

## Deterioro del aceite durante el almacenamiento de los hígados de merluza en comparación con el del aceite extraído de ellos

By M. A. Grompone\*, M. T. Pagano, Y. Pinchak y R. Harispe

Laboratorio de Grasas y Aceites, Facultad de Química, General Flores 2124, Montevideo, Uruguay. E-mail: mgrompon@fq.edu.uy

### RESUMEN

**Deterioro del aceite durante el almacenamiento de los hígados de merluza en comparación con el del aceite extraído de ellos.**

Los hígados de merluza (*Merluccius hubbsi*) son un subproducto de la industria fileteadora y se utilizan como fuente de aceite. En este trabajo se estudia el aceite contenido en dichos hígados durante su almacenamiento a 4°C y a -20°C frente a la del aceite extraído de ellos y guardado en iguales condiciones. El aceite contenido en los hígados almacenados a -20°C, se oxida en un par de semanas; el aceite extraído de ellos y almacenado en iguales condiciones se conserva durante varios meses. El problema principal radica en que, una vez que el aceite se deteriora en los hígados, no es posible estabilizarlo por el agregado de antioxidantes.

Para obtener un aceite de buena calidad es imprescindible que los hígados se almacenen a una temperatura menor de -20°C, que su aceite se extraiga lo antes posible, que se le agregue de antioxidantes adecuados y que se le almacene refrigerado.

**PALABRAS-CLAVE:** Aceite de hígado de merluza - Deterioro oxidativo - Enranciamiento

### SUMMARY

**Comparative study of oil deterioration during the storage of hake liver and its oil.**

Hake liver (*Merluccius hubbsi*) is a by-product of the fillet industry and is used as a source of oil. In the present paper the oil content of livers stored at 4°C and -20°C is studied compared to that of the oil extracted from livers and stored under the same conditions. Oil contained in livers stored at -20°C was oxidized in two weeks; the oil extracted from livers and stored under the same conditions was preserved for several months. The problem is that once the oil becomes deteriorated in livers it is not possible to stabilize it by adding antioxidants. Thus it is necessary to store livers at temperatures lower than -20°C, to extract the oil as soon as possible, to add the correct antioxidants and to store it under refrigeration, in order to obtain a high quality oil.

**KEY-WORDS:** Hake liver oil - Oxidative deterioration - Rancidity.

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los recursos pesqueros más explotados en el Uruguay es la merluza (*Merluccius hubbsi*), la que se encuentra distribuida en el Río de la Plata y en el Océano Atlántico Sudoccidental. La industria del fileteado de merluza es importante: los filetes congelados se comercializan en el mercado interno y se

exportan. Los hígados son un subproducto que se suele desechar.

Los hígados de esta especie de merluza son relativamente grandes ya que representan un 7% del peso del pescado entero. Como en la mayoría de los peces, el hígado es el órgano de depósito de los lípidos y éstos contienen entre 35% y 60% en peso de un aceite muy rico en ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3 (Rodríguez *et al.*, 1993; Grompone, 1992). De acuerdo con Méndez y Grompone (1993), los pesos de los hígados de merluza adulta sufren importantes variaciones según la estación del año (entre 33 y 58 gramos), las que se deben, fundamentalmente, a cambios en su contenido lipídico (entre 14 y 35 gramos de aceite por hígado).

El aceite de los hígados de merluza es relativamente fácil de extraer por centrifugación, sin la utilización de solventes o cocimiento con vapor (Bimbo, 1990; Méndez *et al.*, 1996), lo cual podría asegurar su calidad nutricional. Sin embargo, como los hígados se almacenan congelados y recién un tiempo después (de extensión variable) se extrae su aceite, éste suele presentar un deterioro oxidativo importante, el que se evidencia sensorialmente (color, sabor y olor) y analíticamente. En consecuencia, es de interés industrial y nutricional la optimización de las condiciones de almacenamiento tanto de los hígados como del aceite extraído de ellos.

El objetivo de este trabajo radica en el estudio del deterioro de los hígados de merluza almacenados a 4° C (en heladera) y a -20° C (en congelador), en comparación con el deterioro del aceite extraído de ellos y conservado en iguales condiciones. También se determina la protección que le imparte al aceite el agregado de antioxidantes.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Dado el tamaño relativamente pequeño de los hígados, no es posible realizar un estudio completo sobre el deterioro del aceite utilizando el órgano extraído de un único espécimen de merluza. En consecuencia, se optó por utilizar un número suficientemente grande de hígados y desintegrarlos parcialmente por medios mecánicos, de modo de formar una muestra que pudiera ser considerada

como representativa para todos los ensayos. Dicha muestra media de los hígados se dividió en dos partes. Una parte se guardó como tal, la mitad en heladera (4 °C) y el resto en congelador (-20 °C). A la otra parte se le extrajo el aceite y éste se guardó, la mitad en heladera (4 °C) y el resto en congelador (-20 °C).

Al aceite extraído de una toma de la muestra media de los hígados se le determinó el índice de peróxidos (I. P.) por el método Cd 8-33, el índice de p-anisidina (I. A.) por el método Cd 18-90 y la composición en ácidos grasos por cromatografía de gases (método Ce 2-66) de los ésteres metílicos obtenidos por el método Ce 1-62 (A.O.C.S., 1987). Estos valores se usaron como referencia y, arbitrariamente, se denominó ese tiempo como cero o inicial.

Las muestras de los hígados parcialmente desintegrados y los aceites, ambos conservados en heladera y en congelador, se analizaron según el siguiente cronograma:

- Semanalmente, a una toma de la muestra media de hígados almacenada en heladera (4 °C), se le extrajo y analizó el aceite
- Mensualmente, a una toma de la muestra media de hígados almacenada en el congelador (-20 °C), se le extrajo y analizó el aceite contenido
- Mensualmente se analizó el aceite almacenado en heladera (4 °C)

- Trimestralmente se analizó el aceite almacenado en el congelador (-20 °C)

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

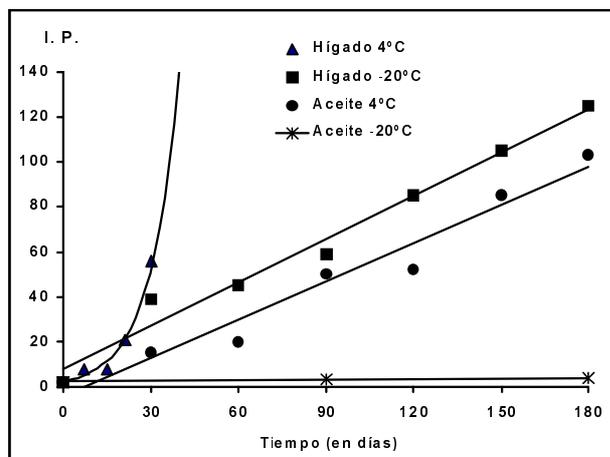
En la Tabla I se indica la composición inicial del aceite extraído de una toma de la muestra media de los hígados de merluza parcialmente desintegrados. Esta composición es similar a la determinada en otros trabajos (Méndez y Grompone, 1993; Rodríguez et al., 1993) y presenta la particularidad, ya encontrada en otros aceites uruguayos de origen marino (Grompone, 1990; Grompone, 1992; Méndez et al., 1992; Méndez et al., 1996; Méndez and González, 1997) de poseer un porcentaje considerablemente superior de DHA frente al de EPA.

Los resultados del análisis de dicho aceite se usaron como referencia. Sin embargo, se debe tener en cuenta que en los estudios de estabilidad pueden aparecer pequeñas discrepancias atribuibles a que los análisis se realizaron sobre tomas de una muestra media de hígados parcialmente desintegrados, cuya homogeneidad no podía ser perfecta.

En la Gráfica 1 se muestra la variación del índice de peróxidos (I. P.) y en la Gráfica 2, la variación del índice de p-anisidina (I. A.) correspondientes a los hígados y a los aceites almacenados a 4 °C y a -20 °C. (Los puntos experimentales fueron unidos por líneas de tendencia exponenciales o rectas, según mejor correspondiera).

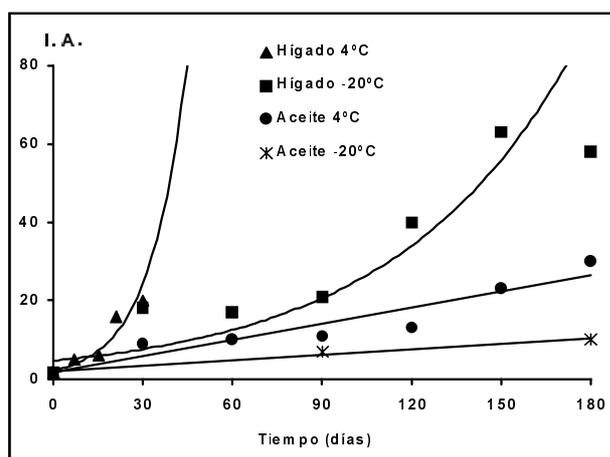
Tabla I  
Composición inicial del aceite extraído de la muestra media de hígados de merluza, expresada en función de los ácidos grasos principales

Ácido graso	Porcentaje
14:0	2.8
16:0	15.6
16:1	5.4
18:0	2.0
18:1 n-9	18.0
18:1 n-7	3.2
18:2 n-6	3.1
18:3 n-3	1.4
18:4 n-3	9.0
20:1 n-9	2.2
22:1 n-9	5.2
20:4 n-3	2.3
20:5 n-3	7.8
22:5 n-3	1.1
22:6 n-3	18.0



Gráfica 1

Variación del índice de peróxido (I. P.) de los hígados y de los aceites almacenados a 4 °C y -20 °C.



Gráfica 2

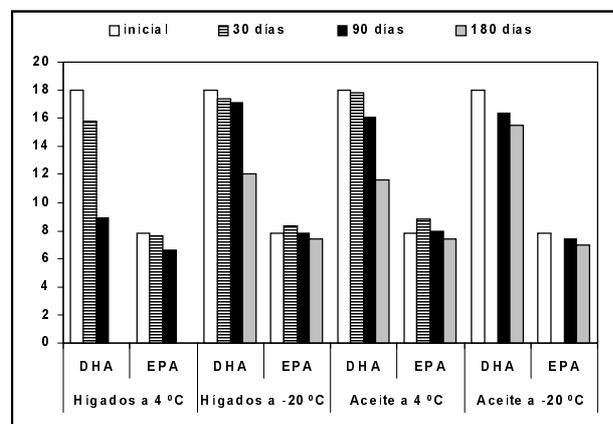
Variación del índice de p-anisidina (I. A.) de los hígados y de los aceites almacenados a 4 °C y -20 °C.

En todos los casos, el aumento del índice de peróxidos estuvo acompañado de un incremento del índice de p-anisidina, lo cual indica un deterioro oxidativo que alcanza etapas de enranciamiento secundario, lo que se manifiesta por la aparición de compuestos con funciones carbonilo (Frankel, 1998). Tal como era esperable debido a la dependencia de la cinética de las reacciones de oxidación con la temperatura, tanto en el aceite contenido en los hígados como en el aceite extraído de ellos, se produjo un deterioro oxidativo (determinado a través de ambos índices) más lento a la temperatura de almacenamiento menor. Por otra parte, a una misma temperatura de almacenamiento, el deterioro fue considerablemente más rápido para el aceite contenido en los hígados que para el extraído previamente de ellos. Resulta también importante considerar que el aceite contenido en los hígados que se almacenaron a -20 °C durante 6 meses sufrió un aumento importante tanto en el I. P.

como en el I. A. Dichos aumentos, inclusive, fueron mayores que los experimentados por el aceite conservado a 4 °C. Esto demuestra que, si bien la congelación de los hígados retrasa el deterioro del aceite, éste es importante aún con sólo un mes de almacenamiento.

En la Gráfica 3 se muestra la variación del porcentaje del ácido 20:5 (EPA) y del ácido 22:6 (DHA), durante el almacenamiento de los hígados y del aceite extraído de ellos, a las dos temperaturas consideradas. De acuerdo con estos resultados, el DHA aparece como más sensible al deterioro que el EPA, lo cual podría explicarse por su mayor grado de insaturación. Por ejemplo, el porcentaje de DHA del aceite contenido en los hígados almacenados a -20 °C durante 6 meses, disminuyó un 33% mientras que el EPA sólo un 5%. Como era de esperar, la disminución del DHA fue más lenta a la temperatura de almacenamiento menor. Por otra parte, a una misma temperatura, la disminución del DHA fue considerablemente más rápida en el aceite contenido en los hígados que en el extraído previamente, lo cual concuerda con el comportamiento relativo del I. P. y del I. A.

De los resultados anteriores se concluye que el almacenamiento de los hígados a 4 °C no detiene el deterioro oxidativo de su aceite, el cual ya es muy importante a los 15 días. Si bien el almacenamiento de los hígados a -20 °C mejora considerablemente la calidad de su aceite, es más eficiente el extraer el aceite de ellos y almacenarlo a temperaturas relativamente bajas (4 °C) o muy bajas (-20 °C). Estas diferencias tan importantes en la velocidad de alteración del aceite contenido en los hígados frente al del aceite extraído de ellos se podrían vincular con la presencia de distintos mecanismos de reacción. El deterioro del aceite extraído de los hígados y almacenado como tal, se debe al conocido mecanismo de autooxidación en presencia de oxígeno. Por el contrario, dicho mecanismo no puede explicar las mayores alteraciones sufridas por el aceite en los hígados.



Gráfica 3

Variación del contenido en EPA y en DHA de los hígados y del aceite conservados a 4°C y a -20°C.

Tabla II

**Índice de peróxido (I. P.), índice de p-anisidina (I. A.) y contenido (%) de la suma de DHA y de EPA de dos aceites de hígado de merluza comerciales (A y B), conservados durante 4 meses en heladera a 4 °C**

Meses	Aceite A			Aceite B		
	I. P.	I. A.	EPA + DHA (%)	I. P.	I. A.	EPA + DHA (%)
<b>0</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>25</b>	<b>12</b>	<b>4</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>24</b>	<b>76</b>	<b>25</b>	<b>26</b>

gados, especialmente si se considera que la difusión del oxígeno dentro de ellos es más dificultosa que en un líquido. En consecuencia, es probable la presencia de procesos enzimáticos en el propio tejido hepático. Como consecuencia, el almacenamiento de los hígados bajo atmósfera inerte tendría un muy escaso efecto protector adicional.

La literatura (German *et al.*, 1992; Nelson, 1996; Frankel, 1998) describe la presencia de lipoxigenasas en muchos tejidos y órganos. En particular, las branquias de los peces marinos y de agua dulce contienen dos lipoxigenasas, ambas activas frente a los ácidos poliinsaturados pero que adicionan hidroperóxidos en sitios diferentes. Estas dos enzimas no están igualmente distribuidas en todos los peces ni en todos los órganos. Probablemente el deterioro del aceite dentro de los hígados se deba a la presencia de lipoxigenasas las cuales, si bien presentan variaciones de actividad en función de la temperatura, no llegan a inactivarse a -20 °C (también su selectividad frente al sustrato podría explicar que disminuya más el contenido de DHA que el de EPA). Esta es una diferencia muy importante con la estabilidad de los filetes congelados durante su almacenamiento. Por ejemplo, la literatura indica (Pérez-Villarreal y Howgate, 1991) que el índice de peróxido alcanza solamente un valor de 18.9 en filetes de merluza europea (*Merluccius merluccius*) almacenados a -18 °C durante 39 semanas. Tal vez la diferencia radique en la escasa presencia de lipoxigenasas en los músculos, frente a la importancia de éstas en el hígado de los peces.

En la bibliografía se encuentran referencias a la imposibilidad de impedir la autooxidación de los aceites contenidos en alimentos de origen marino aún a temperaturas inferiores a -30 °C (Hsieh *et al.*, 1988; Wang *et al.*, 1991; Flick *et al.*, 1992; Frankel, 1998). Esto puede representar un serio problema a nivel de la producción pesquera ya que las merluzas se capturan en alta mar (especialmente en la zona común de pesca Uruguay-Argentina en el Océano Atlántico Sudoccidental) y se congelan, enteras, en los barcos. El aceite solamente puede ser extraído de los hígados una vez que los barcos llegan a tierra y los pescados se limpian y filetean, lo que puede significar un tiempo demasiado prolongado y variable, a los efectos del mantenimiento de su calidad.

El proceso industrial por el cual se obtiene el aceite de hígado de merluza consiste en su separación por centrifugación de los hígados enteros y posterior frigelización. En consecuencia, las condiciones de operación no son exactamente iguales a las del laboratorio, por lo que cabe esperar algunas diferencias en su comportamiento. Para confirmar la influencia de la calidad inicial sobre su estabilidad oxidativa se almacenaron dos aceites de hígado de merluza comerciales con distinto grado de deterioro (denominados A y B) durante 4 meses en heladera a 4 °C. Los resultados se informan en la Tabla II. El aceite B, con un índice de peróxido inicial de 12, sufrió un deterioro oxidativo (evaluado en función de los altos valores del I. P. y del I. A.) mucho mayor que el aceite A (con un índice de peróxido inicial de 2). A pesar de su evidente deterioro oxidativo, el aceite B no presentó una disminución del contenido en EPA + DHA.

Debido a la imposibilidad de extracción industrial del aceite contenido en los hígados en un plazo breve, se estudió el efecto del grado de deterioro de éste sobre la capacidad de un antioxidante. Estudios anteriores, realizados por medio del método del envejecimiento acelerado en un equipo RANCIMAT, habían demostrado que el TBHQ era uno de los antioxidantes más eficaces para el aceite de hígado de merluza (Rodríguez *et al.*, 1993). La literatura también informa que la vitamina E causa un efecto sinérgico sobre algunos antioxidantes (Cillard and Cillard, 1986; Hamilton *et al.*, 1998; Kulas and Ackman, 2001)

Dado que los estudios anteriores (Rodríguez *et al.*, 1993) se habían llevado a cabo con aceites de hígado de merluza de buena calidad, se eligió el aceite B como un caso extremo, a los efectos de determinar si era posible lograr un enlentecimiento en su deterioro. Se le agregó 0.1% de Keniox 20 (solución que contiene TBHQ al 20% y ácido cítrico, de la firma Kenil S. A.) y 0.7% de vitamina E (solución de acetato de D alfa tocoferol de la firma Roche) y se almacenó durante 4 meses a 4 °C (Tabla III). Si bien el índice de peróxido aumentó menos que cuando a dicho aceite no se le agregó antioxidantes, su índice de anisidina aumentó mucho más. Tal como era de esperar, su deterioro oxidativo no fue impedido por los antioxidantes adicionados aunque se modificó el

Tabla III

**Índice de peróxido (I. P.), índice de p-anisidina (I. A.) y contenido de DHA (%) y de EPA (%) de un aceite de hígado de merluza (protegido con TBHQ y vitamina E) almacenado durante 4 meses en heladera a 4 °C.**

Meses	I. P.	I. A.	EPA+DHA(%)
0	12	4	26
4	22	73	27

mecanismo porque predominó la formación de carbonilos. En conclusión, no es posible prolongar la vida de estantería de un aceite de hígado de merluza que no presenta una excelente calidad inicial por el agregado de antioxidantes. Esto conduce a la necesidad de realizar un tratamiento y almacenamiento adecuado de los hígados, previo a la extracción de su aceite.

#### 4. CONCLUSIONES

El aceite contenido en los hígados de merluza almacenados a baja temperatura (-20 °C), se oxida en un par de semanas, alcanzando valores muy altos de los índices de peróxido y de p-anisidina. Una vez que dicho aceite se ha deteriorado, no es posible estabilizarlo por el agregado de antioxidantes.

Para obtener un aceite de buena calidad es imprescindible que los hígados se almacenen a la temperatura más baja posible (menos de -20 °C), que su aceite se extraiga lo antes posible, que se le adicione antioxidantes adecuados y que se le almacene refrigerado (por lo menos a 4 °C). De esta manera, el aceite no sufrirá un deterioro oxidativo importante y no disminuirá apreciablemente su contenido en ácidos grasos poliinsaturados.

#### BIBLIOGRAFÍA

A.O.C.S. (1987) Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 3ª edición, A.O.C.S., Champaign.  
 Bimbo, A. P. (1990) Production of Fish Oil en *Fish Oils in Nutrition*, p. 141-180, M. E. Stansby, Van Nostrand Reinhold, New York.  
 Cillard, J. and Cillard, P. (1986) Inhibitors of the Prooxidant Activity of  $\alpha$ -Tocopherol. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **63** (9): 1165-1172.

Flick, G. J., Hong, G.-P. and Knobl, G. M. (1992) Lipid oxidation of Seafood During Storage, p. 183-207, A. J. St. Angelo, (Ed.), A. C. S., Washington  
 Frankel, E. N. (1998) Lipid Oxidation. The Oily Press, Dundee.  
 German, J. B., Zhang, H. and Berger, R. (1992) Role of Lipoxygenases en *Lipid Oxidation in Food*, p.74-92, A. J. St. Angelo, (Ed.), A. C. S., Washington.  
 Grompone, M. A., Sienra, B. and Quilez, J. I. (1990) Fatty acid composition of fats from the Uruguayan fur seal (*Arctocephalus australis* Zimmermann). *Mar. Mammal Sci.* **6** (1): 48-53.  
 Grompone, M. A. (1992) Aceites de pescados de interés nacional. *Ing. Quím.*, **3** (4):14-19 .  
 Hamilton, R. J., Kalu, C., McNeill, G. P., Padley, F. B. and Pierce, J. H. (1998) Effects of Tocopherols, Ascorbyl Palmitate, and Lecithin on Autoxidation of Fish Oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **75** (7): 813-822.  
 Hsieh, R. J., German, J. B. and Kinsella, J. E. (1988) Lipoxygenase in Fish Tissue: Some Properties of the 12-Lipoxygenase from Trout Gill. *J. Agric. Food Chem.* **36**: 680-685.  
 Kulas, E. and Ackman, R. G. (2001) Protection of  $\alpha$ -Tocopherol in Nonpurified and Purified Fish Oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **78** (2): 197-203.  
 Méndez, E., Fernández, M., Pazo, G. and Grompone, M. A. (1992) Hake roe lipids: composition and changes following cooking. *Food Chem.* **45** (3): 179-181.  
 Méndez, E. and Grompone, M. A. (1993): Estudio de los lípidos extraídos de pescados de interés nacional y de sus posibles aplicaciones. Tesis de Maestría en Química. Facultad de Química (Uruguay).  
 Méndez, E., González, R.M., Inocente, G., Giudice, H. and Grompone, M. A. (1996) Lipid content and fatty acid composition of filets of six fishes from the Rio de la Plata. *J. Food Comp. An.*, **9**: 163 – 170.  
 Méndez, E. and González, R. M. (1997). Seasonal changes in the chemical and lipid composition of filets of the Southwest Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*). *Food Chem.* **59** (2): 213-217.  
 Nelson, M. J. (1996) Fatty Acid Radicals and the Mechanism of Lipoxygenase en *Lipoxygenase and Lipoxygenase Pathway Enzymes*, p. 80-94, G. J. Piazza, (Ed.), AOCS Press, Champaign.  
 Pérez-Villarreal, B. and Howgate, P. (1991) Deterioration of European Hake (*Merluccius merluccius*) during Frozen Storage. *J. Sci. Food Agric.* **55**: 455-469.  
 Rodríguez, A., Barrera-Arellano, D. and Grompone, M. A. (1993) Estabilidad oxidativa del aceite de hígado de merluza. *Grasas Aceites* **44** (4-5): 270-273.  
 Wang, Y.-J., Miller, L. A. and Addis, P. B. (1991) Effect of Heat Inactivation of Lipoxygenase on Lipid Oxidation in Lake Herring (*Coregonus artedii*). *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **68** (10): 752-757.

Recibido: Agosto 2002  
 Aceptado: Febrero 2004