

Nueva Herramienta para el Estudio de la Oxidación de los Ácidos Grasos, una de las Causas Fundamentales de la Pérdida de Calidad de los Alimentos para la Acuicultura

G. Navarro-García (1), L. Bringas-Alvarado (1) y R. Pacheco-Aguilar (2).

1. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Sonora, Universidad de Sonora, Blvd. Luís Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, 83000. Hermosillo, Sonora. México.

2. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo. Km. 0.6, Carr. a la Victoria. 83000. Hermosillo, Sonora. México.

E-mail: gernagar@hmo.megared.net.mx, lbringas@guayacan.uson.mx, rpacheco@cascabel.ciad.mx

Resumen

Los aceites de pescado constituyen un componente básico de los alimentos para la acuicultura, ya que son fuente de energía y ácidos grasos altamente insaturados (HUFA). El alto nivel de insaturaciones que presentan los HUFA los hacen particularmente susceptibles a la oxidación, lo que da lugar a cambios significativos en la salud del pez.

Diferentes técnicas analíticas se usan para evaluar los niveles de oxidación de los lípidos, sin embargo, estas muestras ciertas limitaciones. Por ejemplo se ha señalado que la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA), no resulta apropiada para detectar bajos niveles de oxidación, además considerarse no específica.

En los últimos años, se ha dedicado una atención especial al desarrollo de nuevas técnicas que permitan un control más efectivo del proceso de oxidación. La micro-extracción en fase sólida (SPME) acoplada a la cromatografía de gases (GC), es una de las mejores alternativas para la determinación de los productos secundarios de la oxidación de naturaleza volátil (aldehídos, cetonas, ésteres de ácidos grasos).

Se ha reportado el empleo de la SPME para el análisis de compuestos volátiles responsables del olor en aceites vegetales y aceite de hígado de raya. Los resultados de estas investigaciones han mostrado que el empleo de las fibras de Carboxen, presentan la ventaja de incrementar la sensibilidad de la SPME. Por otra parte, un importante número de compuestos secundarios de oxidación han sido aislados e identificados por la SPME unida a la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS). En la actualidad, la SPME unida a la GC-MS representa una nueva alternativa para un monitoreo eficiente de los cambios de la calidad asociados a la oxidación de los lípidos.

Palabras claves: HUFA, SPME, oxidación de ácidos grasos

Introducción

Los lípidos, en especial sus componentes fundamentales, los ácidos grasos, son nutrientes altamente necesarios para el correcto desarrollo del pez. El alto nivel de insaturaciones de los aceites de pescado, los hacen una presa fácil de la auto-oxidación, compleja reacción química capaz de producir compuestos potencialmente tóxicos.

Las afectaciones que representa el consumo de aceites oxidados para la salud de las especies en cultivo, ha despertado gran interés en el estudio del proceso de oxidación de los aceites. En este artículo, se hace una revisión de las técnicas analíticas utilizadas en la determinación de la oxidación de los lípidos, en particular, la micro-extracción en fase sólida (SPME) unida a la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS), nueva herramienta para el control de la calidad de los alimentos utilizados en la acuicultura.

Papel de los Ácidos Grasos Altamente Insaturados (Hufa) N-3 y N-6 en la Nutrición del Pez

Los lípidos son una importante fuente de energía y ácidos grasos esenciales (EFA) necesarios para el crecimiento y desarrollo de los organismos acuáticos. Los peces no son capaces por síntesis *de novo* producir tanto el 18:2 (n-6) como el 18:3 (n-3), por lo que tiene que ser obtenidos de la dieta (Willis, 1987). Por otra parte, la capacidad de los peces de convertir los ácidos grasos insaturados de 18 átomos de carbono en sus homólogos de cadena larga, varía considerablemente entre especie (Owen et al., 1975). Por lo anterior, los requerimientos de EFA se encuentran muy relacionados con su capacidad de modificar esos ácidos grasos por la vía metabólica.

Los ácidos grasos esenciales se encuentran formando parte de los fósfolípidos de las biomembranas. Las biomembranas necesita mantener su fluidez a diferentes temperaturas,

lo que se logra a través de un apropiado balance de los ácidos grasos saturados e insaturados que las componen (Bell et al., 1986). De igual forma los ácidos grasos participan como precursores en la síntesis de los eicosanoides, compuestos derivados por vía enzimática de los ácidos de 20 átomos de carbono HUFA (Yehuda et al., 1997).

En general, se aprecia que los organismos de agua dulce requieren en su dieta de los ácidos linoléico (18:2 n-6), linolénico (18: 2 n-6) o ambos, mientras que las especies de agua salada presentan requerimientos de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) (20:5 n-3) y docosahexaenoico (DHA) (22:6 n-3), ya que presentan deprimida su capacidad de obtener estos por elongaciones y desaturaciones sucesivas del 18:3 n-3 (Tacon, 1987).

Sobre los requerimientos de diferentes especies de ácidos grasos se ha reportado que el ayu, bagre del canal y trucha arco iris requieren el 18:3 n-3 o EPA y/o DHA. La carpa común y la anguila japonesa presentan requerimientos de una mezcla de 18:2 (n-6) y 18:3 (n-3); mientras que la tilapia del Nilo requiere solo del 18:2 (n-6) para un máximo crecimiento y eficiencia alimenticia. Sin embargo, la lubina estriada (*Morone saxatilis*), requiere de HUFA n-3 ya que no puede elongar y desaturar el 18:3 (n-3) (Committee on Animal Nutrition a, 1999).

Dentro de las manifestaciones fundamentales de una deficiencia de EFA en los peces se encuentran afectaciones dérmicas, síndrome de shock, miocarditis, baja velocidad de crecimiento, pobre eficiencia alimenticia e incremento de la mortalidad. Para la carpa común y la trucha arco iris las deficiencias en EFA también dan lugar a reducir su capacidad reproductiva (Committee on Animal Nutrition b, 1999).

Toxicidad de los Ácidos Grasos Insaturados

Las harinas y aceites de pescado son componentes principales de las dietas de los peces en cultivo, productos que se producen principalmente a partir de especies pelágicas como la

anchoveta, sardina y capelin, las que se caracterizan por su elevado contenido de aceite rico en HUFA.

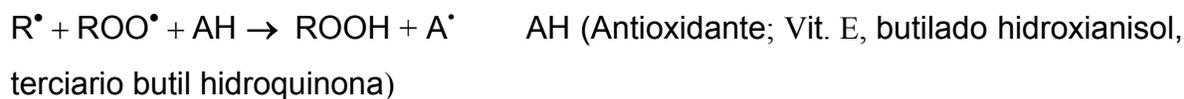
Se ha podido apreciar, que la ausencia de antioxidantes en los alimentos para la acuicultura, permite el desarrollo de la auto-oxidación de los lípidos cuando existe la presencia de: lipoxidasas (fríjol de soya materia prima), hemocompuestos (mioglobina, hemoglobina, prooxidantes de las harinas de carne y pescado), peróxidos (producto de la auto-oxidación de los lípidos), luz (UV- formación de radicales libres/ singlete de oxígeno), incremento de la temperatura (velocidad de la reacción) y elementos trazas (Fe y Cu se han encontrado que aceleran la oxidación de los lípidos por la transferencia electrónica directa en la reacciones redox, mientras que el Zn induce la descomposición de los hidroperóxidos a radicales libres (Tacon, 1992).

La auto-oxidación de los lípidos insaturados del aceite de pescado, genera un gran número de compuestos químicos, incluyendo radicales libres, peróxidos, hidroperóxidos, aldehídos y cetonas. Estos compuestos pueden ser tóxicos para el pez o reaccionar con otros componentes nutricionales como la vitamina E reduciendo su valor nutricional (Committee on Animal Nutrition b, 1999). Entre las señales de tipo anatómico patológicas reportadas en peces alimentados con aceites oxidados se encuentran: pobre crecimiento, pérdida del apetito, distrofia muscular, absorción reducida de los lípidos dietéticos y alta mortalidad (Tacon, 1992).

Breve Revisión del Mecanismo de Autoxidación de los Lípidos

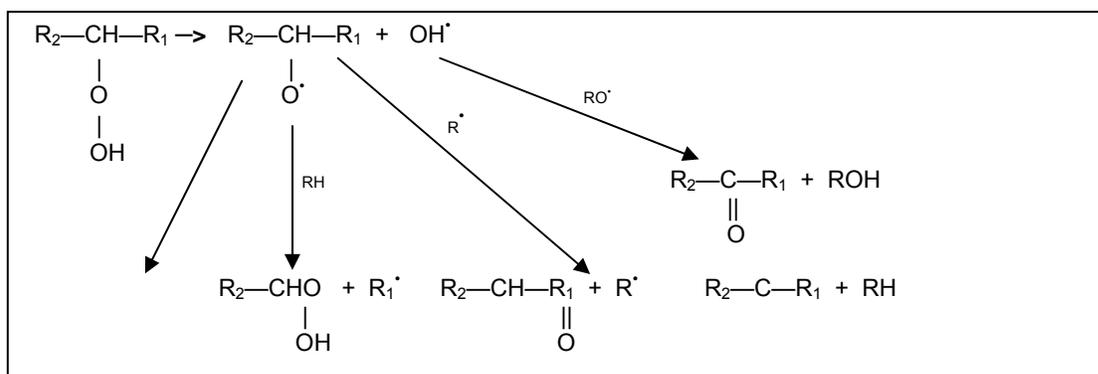
La oxidación de los lípidos en los alimentos empleados en la acuicultura, causa una considerable reducción en la calidad de estos. El deterioro oxidativo se debe a la peroxidación de los componentes insaturados de los aceites, siendo la auto-oxidación, complejo conjunto de reacciones de naturaleza auto-catalítica, una de las vías más importante de adición del oxígeno a los lípidos.

que estabiliza al compuesto formado. Otra vía de que concluya la auto-oxidación es que cualquier clase de radical libre alquílico del lípido R^\bullet reaccione con un radical libre lipídico peroxi ROO^\bullet dando lugar a una especie relativamente estable, no-iniciadora y no-propagadora. De forma similar dos radicales libres alquílicos R^\bullet pueden unirse también.



Reacción de los productos primarios de oxidación

Los hidroperóxidos formados durante el proceso de auto-oxidación de los ácidos grasos insaturados y lípidos no son estables por lo que reaccionan de forma rápida bajo las condiciones para dar una serie de compuestos, los que tienen un extremadamente bajo umbral de detección sensorial. Se ha reportado como producto de descomposición de los hidroperóxidos compuestos carbonílicos, hidrocarburos, furanos sustituidos y alcoholes.

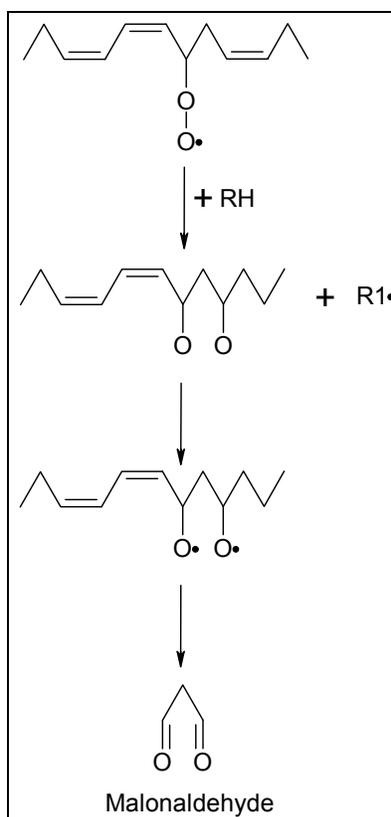


(Hamilton, 1999)

Una propiedad de un amplio grupo aldehídos es que son detectados por la vía sensorial a muy bajos niveles, lo que da lugar a la aparición de olores extraños durante la oxidación de los ácidos grasos. Se han evaluado las propiedades sensoriales de aldehídos como el

hexanal (olor grasoso, intenso, aceitoso), nonanal (olor grasoso, a cera, a pintura) (Morales et al., 1997) y 2, 4 heptadienal (olor a pintura, oxidado) (Karahadian y Lindsay, 1989). Se ha reportado una alta correlación entre el incremento en los niveles de estos aldehídos y el de oxidación para aceite de oliva (Morales et al., 1997) y de pescado (Karahadian y Lindsay, 1989).

Los aldehídos insaturados son a la vez fácilmente oxidables, produciéndose nuevos compuestos volátiles como el malonaldehído, cuya detección es utilizada como medida de la oxidación de los aceites. El malonaldehído constituye también un compuesto pro-desnaturalizante de las proteínas al promover el entrecruzamiento de dos grupos amino.



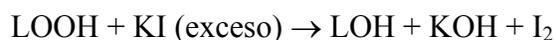
Métodos Tradicionales para la Determinación de la Oxidación

La oxidación de los lípidos constituye una de las causas fundamentales de la descomposición de los alimentos, ya que esta da lugar a olores extraños así como a compuestos potencialmente tóxicos.

La determinación de los niveles de oxidación de los aceites ha motivado por tanto el continuo desarrollo de técnicas analíticas que permitan monitorear el proceso de oxidación desde las fases iniciales. Entre las técnicas tradicionalmente más empleadas están el valor de peróxido, dienos conjugados y la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA).

Valor de peróxido

La formación de los peróxidos tiene lugar en las primeras etapas de la oxidación. Una de las formas para su determinación se basa en la capacidad que tienen estos compuestos de liberar I₂ cuando reaccionan con yoduro de potasio. En la técnica los lípidos se disuelven en un solvente orgánico apropiado adicionándose un exceso de KI.



Al final de la reacción, el yodo liberado se titula con una solución de tiosulfato de sodio utilizando almidón como indicador. La cantidad de tiosulfato consumida es proporcional a la cantidad de peróxidos presente en la muestra.



A pesar de ser uno de los métodos más empleados en el control de la oxidación de los lípidos, este presenta la desventaja que durante la reacción de oxidación de los lípidos los peróxidos se descomponen para dar paso a los productos secundarios de oxidación, por lo que bajos valores para este indicador pueden encontrarse tanto al inicio como al final de la reacción. Otra desventaja particular de la determinación yodimétrica es su alta dependencia

de las condiciones experimentales, entre otras, la temperatura, por lo que tiene que ser estandarizada antes de su empleo.

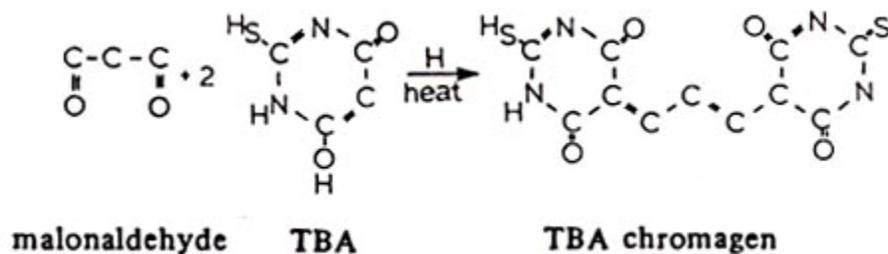
Dienos Conjugados

Al comienzo de la oxidación, posterior a la formación de los peróxidos, el reordenamiento de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados ($C=C-C-C=C$), da lugar a la aparición de dienos conjugados ($C=C-C=C-C$).

La determinación de estos compuestos se fundamenta en que estos absorben la radiación ultravioleta en la longitud de 233 nm. Las muestras se disuelven en un solvente orgánico como el isooctano y se mide la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis. A medida que la reacción avanza, la absorbancia disminuye, ocasionado por el paso de los dienos conjugados a productos secundarios de oxidación, los que presentan una baja absorción a la radiación de 233 nm.

Prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA)

Una de las técnicas más utilizadas para medir el incremento de productos secundarios de oxidación es la prueba del ácido tiobarbiturico (TBA). El TBA se considera una técnica relativamente simple y presenta una elevada correlación con los resultados de la evaluación sensorial. Este método se basa en la reacción de una molécula de malonaldehído con 2 moléculas de TBA para formar un complejo coloreado malonaldehído-TBA, que puede ser cuantificado.



Las limitaciones que se han señalado a esta técnica son que es poco sensible a bajas concentraciones de malonaldehído, además otras sustancia pueden reaccionar (sustancias reactivas al TBA) como sacáridos y otros aldehídos lo que puede interferir con la reacción malonaldehído-TBA. De igual forma el malonaldehído puede reaccionar con las proteínas encontrándose menores niveles a los que corresponden con la oxidación presente. Esta técnica se considera especialmente útil cuando se requiere determinar el incremento de la oxidación en el tiempo.

Aplicación de la Micro-Extracción en Fase Sólida (Spme) Unida a la Cromatografía de Gases Acoplada A La Espectrometría de Masas (Gc-Ms) al Análisis de la Oxidación

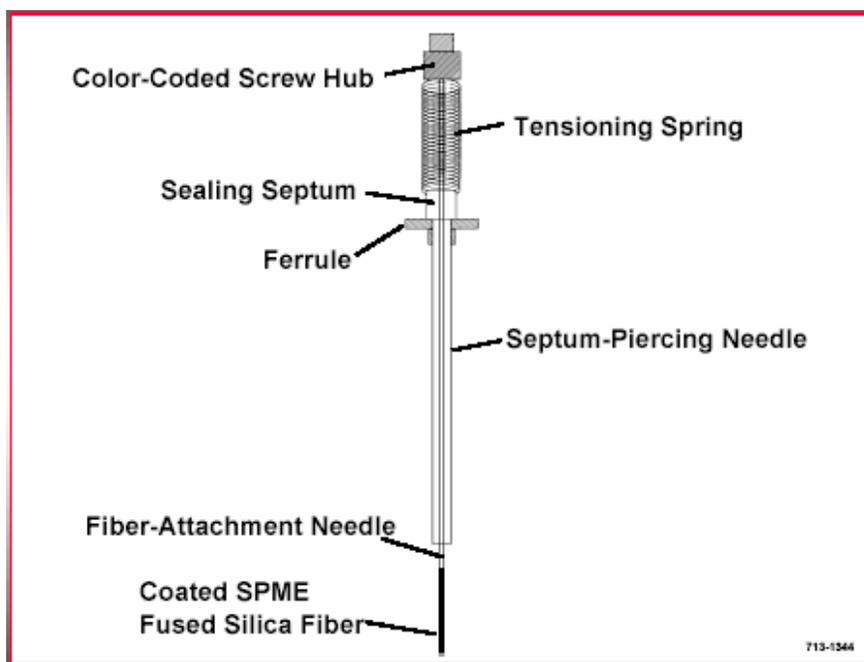
Una parte significativa de los productos secundarios de oxidación (aldehídos, cetonas, ésteres de ácidos grasos) tienen una naturaleza volátil, por lo cual, en los últimos años se han reportado diversas investigaciones acerca de la determinación de estos compuestos mediante el empleo de GC-MS. El alto grado de resolución y sensibilidad alcanzado mediante el uso de las columnas capilares en la GC ha permitido la detección de compuesto de oxidación en muy bajas concentraciones (Morales et al., 1997), lo que representa una importante ventaja sobre las técnicas tradicionales.

Dentro de los métodos empleados en el estudio de los compuestos volátiles se encuentran la destilación/extracción simultanea (Le Guen et al., 2000), headspace estático (Girard y Nakai, 1993) y dinámico (Pino et al., 1998; Refsgaard et al., 1999). En los aceites de

Navarro-García G., Bringas-Alvarado, L. y Pacheco-Aguilar, R. 2004. Nueva Herramienta para el Estudio de la Oxidación de los 490 Ácidos Grasos, una de las Causas Fundamentales de la Pérdida de Calidad de los Alimentos para la Acuicultura. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

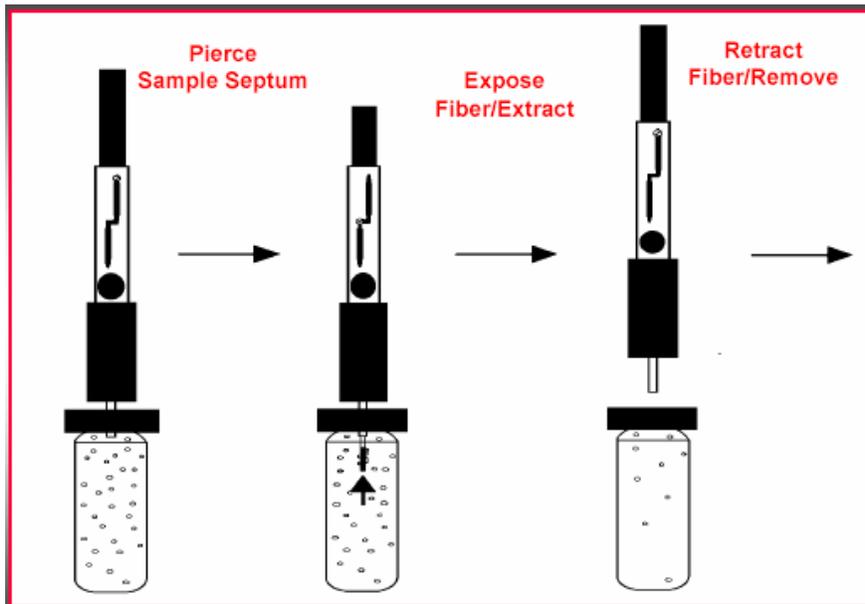
pescado se ha reportado principalmente la utilización del headspace dinámico (Hsieh et al., 1989; Karahadian y Lindsay, 1989, 1990; Lin et al., 1990; Røbæk y Jensen, 1997). La SPME (Zhang et al., 1994) ha sido incorporada a las técnicas existentes para el análisis de compuestos volátiles en alimentos, presentando la ventaja de que el equipo requerido para su uso resulta relativamente sencillo. La base de esta técnica es la partición de los compuestos volátiles de la muestra en un soporte sólido (Lord y Pawliszyn, 2000), lo cual se logra exponiendo una fibra de silica fundida con un recubrimiento especial a los vapores o headspace de la muestra o sumergida en la misma, posteriormente la fibra es insertada en el inyector del cromatógrafo de gases, donde los compuestos volátiles atrapados son desorbidos.

SPME Fiber Assembly Detail (Manual)



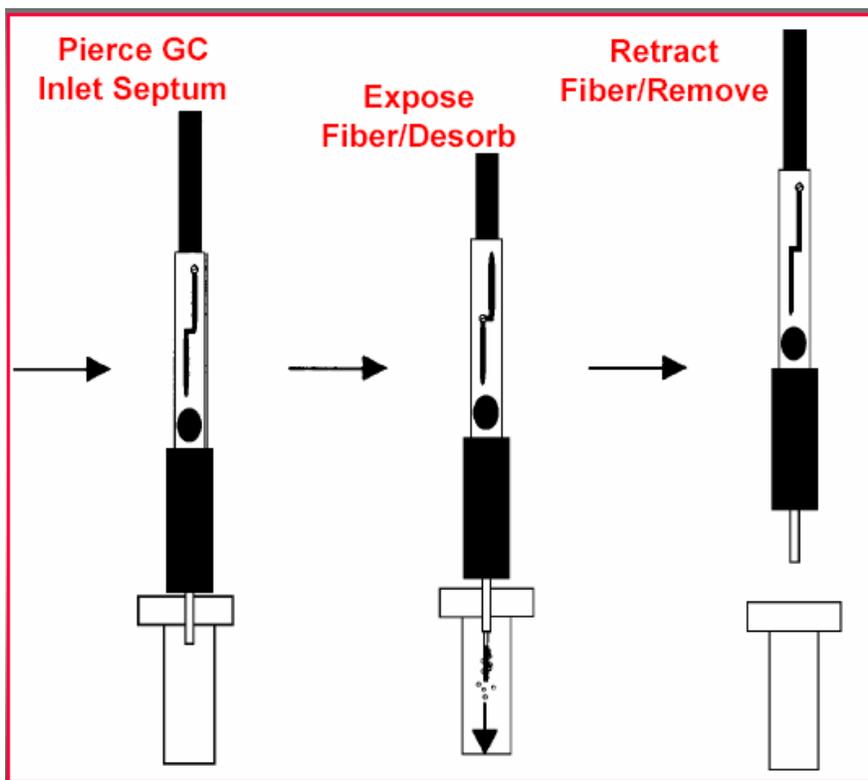
(Mindrup and Shirey, 1999)

Extraction Procedure for SPME



(Mindrup and Shirey, 1999)

Desorption Procedure for SPME



(Mindrup and Shirey, 1999)

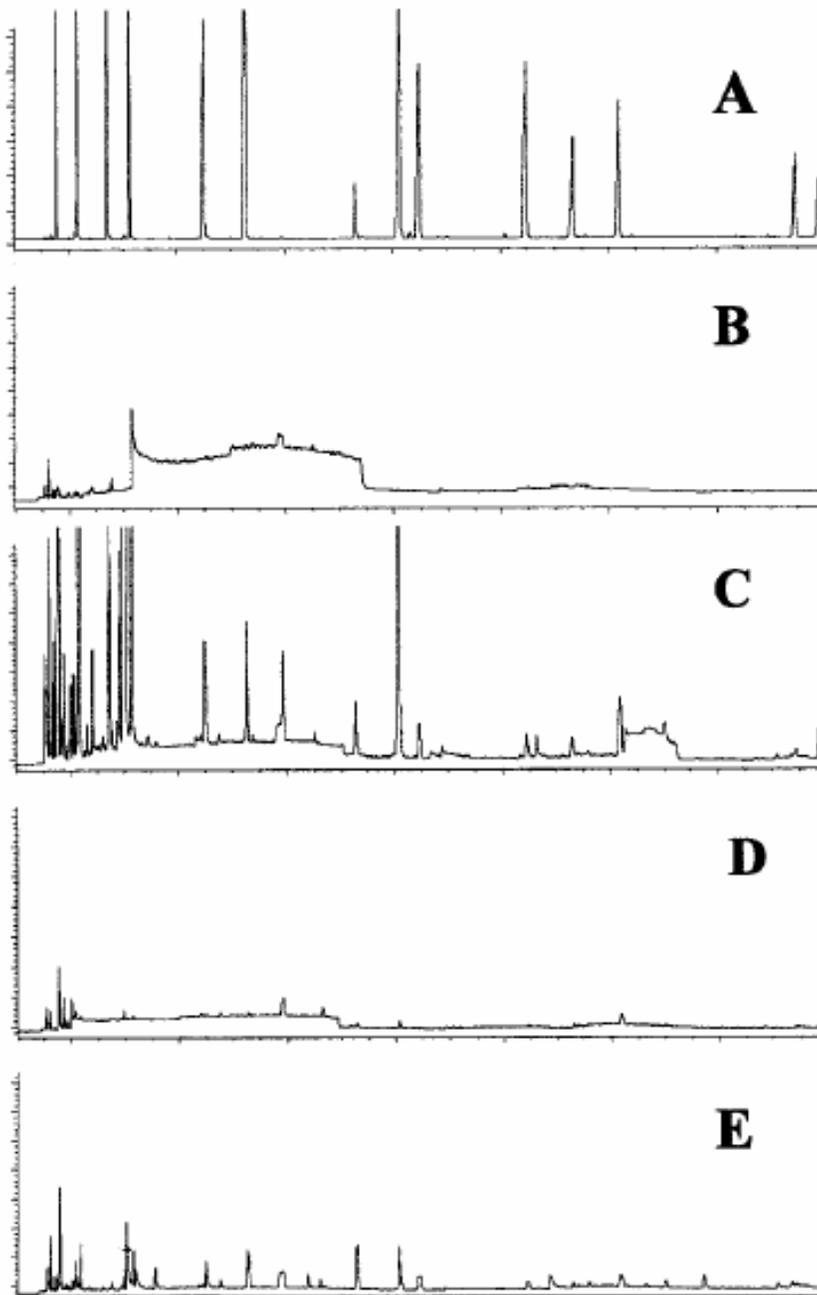
La posibilidad de emplear diferentes compuestos químicos para recubrir las fibras hacen posible cambiar la selectividad de la misma de acuerdo a la naturaleza de los compuestos que van a ser analizados. Esta propiedad ha permitido expandir las aplicaciones de la SPME de manera considerable. El uso de la SPME para el análisis de los compuestos responsables del olor en aceites vegetales importante componente de los alimentos consumidos en la acuicultura, ha sido reportado por Keszler et al., 1998; Keszler y Héberger, 1999; Keszler et al., 2000; Jelen et al., 2000.

Para garantizar el éxito en la aplicación de la SPME, es necesario antes de proceder al análisis de la muestra, definir el tipo de fibra que se va a emplear, el volumen de la muestra, así como la temperatura y tiempo de muestreo. Keszler y Héberger, (1999), estudiaron la influencia de diferentes parámetros en la eficiencia de la SPME para el análisis de aldehídos, producidos por la oxidación de aceite de girasol. El resultado de las investigaciones realizadas mostraron que el tipo de fibra más adecuado era 100µm poli (dimetilsiloxano). Por otra parte, ellos no encontraron diferencias apreciables entre la relación líquido/ volumen del headspace, por lo que seleccionaron una relación de 1:1. Es conocido, que los compuestos de oxidación de los lípidos tienen una naturaleza lipofílica, por lo que resulta necesario calentar la muestra para enriquecer el headspace en ellos. Los autores encontraron que calentando a 40°C durante 30 minutos se lograba un buen atrapamiento de los compuestos volátiles.

Jelen et al., (2000), llevaron a cabo una interesante investigación a cerca de la aplicación de la SPME al análisis de los compuestos volátiles formados durante la peroxidación del aceite de semilla de colza. Para seleccionar el tipo de fibra más adecuado para la realización del análisis, compararon la eficiencia en absorben la mayor cantidad de compuestos volátiles de cuatro tipos, 85µm poli (dimetilsiloxano) (PDMS), 100µm poli (dimetilsiloxano) (PDMS), carbowax/divinilbenceno (CW/DVB) CW y divinilbenceno/carboxen en poli (dimetilsiloxano) (DVB/CAR/PDMS). Las fibras fueron expuestas al headspace de la muestra de aceite de semilla de colza fresco y refinado, al que se le agregaron una mezcla de los siguientes compuestos:

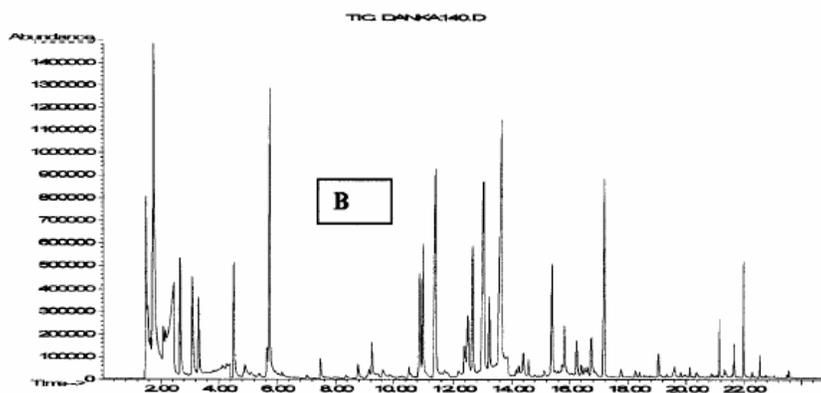
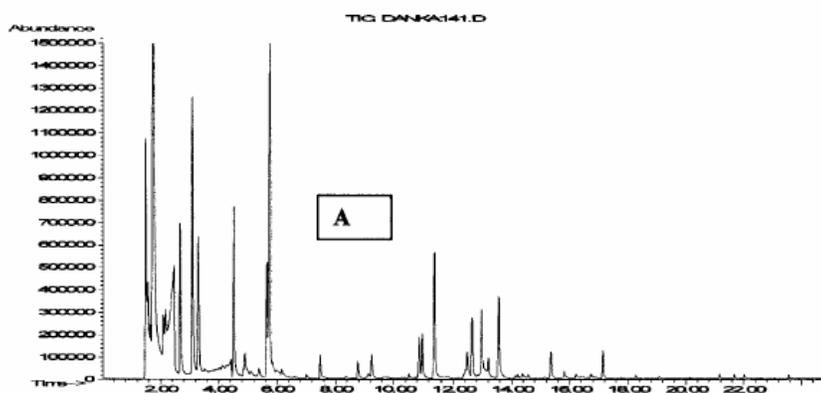
n-pentano, 2-butanona, n-butanol, pentanal, pentanol
hexanal, 2-heptanona, heptanal, 2-heptenal,
1-octen-3-ol octanal, 2-nonanona, nonanal, trans, trans-2, 4-decadienal

Los resultados mostraron que las fibras recubiertas con Carboxen tuvieron un mejor desempeño, caracterizado por una mayor sensibilidad. Fue seleccionada la fibra de DVB/CAR/PDMS, dado que ofreció los más bajos límites de detección y una linealidad satisfactoria aún en los casos en que la cuantificación fue realizada en un amplio rango de concentraciones.

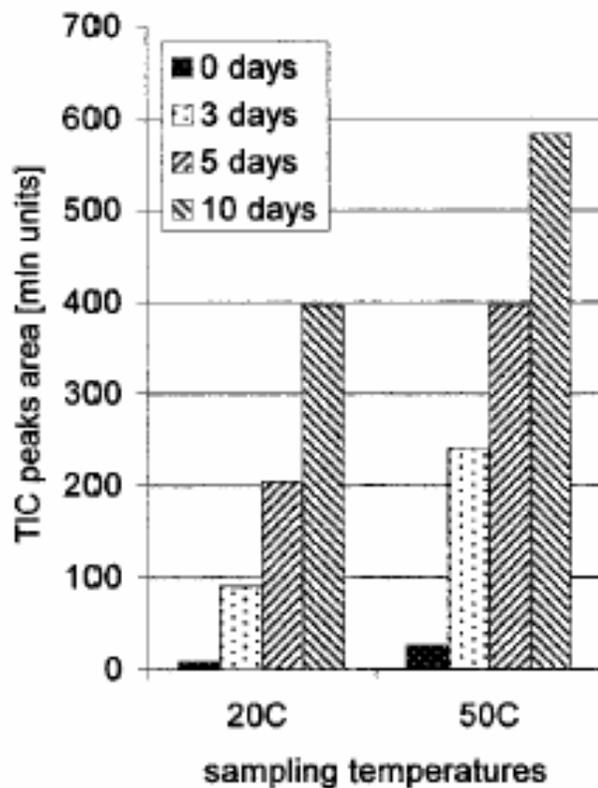


Chromatogram of freshly refined rapeseed oil spiked with 10 $\mu\text{g/L}$ of each standard compounds obtained using various fibers (B-E); (A) chromatogram of standards at 10 mg/L; (B) PA fiber; (C) DVB/CAR/PDMS fiber; (D) PDMS fiber; (E) CW/DVB fiber. For the clarity of presentation decadienal peak eluting as the last has not been shown. The intensity scale in chromatograms B-E is the same. (Jelen et al., 2000)

El estudio del efecto del calentamiento sobre la eficiencia en la extracción de los compuestos volátiles, mostró que cuando las muestras fueron calentadas a 50°C se incrementó en gran medida la cantidad de compuestos extraídos, respecto a la temperatura de 20°C. Los autores señalan que el calentamiento de la muestra debe utilizarse en los casos en que el objetivo sea el estudio del incremento de los volátiles en el tiempo durante la oxidación.



Total ion chromatograms (TIC) of volatile compounds extracted with DVB/CAR/PDMS fiber from cold-pressed rapeseed oil, stored at 60 °C for 10 days. (A) TIC of compounds extracted at 20 °C; (B) TIC chromatogram of compounds extracted at 50 °C. (Jelen et al., 2000).



Total volatile compounds (expressed as peaks area in integrator units) of cold-pressed rapeseed oil sampled after 0, 3, 5, and 10 days of storage at 60 °C. Volatiles were sampled using DVB/CAR/PDMS fiber at 20 and 50 °C for 30 min. mln = million. (Jelen et al., 2000)

La aplicación de la SPME a 50°C junto a la GC-MS mostró la presencia de 56 compuestos volátiles en el aceite de semilla de colza almacenado a 60°C durante 10 días. Los aldehídos fueron la fracción mayoritaria constituyendo el 38% de los componentes volátiles. Los aldehídos fundamentales fueron el nonanal, octanal ambos derivados de la oxidación del ácido oleico, ácido mas abundante en el aceite de semilla de colza. De igual forma fue detectado el hexanal, producto secundario de la oxidación del ácido linoleico. De la oxidación del ácido linolenico se encontró la presencia del 2,4 heptadienal y el 2-pentenal.

Major Volatile Compounds Isolated from
 Refined and Cold-Pressed Rapeseed Oil Using SPME at
 50 °C_a (Jelen et al., 2000)

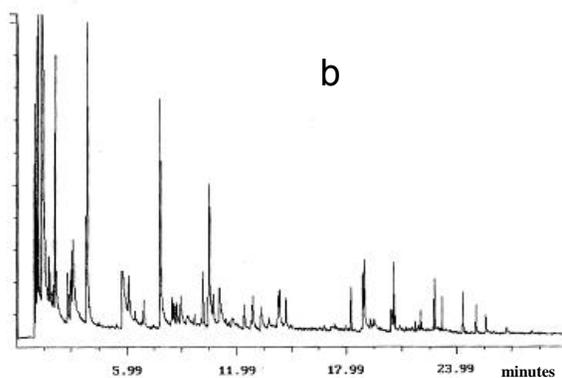
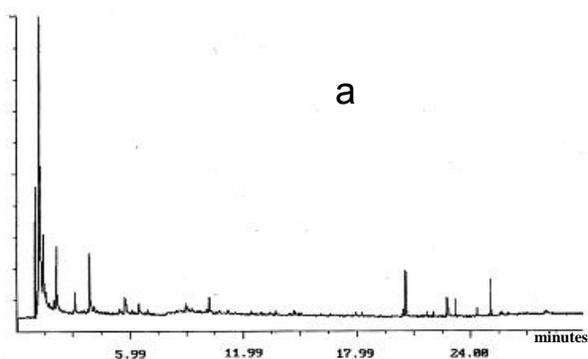
<i>T_r</i> (min)	compd	refined	cold-pressed
1.75	pentane ^b	+	+
2.16	butanal ^b	+	+
2.45	acetic acid ^b	+	+
2.66	2-butenal ^b	+	+
3.08	unidentified	+	+
3.30	2-ethyl furan ^b /pentanal ^b	+	+
4.37	propanoic acid	+	+
4.51	2-pentenal ^b	+	+
4.98	pentanol	+	-
5.65	octane ^b	+	+
5.75	hexanal ^b	+	+
6.45	unidentified	+	-
7.01	2,4-dimethyl 2-pentene	+	+
7.48	2-hexenal ^b	+	+
8.77	2-heptanone ^b	+	+
9.25	heptanal ^b	+	+
9.63	2,4-hexadienal	+	+
10.89	unidentified	+	+
11.00	unidentified	+	+
11.44	2-heptenal ^b	+	+
12.38	1-octene-3-ol ^b	+	+
12.50	6-methyl-5-hepten-2-one	+	+
12.67	2-pentyl furane ^b	+	+
12.88	6-methyl-5-hepten-2-ol	+	+
13.05	2,4-heptadienal	+	+
13.24	octanal ^b	+	+
13.66	2,4-heptadienal	+	+
14.41	unidentified	+	+
14.15	limonene	-	+
14.56	3-octen-2-one	+	+
14.86	hexanoic acid ^b	+	+
15.12	2(3h) 5-ethyl dihydrofuranone	+	+
15.39	2-octenal	+	+
15.82	unidentified	+	+
15.96	1-octanol	-	+
16.10	unidentified	+	-
16.30	unidentified	+	-
16.61	2-nonanone ^b	-	+
16.74	3,5-octadien-2-one	+	+
17.19	nonanal ^b	+	+
17.76	unknown	+	+
18.38	3-nonen-2-one	+	-
19.06	2-nonenal ^b	+	+
19.61	unidentified	+	-
19.71	unidentified	+	+
19.82	2-decanone ^b	+	+
19.96	unidentified	+	-
20.14	decanal	+	+
20.34	2,4-nonadienal	+	-
20.87	unidentified	+	+
21.15	2-decanal ^b	+	+
21.34	nonanoic acid	+	+
21.65	2,4-decadienal	+	+
21.99	2,4-decadienal ^b	+	+
22.28	unidentified	+	+
22.56	2-undecenal ^b	+	+

^aOils were stored in darkness, at 60 °C for 10 days. ^bIdentity of compounds confirmed by GC-MS analysis of standards, rest of compounds tentatively identified based on NIST mass spectra library search.

El aceite de pescado, es otro de los componentes fundamentales de los alimentos utilizados en la acuicultura. Su alto grado de insaturación lo hacen blanco fácil del proceso de oxidación, con la natural reducción de sus propiedades nutricionales para el pez. Navarro-García, (2002) reportó una nueva aplicación del la SPME, en este caso, al estudio de la

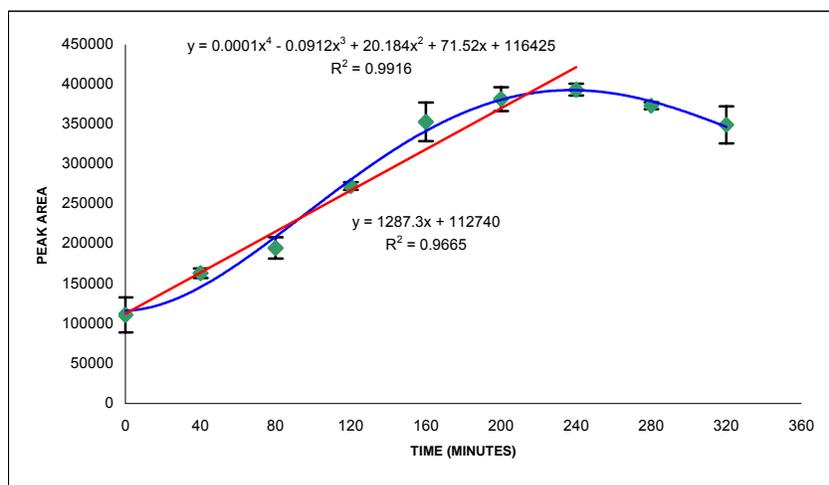
Navarro-García G., Bringas-Alvarado, L. y Pacheco-Aguilar, R. 2004. Nueva Herramienta para el Estudio de la Oxidación de los 498
 Ácidos Grasos, una de las Causas Fundamentales de la Pérdida de Calidad de los Alimentos para la Acuicultura. In: Cruz Suárez,
 L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII.
 Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

oxidación del aceite de hígado de raya. Fueron optimizadas las condiciones experimentales para la extracción de los compuestos volátiles, correspondiendo los mejores resultados a empleo de una fibra de 85 μm Carboxen/ poli (dimetilsiloxano) y una temperatura de extracción de 60°C durante 20 minutos. Posteriormente se llevó a cabo la oxidación acelerada durante 320 minutos del aceite de hígado de raya tomándose muestras periódicamente de este. Se pudo apreciar un notable incremento en el perfil de volátiles al final de la oxidación del aceite.

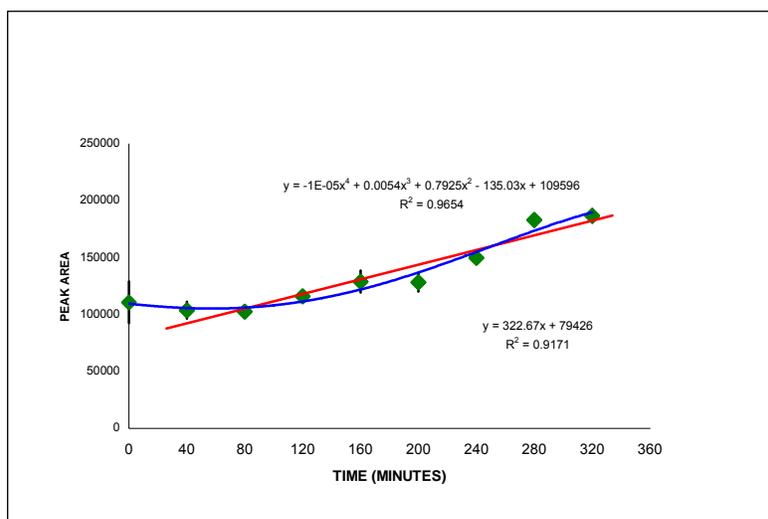


Volatile compound profile of the fresh ray liver oil **(a)**
and after 280 minutes of accelerated oxidation **(b)**

28 componentes fueron identificados mediante el uso de la SPME combinada a la GC-MS. Entre los aldehídos detectados se encontraron el hexanal, 2,4 hexadienal, los que presentaron una distribución lineal en el tiempo, razón por la cual su determinación puede constituir una nueva herramienta para el monitoreo de la oxidación en el aceite de hígado de raya.



Hexanal content vs. oxidation time (polynomial fit from 0-320 min; lineal fit from 0-240 min.)
(Navarro-García, 2002)



2, 4-hexadienal content vs. time (polynomial fit 0-320 min; lineal fit from 40-320 min.)
(Navarro-García, 2002)

Conclusiones

Navarro-García G., Bringas-Alvarado, L. y Pacheco-Aguilar, R. 2004. Nueva Herramienta para el Estudio de la Oxidación de los Ácidos Grasos, una de las Causas Fundamentales de la Pérdida de Calidad de los Alimentos para la Acuicultura. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

Diferentes investigaciones han demostrado el importante papel de los HUFA procedentes de los aceites de pescado en la nutrición de los organismos acuáticos. Esta clase especial de ácidos grasos, presenta como desventaja su elevada facilidad de oxidación, lo que es causa de importantes cambios en la salud de las especies en cultivo.

Se han señalado limitaciones a las técnicas analíticas tradicionalmente empleadas en el control de la oxidación de los aceites, como ocurre con la prueba del TBA a la que se le señalan su no especificidad y bajo sensibilidad para la detección de bajos niveles de malonaldehído.

En la búsqueda de nuevos métodos de análisis se reporta la aplicación de la SPME unida a la GC-MS en la detección de compuestos volátiles producto de la oxidación de los ácidos grasos insaturados de los aceites. Su capacidad de realizar la determinación individual de los componentes generados, aún en muy bajas concentraciones, auguran que su empleo permitirá un control mas efectivo, de los cambios de calidad ocasionados por la oxidación de los alimentos para la acuicultura.

Referencias

- Bell, M. V., R. J. Henderson y Sargent, J. R. (1986) The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 83B: 711-719.
- Committee on Animal Nutrition, a (1999). Dietary requirements. In: *Nutrient requirements of fish*. (ed. by Committee on Animal Nutrition) National Academy Press, Washington, D.C. p 13
- Committee on Animal Nutrition, b (1999) Oxidation of dietary lipids. In: *Nutrient requirements of fish*. (ed. by, Committee on Animal Nutrition) National Academy Press, Washington, D.C. p 41
- Girard, B. y Nakai, S. (1993) Species differentiation by multivariate analysis of headspace volatile patterns from canned pacific salmon. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2**, 51-67.
- Hamilton, R. J. (1999) The chemistry of rancidity in foods. In: *Rancidity in Foods* (ed. by J. C. Allen and R. J. Hamilton), pp. 1-21. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Hsieh, T.C.-Y., Williams, S.S., Vejaphan, W. y Meyers, S.P. (1989) Characterization of volatile components of menhaden fish (*Brevoortia tyrannus*) oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**,114-117.

- Jeleń, H.H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak y Wasowics, E. (2000) Headspace solid-phase microextraction of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2360-2367.
- Karahadian, C. y Lindsay, R.C. (1989) Evaluation of compounds contributing characterizing fishy flavors in fish oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 953-960.
- Karahadian, C. y Lindsay, R.C. (1990) Low temperature deodorizations of fish oils with volatile acidic and basic steam sources. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **67**, 85-91.
- Keszler, Á y Héberger, K. (1999) Influence of extraction parameters and medium on efficiency of solid-phase microextraction sampling in analysis of aliphatic aldehydes. *J. Chromatogr. A* **845**, 337-347.
- Keszler, Á, Héberger, K. y Gude, M. (1998) Identification of volatile compounds in sunflower oil by headspace SPME and ion trap GC-MS. *J. High Resolut. Chromatogr.* **21**, 368-370.
- Keszler, Á, Kriska, T. y Németh, A. (2000) Mechanism of volatile compounds production during storage of sunflower oil. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 5981-5985.
- Le Guen, S., Prost, C. y Demaimay, M. (2000) Critical comparison of the three olfactometric methods for the identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). *J. Agric. Food Chem.* **48**, 1307-1374.
- Lin, C.F., Hsieh Lin, C.F., Hsieh, T.C.Y., Crowther, J.B. y Bimbo, A.P. (1990) Efficiency of removing volatiles from menhaden oils by refining, bleaching, and deodorization. *J. Food Sci.* **55**, 1669-1672.
- Lord, H y Pawliszyn, J. (2000) Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A* **885**, 153-193.
- Mindrup; R. F. y Shirey, R. E. (2001) Improved Performance of SPME Fibers and Applications. Supelco T 401042.
- Morales, M. T., Rios, J. J. y Aparicio, R. (1997) Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-favors. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2666-2673.
- Navarro-García, G. (2002) Elasmobranquios del golfo de California como fuente de aceite para consumo humano.- Obtención, caracterización y establecimiento de índices de calidad a partir de sus componentes volátiles. Tesis de Doctorado.
- Owen, J. M., J. W. Adron, C. Middleton, y C. B. Cowey (1975) Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids* **10**: 528-531.
- Pino, J., Martí, M. P., Mestres, M., Pérez, J., Busto, O. y Guasch, J. (2002) Headspace solid-phase microextraction of higher fatty acid ethyl esters in white rum aroma. *J. Chromatogr. A* **954**, 51-57.
- Refsgaard, H. H. H., Haahr, A. y Jensen, B. (1999) Isolation and quantification of volatiles in fish by dynamic headspace sampling and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1114-1118.
- Rørbæk, K. y Jensen, B. (1997) Optimizing headspace sampling temperature and time for analysis of volatile oxidation products in fish oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **74**, 1607-1609.

- Tacon, G.J. (1987) The Nutrition and feeding of farmed fish and shrimp-a training manual 1. The Essential Nutrients. FAO, field doc. 2, 21-28.
- Tacon, G.J., (1992) Oxidation of dietary lipids. In: *Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish*. FAO Fish Technical Paper. No. 330. Rome, FAO. 75 p.
- Wickens J.F. (1972) The food value of brine shrimp, *Artemia salina* L., to larvae of the prawn, *Palaemon serratus* Pennant. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **10**, 151-170.
- Willis, A.L. (1987) *Handbook of Eicosanoids: Prostaglandins and Related Lipids. Vol. I. Chemical and Biochemical Aspects. Part A*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 314 pp.
- Yehuda, S., Rabinovitz, S. y Mostofsky, D.I. (1997) In: *Handbook of Essential Fatty Acid Biology: Biochemistry, Physiology, and Behavioral Neurobiology* (ed.by Yehuda, S., Mostofsky, D.I) Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 427-452.
- Zhang, Z., Yang, M. y Pawliszyn, J. (1994) Solid Phase Microextraction: A New Solvent-Free Alternative for Sample Preparation. *Anal. Chem.* **66**, 844A-853A.