0,68±0,01
s	Oleico C18:1 (n-9)	3,24±0,46			
o	<b>Total mono-insaturados</b>	<b>6,06±0,32</b>	<b>10,28±0,36</b>	<b>1,27±0,12</b>	<b>0,68±0,01</b>
s	Linoleico C18:2 (n-6)	0,56±0,014			
L	Eicosatrienoico 20:3 (n-9)	3,23±0,15	32,18±0,69	2,41±0,10	2,57±0,16
i	Araquidónico C20:4 (n-6)	5,05±0,21			
b	<b>Total poli-insaturados</b>	<b>8,84±0,12</b>	<b>32,18±0,69</b>	<b>2,41±0,10</b>	<b>2,57±0,16</b>
r	<b>Desconocido 1(TR=2-3min)</b>				<b>24,96±2,36</b>
e	<b>Desconocido 2(TR=2-3min)</b>				
s	<b>Desconocido 3(TR=44-45min)</b>	<b>82,26±3,14</b>	<b>19,64±1,41</b>	<b>93,63±4,00</b>	<b>71,04±2,87</b>

Estos valores corresponden al promedio± el error estandar, y cada uno se obtuvo de 4 mediciones.



**FIGURA 3. ESPECTROS DE MASA DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS CONTENIDOS EN LA PULPA DE SARDINA (*Sardinella aurita*) LAVADA CON UNA SOLUCIÓN DE  $\text{NaHCO}_3$  AL 0,5% Y ALMACENADA A  $-40^\circ\text{C}$  POR 180 DÍAS.**



nas de ácidos grasos poli-insaturados o a la hidrólisis neutra de estos coincidiendo con los resultados obtenidos.

### Fracción de ácidos grasos libres

En la TABLA II, se muestran los resultados obtenidos de la variación de los diferentes ácidos grasos en la fracción de ácidos grasos libres de la pulpa de sardina lavada con una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0,5% durante el almacenamiento en congelación a -40°C.

Se observa que los porcentajes de ácidos grasos en los AGS, AGMI y AGPI de esta fracción disminuyen con el incremento de los compuestos nombrados como desconocidos, donde, desconocido 1 son compuestos de bajo peso molecular y TR entre 2-3 min. y desconocido 3 son compuestos polienólicos (polímero de alto peso molecular) de TR 44-45 min., estos compuestos están presentes desde el tiempo inicial de almacenamiento y puede ser debido a que la concentración de los ácidos grasos poli-insaturados, por efecto del lavado hace que interaccionen entre si formando compuesto polienólicos del tipo polímeros de alto peso molecular, por lo que esta fracción incrementa con el almacenamiento congelado coincidiendo con lo señalado por Fernández-Reiriz y col [5]. Gibson y Worthington [9] con respecto a los ácidos grasos libres, que estos se incrementan durante el almacenamiento a -18°C, acompañados por el incremento de los ácidos polienólicos en esta fracción y la disminución de los fosfolípidos, lo que evidencia la fuerte actividad de las fosfolipasas. Gil [10] también señaló la aparición de un compuesto desconocido nombrado como C22:X el cual fue predominante durante el almacenamiento de la pulpa de caballa a -10°C, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Al comparar los porcentajes de área de la pulpa de sardina sin lavar con la pulpa lavada con NaHCO<sub>3</sub> al 0,5%, TABLAS I y II, se observa que la pulpa sin lavar presenta formación de compuestos de bajo peso molecular desde los 60 d. de almacenamiento en la fracción de FL y TG, coincidiendo con los valores obtenidos para el índice de TBA, el cual es mayor para la materia prima hasta los 120 d. de almacenamiento, debido a la formación de compuestos producto de la degradación de los AGPI y tiempo de retención similares a los AGS y AGMI. Un ejemplo de estos productos de degradación es la aparición de un pico al mismo tiempo de retención del mirístico a los 120 d. Aunque las dos muestras presentan la misma tendencia, es decir, formación de compuestos polienólicos de alto peso molecular a los 60 d. de almacenamiento y luego su degradación en los días subsiguientes, en la pulpa lavada el efecto de degradación es menor, por lo que se podría inferir que el lavado produce un efecto benéfico, retardando la formación de compuestos producto de la oxidación e hidrólisis de los ácidos grasos remanentes al lavado coincidiendo con lo reportado por Ekstrand y col. y, Spencer y Bling, señalados por Undeland y col. [21].

## CONCLUSIONES

En congelación a -40°C, la pulpa de sardina sin lavar presentó la mayor formación de compuestos, producto de la oxidación e hidrólisis de los ácidos grasos contenidos en la pulpa de sardina, así como el mayor índice de TBA.

La pulpa de sardina lavada con una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 0,5% presentó un comportamiento variable en la degradación de los ácidos grasos remanentes, durante el almacenamiento en congelación a -40°C, siendo el mayor índice de oxidación e hidrólisis a los 180 d. de almacenamiento, así como el mayor valor de índice de TBA.

Los productos de degradación para las muestras tanto lavada como sin lavar, fueron principalmente el 14-metil, ácido pentadecanóico; 9,11-ácido octadecadienoico y el 14-metil, ácido heptadecanoico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist: 125, 132, 289, 858. 1980.
- [2] CASTRILLÓN, A.M.; PONTES-ALVAREZ, E.; ARIAS, G. M.; NAVARRO, P. Influence of Frozen storage and defrosting on the Chemical and Nutritional Quality of sardine (*Clupea pilchardus*). **J. Sci. Food Agric.** 70: 29-34. 1996.
- [3] CONNELL, J.J. Advances in Fish Science and Technology. Ed. Fishing News Books LTD. Cap. 2: 86-103. 1980.
- [4] DE KONING, A. J., MOL, T. H. Rates of Free fatty Acid Formation from Phospholipids and Neutral lipis in Frozen Cape hake (*Merluccius spp.*) Mince at Various Temperatures. **J. Sci. Food Agric.** 50: 391-396. 1990.
- [5] FERNÁNDEZ-REIRIZ, M.J.; PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G. Lipid Changes in Muscle Tissue of Ray (*Raja clavata*) during Processing and Frozen Storage. **J. Agric. Fd. Chem.** 40: 484-488. 1992.
- [6] FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANG, G.H. A simple method for the insolation and purification of total lipids from animal tissue. **J. Biol. Chem.** 228: 497-509. 1957.
- [7] GIACOPINI DE Z., M.I. Peroxidación de lípidos "in vivo", Micronutrientes, Antioxidantes y sus Implicaciones en la Salud (Tesis de Post-grado). ICTA/UCV: 8-21. 1991.
- [8] GIACOPINI DE Z., M.I. Algunos métodos utilizados para determinar peroxidación de los lípidos en materiales biológicos (Tesis de Post-grado). ICTA/UCV:50-56. 1993.
- [9] GIBSON, T.A.; WORTHINGTON, R.E. Lipid Changes Frozen Stored Channel Catfish Grown by Tank Culture: Effects of Dietary Fat, Freezing Method, and Storage Temperature. **J. Food Sci.** Vol 42(2) 355-358. 1997.

- [10] GIL, W. Caracterización y Aprovechamiento de la Cachama (*Colossoma macropomum*) (Tesis de Post-grado). ICTA/UCV. Caracas: 180-186. 1986.
- [11] HSIEH, R. J.; KINSELLA, J.E. Lipoxygenase-Catalyzed Oxidation of N-6 and N-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Relevance to and Activity in Fish Tissue. **J. Food Sci.** Vol. 51(4): 940-945. 1986.
- [12] HUSS, H.H. El Pescado Fresco: su calidad y cambios de su calidad. Manual de capacitación. FAO/DANIDA en **Tecnología Pesquera y Control de Calidad**. Colección FAO: Pesca. Nº 348:64-67. 1998.
- [13] LEE, C.M.; TOLEDO, R.T. Factors affecting textural Characteristic of Cooked Comminuted Fish Muscle. **J. Food Sci.** 41:393-394. 1976.
- [14] MCGILL, A.S.; HARDY, R.; GUNSTONE, F.D. Further Analysis of the Volatile Components of Frozen Cold Stored Cod and the Influence of these on Flavour. **J. Sci. Fd. Agric.** 28:220-205. 1977.
- [15] NONYRAPIP, A.; WADA, S.; YAMANAKA, H. Post-mortem Glycolysis and ATP Degradation in the Muscle of Ascidian *Halocynthia Roretzi*. **Nippon Suisan Gakkaishi.** 57(4):761-766. 1991.
- [16] HEE, S.K. Minimization of Further Lipid Peroxidation in the Distillation 2-Thiobarbituric Acid Test of Fish and Meat. **J. Food. Sci. and Tech.** 43: 1776-1778. 1978.
- [17] ROUSSEL, H.; CHEFTEL, J.C. Characteristics of Surimi and Kamaboko from Sardines. **Inter. J. Food. Sci. and Tech.** 23: 607-623. 1988.
- [18] STAHL, E.M. Aliphatic Lipids. Thin-Layer Chromatography. **De Springer-Verlag.** New York. 372-373. 1969.
- [19] SUSUKI, T. Tecnología de las Proteínas de Pescado y Krill. Ed. ACRIBIA, S.A. Cap II. 55-100. 1985.
- [20] TARLADGIS, B.; WATTS, B.; YOUNATHA, M. A Distillation Method for the Quantitative Determination of malonaldehyde in Rancid Food. **J. Am. Oil. Chem. Soc.** 37(1):44-48. 1960.
- [21] UNDELAND, I.; EKSTRAND, B.; LINGNERT, H. Lipid Oxidation in Minced Herring (*Clupea harangus*) during Frozen Storage. Effect of Washing and Precooking. **J. Agrig. Food. Chem.** 46:2319-2328. 1998.