

00346 7



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS FACULTAD DE CIENCIAS

VARIACION ESTACIONAL DE LOS ACIDOS GRASOS EN SARDINA (Opisthonema libertate).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE: MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGIA CELULAR) P R E S E N T A JOSE LUIS SILENCIO BARRITA

DIRECTOR DE TESIS: DR. HECTOR BOURGES RODRIGUEZ

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo académico

MEXICO, D. F. NOMBRE: Jose Luis Silencio Barrita AGOSTO 2003

FECHA: 21 Agosto 2003

FIRMA: [Firma manuscrita]



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

<b>INDICE</b>	<b>pagina</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>2</b>
<b>LISTA DE CUADROS Y FIGURAS</b>	<b>3</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>4</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>6</b>
<b>NOMENCLATURA DE ACIDOS GRASOS</b>	<b>6</b>
<b>CLASIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS</b>	<b>7</b>
<b>FUENTES DE ACIDOS GRASOS</b>	<b>8</b>
<b>FUNCIONES</b>	<b>9</b>
<b>INDISPENSABILIDAD</b>	
<b>DEFICIENCIA</b>	
<b>SITUACION ACTUAL</b>	
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	
<b>OBJETIVOS</b>	
<b>MATERIALES Y METODOS</b>	
<b>SELECCION DE LAS MUESTRAS, CRITERIOS</b>	
<b>EXTRACCION DE LIPIDOS TOTALES</b>	
<b>SAPONIFICACION DE LOS EXTRACTOS LIPIDICOS</b>	
<b>ESTERIFICACION DE LOS ACIDOS GRASOS CON</b>	
<b>TRIFLUORURO DE BORO</b>	
<b>ANALISIS CROMATOGRAFICO</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
<b>CONCLUSIONES</b>	
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **DR HECTOR BOURGES RODRÍGUEZ**, director de esta tesis, por su paciencia y conducción para culminar este trabajo.

A la **MC JOSEFINA MORALES DE LEON**, por su apoyo incondicional para concluir esta obra.

Al **DR FERNANDO PEREZ GIL ROMO**, por sus atinados consejos y su apoyo de todos los días.

Al **DR JOSE PEDRAZA CHAVERRI**, por su ejemplo de tenacidad y por la revisión de este trabajo.

Al **DR RENE CARDENAS VAZQUEZ**, por su crítica y experiencia para mejorar esta tesis

A mi esposa **MARIA DEL SOCORRO** y a mis hijos **JOSE LUIS** y **DIEGO SEBASTIÁN**, por estar siempre conmigo y aguantar todos los días la presión de terminar esta tesis. A mi suegra la **Sra Celia Sánchez Vázquez** y a mis cuñados.

A mis **PADRES**, **Guadalupe Barrita de Silencio** y **Luis Silencio Ramírez**, que son y seguirán siendo mi ejemplo. A mi madrina la **Sra. Ernestina Barrita Pacheco**.

A todos mis amigos de la Dirección de Nutrición que han estado conmigo en las buenas y en las malas.

A la Facultad de Química de la Universidad de Colima y en especial a mis amigos **Berta Cárdenas** y **Santiago Velasco**, exdirectores de la misma.

Al **Sr Luis Castañeda**, donde quiera que se encuentre.

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

### CUADROS

- |  | paginas |
|--|---------|
| 1.- ácidos grasos saturados importantes, formulas moleculares y nombres triviales  |         |
| 2.- ácidos grasos monoinsaturados  |         |
| 3.- ácidos grasos poliinsaturados ordenados por Familias   |         |
| 4.- inyección individual de los esterios metilicos de los ácidos grasos  |         |
| 5.- Resultados de la inyección de mezclas de 22 patrones de ácidos grasos  |         |
| 6.- características generales de la especie de sardina crinuda <i>Opistonema libertate</i>                                 |         |
| 7.- contenido de ácidos grasos saturados en la sardina crinuda ( <i>Opistonema libertate</i> )                             |         |
| 8.- contenido de ácidos grasos monoinsaturados en la sardina crinuda ( <i>Opistonema libertate</i> )                       |         |
| 9.- contenido de ácidos grasos poliinsaturados en la sardina crinuda ( <i>Opistonema libertate</i> )                       |         |
| 10.- Intervalos de concentración en la variación anual de ácidos grasos en sardina crinuda ( <i>Opistonema libertate</i> ) |         |
| 11.- Variación estacional de los ácidos grasos en sardina crinuda ( <i>Opistonema libertate</i> )                          |         |

### FIGURAS

- 1.- Gradiente de temperatura en la determinación de ácidos grasos
- 2.- Cromatograma de la mezcla de patrones
- 3.- Cromatograma de una muestra (abril)
- 4.- variación del peso en la sardina crinuda (*Opistonema libertate*)
- 5.- variación de la longitud en la sardina crinuda (*Opistonema libertate*)
- 6.- variación del contenido de lípidos en las muestras de sardina crinuda (*Opistonema libertate*).
- 7.- variación mensual del ácido palmítico
- 8.- variación mensual del ácido esteárico
- 9.- variación mensual del ácido láurico
- 10.- variación mensual del ácido mirístico
- 11.- variación mensual del ácido palmitoleico
- 12.- variación mensual del ácido petroselinico
- 13.- variación mensual del ácido oleico
- 14.- variación mensual del ácido cis-11-eicosenoico
- 15.- variación mensual del ácido erucico
- 16.- variación mensual del ácido linoleico
- 17.- variación mensual del ácido araquidónico
- 18.- variación mensual del ácido linolenico
- 19.- variación mensual del ácido eicosapentaenoico
- 20.- variación mensual del ácido docosahexaenoico
- 21.- variación porcentual de los ácidos grasos en la sardina *Opistonema libertate*

## ABREVIATURAS

AG	ácidos grasos
AGL	ácidos grasos libres
AGS	ácidos grasos saturados
AGI	ácidos grasos indispensables
AGMI	ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	ácidos grasos poliinsaturados
C	carbono
n	numero de átomos de carbono, numero de sujetos
Δ	presencia de insaturaciones
O	oxígeno
H	hidrógeno
AGSL	ácidos grasos saturados lineales
AGSR	ácidos grasos saturados ramificados
AGIn	ácidos grasos insaturados
Ω	omega
HDL	lipoproteínas de alta densidad
LDL	lipoproteínas de baja densidad
EIC	enfermedad isquemica cardiaca
EPA	ácido eicosapentaenoico
DHA	ácido docosahexaenoico
IL	interleucinas
PG	prostaglandinas
TB	tromboxano
LT	leucotrienos
LNA	ácido alfa linolenico
EC	enfermedad coronaria
CGL	cromatografia gas liquido
CCF	cromatografia en capa fina
mg	miligramos
ug	microgramos
mL	mililitros
uL	microlitros
CG	cromatografia de gases
HPLC	cromatografia liquida de alta resolución
CGS	cromatografia gas sólido
ppm	partes por millón
USDA	United States Drug Administration
Tr, tr	tiempo de retención
A	área
ca	central de abasto
AOAC	Association Official of Aplyed Chemistry
FID	detector de ionización de flama
CCG	cromatografia capilar de gases

## RESUMEN

Actualmente no existen valores de ácidos grasos en los alimentos producidos y consumidos en México, incluyendo los que hasta este momento se investigan como potencialmente nutritivos, de los cuales nuestro país cuenta con una gran diversidad. Las tablas que existen sobre *Composición de Alimentos Mexicanos y Latinoamericanos*, no incluyen las concentraciones de la mayoría de los ácidos grasos, lo que hace importante el análisis de estos nutrimentos. La composición de ácidos grasos de los peces mostrados en otras tablas, es muy extensa e incluye especies de peces que raramente se comen, o que tienen poco interés económico. Hay sin embargo una considerable variación en la composición dentro de las misma especie y su variación es inclusive mayor que entre diferentes especies. La pesquería de la sardina en México es multiespecífica ya que aparecen especies que no son de la familia Clupeidae y ocupa el tercer lugar en volumen de explotación de las especies comestibles. El objetivo fue determinar la concentración de los ácidos grasos contenidos en la porción comestible de la especie de sardina crinuda (*Opistonema libertate*) cruda obtenidas del Pacífico mexicano y determinar su variación estacional durante marzo 1996 y febrero de 1997. Las muestras fueron obtenidas en el área de estudio localizada entre los meridianos 103°59' a 104°44' de longitud oeste (W) y a los 18°53' a 19° latitud norte (N). Las muestras fueron capturadas directamente en las costas de Colima y el arte de pesca fue ribereño al azar. Los ácidos grasos fueron extraídos y esterificados según Ackman y se midieron por cromatografía capilar de gases. Los ácidos grasos fueron identificados por la obtención de los tiempos de retención de los patrones de referencia. El ácido palmítico es el que se presenta en mayor concentración, seguido del esteárico. El ácido palmítico fue mas concentrado, seguido del oleico y erucico. Fue predominante el DHA seguido del ácido araquidónico. La variación mensual de los ácidos grasos saturados muestra mas elevación en mayo, noviembre-diciembre. Los monoinsaturados muestran picos máximos de concentración en abril y octubre. El ácido linoleico fue muy variable mostrando picos máximos de concentración en abril y octubre. La relación del n3/ n6, fue mayor con respecto a lo informado mostrando valores bajos solo en el invierno donde el valor fue de 1.1. Los valores mas altos en peso, talla, porcentaje de lípidos, 12:0, 14:0, 16:0, 18:0; 16:1, 18:1n7c, 20:1, 22:1n13c, y 18:2, 20:4 y 20:5 y AGPI se observaron en invierno. Mientras que en otoño fueron mas altos 22:6, 18:3, y 18:1n9c. Se observo que esta especie es una fuente excelente de ácidos grasos poliinsaturados de las familias n-3 y n-6. Comparadas con otras especies la sardina contiene mas ácidos grasos indispensables, lo que los convierte en una excelente alternativa para la alimentación humana y de muy bajo costo.

## ANTECEDENTES

### 1.-Nomenclatura de ácidos grasos

Los ácidos grasos (AG), se nombran sistemáticamente de acuerdo al número de átomos de carbono y al número y posición de las dobles ligaduras o insaturaciones en la molécula, aunque también se utilizan los nombres triviales, asignados circunstancialmente de acuerdo a su origen o fuente. Sin embargo, una de las nomenclaturas más utilizadas es la estructural, donde los AG se identifican por el número de átomos de carbono y número de insaturaciones en forma abreviada, además de la serialización de la insaturación, esto es, cualquier metileno interrumpido o conjugado indica el inicio. Por ejemplo: **C18:3Δ9c**, representa en forma abreviada la denominación del ácido linolénico (cuyo nombre sistemático sería ácido cis9-cis12-cis15-octadecatrienoico); **C18**, indica que es una cadena de 18 átomos de carbono, **3** indica el número de insaturaciones, **Δ** seguida de un número o números indica la presencia o posición de 1 o más insaturaciones en la cadena carbonada a partir del carbono carboxilo, **9** indica el inicio de la insaturación en la cadena y **c** indica el tipo de insaturación (cis o trans). En la mayoría de los informes se utiliza la letra **w**, que indica que tan lejos está la doble ligadura del carbono metilo terminal, por lo que esta denominación no depende de la longitud de la cadena carbonada. El sistema que utiliza la letra **n**, (sistema estructural de Morris), es muy similar al anterior ya que relaciona la posición de la primera doble ligadura, desde el carbono metílico terminal y da una indicación clara de las especies estereo isómero involucradas, por lo que se forman familias de AG importantes (ver cuadros 1,2 y 3).<sup>1</sup>

**Cuadro 1**  
**ÁCIDOS GRASOS SATURADOS IMPORTANTES, FÓRMULAS**  
**MOLECULARES Y NOMBRES TRIVIALES<sup>1</sup>**

<i>Nombre químico</i>	<i>Formula</i>	<i>abreviatura</i>	<i>nombre trivial</i>
Metanoico	CHOOH	1:0	Fórmico
Etanoico	CH <sub>2</sub> -COOH	2:0	Acético
Propanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> )-COOH	3:0	Propiónico
Butanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -COOH	4:0	Butírico
Pentanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -COOH	5:0	Valérico
Hexanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COOH	6:0	Caprónico
Heptanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	7:0	Enantico
Octanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -COOH	8:0	Caprílico
Nonanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -COOH	9:0	Pelargónico
Decanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> -COOH	10:0	Caprico
Undecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> -COOH	11:0	
Dodecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH	12:0	Laurico
Tridecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -COOH	13:0	
Tetradecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> -COOH	14:0	Mirístico
Pentadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> -COOH	15:0	
Hexadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -COOH	16:0	Palmitico
Heptadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> -COOH	17:0	Margarico
Octadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -COOH	18:0	Estearico
Nonadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -COOH	19:0	
Eicosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> -COOH	20:0	Araquidico
Docosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> -COOH	22:0	Behenico
Tetracosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> -COOH	24:0	Linocerico
Hexacosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>24</sub> -COOH	26:0	Cerótico
Octacosanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>26</sub> -COOH	28:0	Montanico
Tricontanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>28</sub> -COOH	30:0	Melissico
Dotricontanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>30</sub> -COOH	32:0	Laceroico

## 2.- Clasificación de los ácidos grasos

Los ácidos grasos se clasifican de acuerdo al grado de saturación de la molécula en saturados (AGS) de cadena corta (4-10 átomos de C) y larga (>10 átomos de C). Al mismo tiempo se clasifican en AGS lineales (AGSL) y ramificados (AGSR). Estos últimos se subdividen en ácidos **iso**; un grupo metilo esta sustituyendo un hidrógeno en el penúltimo sitio, se refiere también como  $\omega_1$ , y ácidos **anteiso**; el grupo metilo esta en el antepenúltimo sitio de la cadena y se denomina también como  $\omega_2$ . Los ácidos grasos insaturados AGIn, se subdividen en AG

monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI). Los ácidos grasos volátiles (C<sub>1</sub>

- C<sub>6</sub>), se clasifican aparte.

**Cuadro 2**  
**ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS<sup>1</sup>**

<i>nombre sistemático</i>	<i>abreviatura</i>	<i>nombre trivial</i>
9-DECENOICO	10:1Δ9	Caproleico
cis-4-DECENOICO	10:1Δ4c	Obtusílico
cis-4-DECEENOICO	12:1Δ4c	Linderico
cis-4-TETRADECENOICO	14:1Δ4c	Tsuzuico
cis-5-TETRADECENOICO	14:1Δ5c	Fiseterico
cis-9-TETRADECENOICO	14:1Δ9c	Miristoleico
cis-9-HEXADECENOICO	16:1Δ9c	Palmitoleico
cis-6-OCTADECENOICO	18:1Δ6c	Petroselinico
cis-9-OCTADECENOICO	18:1Δ9c	Oleico
cis-11-OCTADECENOICO	18:1Δ11c	Cis-vaccenico
trans-11-OCTADECENOICO	18:1Δ11t	Vaccenico
cis-9-EICOSENOICO	20:1Δ9c	Gadoleico
cis-11-DOCOSENOICO	22:1Δ11c	Cetoleico
cis-13-DOCOSENOICO	22:1Δ13c	Erucico
cis-15-TETRACOSENOICO	24:1Δ15c	Nervonico
cis-17-HEXACOSENOICO	26:1Δ17c	Ximenico
cis-19-NONACOSENOICO	29:1Δ19c	Lumequico

### 3.-Fuentes de AG

Casi todos los alimentos contienen lípidos, los que se han definido como la fracción que es soluble en disolventes orgánicos como el hexano, éter o cloroformo, de ahí que se les denomine también "extracto etéreo", en el análisis químico proximal<sup>2</sup>. Generalmente los AG se encuentran formando parte de las fracciones lipídicas de semillas<sup>3,4</sup>, leche<sup>5,6</sup>, plantas<sup>7,8,9</sup>, peces<sup>10-19</sup> y productos cárnicos<sup>20,21</sup>. Se les puede encontrar en forma de ácidos grasos libres o bien como parte de mono, di, o triglicéridos y fosfolípidos. Prácticamente cualquier tejido que contenga membranas lipídicas es fuente de ácidos grasos.

**Cuadro 3**  
**ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS ORDENADOS POR FAMILIAS<sup>1</sup>**

<i>familia</i>	<i>Nombre sistemático</i>	<i>abreviatura</i>	<i>Nombre trivial</i>
n-3	9,12,15-octadecatrienoico	18:3(n-3)	Alfa-linolénico
	6,9,12,15-octadecatetraenoico	18:4(n-3)	Estearidónico
	5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	20:5(n-3)	Eicosapentaenoico, AEP
	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	22:6(n-3)	Docosahexaenoico, ADH
n-6	9,12-octadecadienoico	18:2(n-6)	Linoleico
	6,9,12-octadecatrienoico	18:3(n-6)	Gamma-linolénico
	5,8,11,14-eicosatetraenoico	20:4(n-6)	Araquidónico
	7,10,13,16-docosatetraenoico	22:4(n-6)	Adrenico
	8,11,14-eicosatrienoico	20:3(n-6)	di-homo-γ-linolénico
n-7	9-hexadecenoico	16:1(n-7)	Palmitoléico
	11-octadecenoico	18:1(n-7)	Vaccénico
n-9	9-octadecenoico	18:1(n-9)	Oleico
	15-tetracosenoico	24:1(n-9)	Nervónico

**4.- Funciones de los AG.**-Una de las funciones de la "grasa dietaria" es la de proveer ácidos grasos indispensables (AGI). Sin embargo el requerimiento para AGI como ácido linoleico (18:2n6) es sólo del 1-2% del consumo energético total (los requerimientos de ácidos grasos n3, no se han establecido). La deficiencia de AGI podría ocurrir en la población general que consume dietas ordinarias, por lo que es recomendable un consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) que corresponda al 10% del consumo energético diario<sup>(1,8,16,18,22)</sup>. Esta recomendación se fundamenta en la acción de los AGPI dietarios por reducir el colesterol plasmático, lo que resulta en parte, en cambios en su consumo. Se hace referencia a los AGPI dietarios como una entidad, sin diferenciar el tipo de AGPI. Algunos estudios epidemiológicos, clínicos y bioquímicos conducidos de los

últimos 20 años, sugieren que los AGPI n3, reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares<sup>1,23-25,26,27</sup>. La observación de la diferencia existente entre ácidos grasos n-3 y n-6 en las vías metabólicas para la formación de eicosanoides y sus precursores ácidos, sugieren que no solamente la concentración, sino también el tipo de AGPI son necesarios para la recomendación dietaria y las guías o recomendaciones dietarias futuras<sup>28,29</sup>. Una de las primeras causas de muerte en nuestro país es la enfermedad coronaria<sup>30-31</sup>. Entre las principales causas que lo generan, se tienen los elevados consumos en ácidos grasos saturados y otros lípidos, principalmente colesterol, por lo que se ha investigado sobre su implicación en la salud, generándose algunas medidas preventivas cuyos resultados se verán a largo plazo. A continuación se dan algunos ejemplos de este efecto. Desde la década de los años 50 se ha observado que los ácidos grasos poliinsaturados de ciertos aceites vegetales disminuyen el colesterol plasmático en aquellos individuos que sustituyen a los ácidos grasos saturados de la dieta, de entre estos AGPI el **ácido linoleico**<sup>3-31</sup> tiene el mayor efecto, aunque también el ácido oleico (un AGMI) tiene el mismo efecto. En países como EU, el aumento en la prevalencia de enfermedad coronaria se relaciona con altos consumos de ácidos grasos saturados (AGS) y colesterol<sup>32</sup>, entre otros. Por el contrario, en China, Japón y otros países orientales donde el consumo de grasa total es bajo, la prevalencia de enfermedad coronaria es baja. En Grecia, Creta, Italia y en los países del mediterráneo, la dieta es rica en aceite de oliva y el consumo de grasa total es alto, pero la frecuencia de enfermedad coronaria es baja y esto se debe a que el aceite de oliva contiene grandes cantidades de **ácido oleico** un *ácido graso monoinsaturado (AGMI)*<sup>1-33</sup>. El mismo fenómeno se observa con dietas bajas en

grasa. Los beneficios a la salud con una dieta con base en productos marinos se ha estudiado desde los años 80, cuando se observó que la enfermedad cardiovascular era rara en los esquimales, debido a que consumían una gran cantidad de pescado con una elevada cantidad de ácidos grasos n3 (omega-3), por lo que se les denominó como **cardioprotectores**. Se ha demostrado que los tromboxanos sintetizados a partir del consumo de aceites de pescado interfieren con la agregación plaquetaria y disminuyen el riesgo de ataque cardiaco<sup>34,35,36</sup>. Por otro lado, los AGn3, disminuyen la presión cardiaca, la viscosidad sanguínea y el aumento en las lipoproteínas de alta densidad (LAD). En humanos, las dietas altas en colesterol no producen un aumento considerable en su concentración plasmática, sin embargo el factor dietario que ha demostrado tener un mayor efecto sobre el colesterol plasmático, son los ácidos grasos saturados, inclusive se han obtenido ecuaciones desarrolladas que predicen cambios en el colesterol plasmático en respuesta a cambios en la dieta<sup>21</sup>. Sin embargo, continúa en debate esta afirmación debido a la alta variabilidad en la composición de los ácidos grasos de los alimentos ingeridos y a la dificultad en determinarlos analíticamente. Ya que las altas concentraciones de colesterol contribuyen al desarrollo de la aterosclerosis y ésta es un riesgo de enfermedad coronaria es necesario determinar la composición de los **ácidos grasos monoinsaturados**, presentes en las lipoproteínas de baja densidad (LBD), que parecen ser las lipoproteínas aterógenicas más importantes<sup>23</sup>. Dos procesos contribuyen al desarrollo de enfermedad isquémica cardiaca (EIC): aterosclerosis y trombosis. El tipo de grasa dietaria consumida puede contribuir a ambos procesos, por lo que algunos AG tienen un papel importante en aterogenesis y otros en trombosis. De los AGS solo

aquellos cuya longitud de cadena es de 12, 14 y 16 átomos de carbono tienen el efecto de aumentar el colesterol plasmático y por lo tanto son aterogénicos. Se sugiere que son trombogénicos los AGS de 14, 16 o 18 átomos. Los AGMI y AGPI n-6 han mostrado que reducen el colesterol plasmático total y la LDL, mientras que los AGPI n3 tienen un efecto mínimo sobre el colesterol plasmático pero reducen los triglicéridos del plasma, el tromboxano B<sub>2</sub>, la actividad plaquetaria y prolongan el tiempo de sangrado y el tiempo de coagulación. Debido a esto se han propuesto índices que pueden caracterizar mejor el potencial aterogénico o trombogénico de una dieta, es decir el índice AGPI/AGS. Sin embargo han mostrado ser predictores débiles de riesgo de EIC. En un modelo de isquemia cardiaca en ratas los AGPI dietarios n-6 (aceite de semilla de coliflor) y n-3 (aceite de pescado) mostraron efectos protectores contra arritmia comparados con la grasa saturada, observándose mayor protección con el aceite de pescado. Estudios experimentales muestran que la alimentación con dietas enriquecidas con AG n-3 conduce a una abundancia en EPA y DHA en las membranas celulares de numerosos tejidos incluyendo el corazón, lo que altera la función de membranas<sup>37,38,39</sup>. Se ha sugerido que este enriquecimiento de AG n-3 esta relacionado con el aumento en la formación de eicosanoides y cambios en el índice de prostaciclina a tromboxanos (prostaciclina son antiarrítmicos y tromboxanos son arritmogénicos)<sup>40,41</sup>. Por otro lado, la investigación entre dieta y prevención de cáncer de colon es un tópico de investigación muy activa. Los estudios epidemiológicos sugieren que los cohortes de quienes consumen dietas ricas en grasa son de alto riesgo de cáncer de colon, mientras que el consumo de productos de pescado ricos en AGn-3 tales como AEP y ADH están asociados con

baja incidencia de cáncer colorectal<sup>42,43</sup>. El consumo dietario de estos AGPI de cadena larga reduce la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos a partir de ácido araquidónico. En suma la complementación colónica reduce marcadamente la velocidad de proliferación celular colónica en las criptas altas de pacientes con una historia de pólipos adenomatosos<sup>42</sup>. La oxidación del ácido linoleico, por la lipoxidasa especialmente, aumenta la muerte celular de tumores, mientras que el ácido linoléico inhibe la actividad del activador de plasminógeno, tipo urocinasa (UPa). La actividad aumentada de UPa es primeramente responsable de la invasión del cáncer y la metástasis y de la proteólisis de la lipoxidasa, lo cual favorece una disminución en las células cancerígenas<sup>43</sup>. La desmielinización y la adrenoleucodistrofia están asociadas con una acumulación de AGS de cadena muy larga tales como el 26:0<sup>44</sup>. AGPI n-3 reducen la síntesis de interleucina-1 (IL-1), la principal molécula responsable de la fiebre y se especula que su acción puede ser profiláctica en la prevención de fiebres o picos febriles en niños<sup>45</sup>. Los AGPI n-3 pueden considerarse como candidatos por sus efectos pleiotrópicos en sistemas metabólicos e inmunológicos, en particular su uso está considerado por la habilidad para disminuir la producción de IL-1 y el factor de necrosis tumoral por monocitos y macrófagos<sup>27,46</sup>.

### **Indispensabilidad de los AGPI**

Los AGPI no pueden sintetizarse en el cuerpo, por lo que debe mantenerse un consumo mínimo para la salud. Estos AGPI n-3 y n-6 pueden sufrir una serie de desaturaciones y elongaciones antes de que sean incorporados en fosfolípidos de membranas. Los tejidos animales y especialmente el hígado son capaces de

elongar y desaturar estos AG generando familias de compuestos<sup>47</sup>. Los AGPI de varias fuentes (por ej obtenidos por fosfolipasas a partir de membranas celulares, triglicéridos y ésteres de colesterol) se convierten a otros metabolitos; por la ciclooxigenasa a prostaglandinas (PG) y tromboxanos (TB) y por la lipooxigenasa a leucotrienos (LT), lipoxinas, HETE, HPETE y otros. Estos productos se denominan colectivamente como eicosanoides y se convierten en diferentes series, por ejemplo la conversión de ácido araquidónico produce dos series de PG y cuatro de LT incluyendo PGE<sub>2</sub> y LTB<sub>4</sub>, mientras que el di-hommo-gama linolenico se convierte a una serie PG y no a LT<sup>40</sup>. La indispensabilidad de los AG n-3 y n-6 para los humanos se explica mejor por la deficiencia de los tejidos animales para introducir dobles ligaduras en posiciones anteriores al C-9 contado a partir del metilo terminal. Se propone que 2 AGPI son indispensables: el ácido linoleico y el ácido alfa- linolenico. Los vertebrados no pueden sintetizar estos AG y por lo tanto son indispensables en la dieta. Los aceites marinos proporcionan cantidades substanciales de estos AGPI, por lo que su consumo ha aumentado en las ultimas décadas. Los efectos de los AGPI n-3 en la prevención y el tratamiento de aterosclerosis, trombosis, fenómenos embolicos, hipertrigliceridemia<sup>48</sup>, hipertensión<sup>49</sup>, enfermedades autoinmunes<sup>50,51</sup> y posiblemente problemas alérgicos<sup>33</sup> están respaldados por trabajos experimentales ya publicados. Los aceites marinos pueden tener un efecto en la enfermedad cardiovascular a través de varios mecanismos ya que tienen efectos antitrombóticos via modificación de la agregación de plaquetas, adhesividad vascular, mecanismos de relajación de capilares, reparación endotelial y respuestas inflamatorias en las paredes de los vasos. Los ácidos grasos presentes en los aceites marinos y específicamente el

ácido eicosapentaenoico prolongan los tiempos de sangrado y disminuyen la producción de tromboxano A<sub>2</sub><sup>52,53</sup>.

En los últimos años se han investigado productos marinos de alto valor comercial, con el objeto de definir su composición química y sus beneficios para consumo humano<sup>54</sup>. Para citar algunos ejemplos, el salmón o el atún o subproductos como el caviar, que tienen diferentes orígenes, pueden consumirse indistintamente por sectores económicamente altos<sup>55,56</sup> y no se investigan otras especies susceptibles de explotación, fauna de acompañamiento y productos pesqueros de menor valor comercial. Los AG n-3, se encuentran en productos marinos (plantas y peces). Los aceites de pescado son la única fuente concentrada de ácido eicosapentaenoico (AEP, 20:5n-3). El AG n-3 más abundante en plantas es el ácido α-linolénico (ALN, 18:3n-3)<sup>15</sup>. La mayoría de los estudios, en la última década, enfocan su atención en 2 AG encontrados en todos los productos marinos, los AGPI: ac. eicosapentaenoico (AEP) y docosahexaenoico (ADH), y sus efectos relativos en el sistema cardiovascular humano. Estudios más recientes han mostrado que estos dos AG conocidos como AG n-3, debido a su estructura química afectan el sistema inmune<sup>57</sup>. Se han detectado grandes cantidades de ADH en cerebro, retina y leche humana, sugiriendo que tales AG n-3, deben ser componentes indispensables de la dieta<sup>38</sup>. El ácido alfa linolénico (ALN) se convierte en ácido eicosapentaenoico (AEP) antes de ejercer sus efectos biológicos tales como reducir la agregación de plaquetas. El humano convierte poco ALN en AEP. El ALN puede ser más fácilmente oxidado que incorporado a los tejidos por lo que los efectos de consumir aceites ricos en ALN son más modestos que los efectos de aceites ricos en AEP. Los AG n-3 son indispensables

para el desarrollo cerebral, ocular y la salud cardiaca. ANA es la única fuente de AG n-3 para los vegetarianos. Debido a que ALN y AEP no son biológicamente equivalentes los datos de composición de alimentos o de productos que mencionan el contenido total de AG n-3 debe aclarar el conocimiento actual de los AG n-3 individuales. Con el conocimiento actual para una buena salud y nutrición, es razonable esperar un aumento en el consumo de la cantidad de productos marinos en la dieta, con un aumento resultante en el valor económico de todos los peces y productos marinos (si existiera información suficiente y disponible de la composición nutrimental de estos productos).

#### **DEFICIENCIA DE ACIDOS GRASOS INDISPENSABLES (DAGI)**

La deficiencia de ácidos grasos indispensables, se caracteriza por retardo en el crecimiento, lesiones en la piel y riñón, aumento en la susceptibilidad a las infecciones y bajas reacciones autoinmunes e inflamatorias<sup>58</sup>. También esta asociada con alteraciones de respuestas funcionales de granulocitos neutrófilos y macrófagos que se normalizan cuando ingiere el ácido linoleico, el mayor AGPI dietario para mamíferos. Las bases bioquímicas para estos cambios en DAGI, son la pérdida de eicosanoides, metabolitos generados a partir del ácido araquidónico y del ácido linoleico celular y en particular de productos de la ciclo- y lipooxigenasa<sup>59,47</sup>. Estudios en los años 70, mostraron que la mucosa de los pacientes con colitis ulcerativa contenía altos niveles de prostaglandinas, por lo que se relacionó el posible papel de los productos de la ciclooxigenasa en la patogénesis de la colitis ulcerativa. La complementación con aceites de pescado ofrece beneficios modestos en pacientes con esta enfermedad que están

relacionados con la modulación en la producción de citocinas y los procesos inflamatorios<sup>60</sup>. Recientes estudios han mostrado que los AGPI influyen la transferencia de esteroides o la formación de eicosanoides que conduzcan a la multiplicación celular o a la diferenciación. Estos estudios han demostrado que los AG n-3 inhiben el metabolismo de los n-6 y por lo tanto sus efectos biológicos. Derivados eicosanoides de los AGPI juegan un papel importante en la regulación del sistema inmune<sup>50</sup>. La inmunidad mediada por células está dañada en DAGI y la severidad de los desórdenes autoinmunes se corrige por bajos consumos de ácido linoleico, acoplado con altos consumos de aceites de pescados ricos en EPA y DHA por lo que consumos moderados de aceites de pescados no se consideran inmunosupresores en ratas<sup>51</sup>. Por estas razones, es conveniente medir la concentración de los ácidos grasos en alimentos que potencialmente puedan utilizarse para la alimentación humana o bien como fuentes alternas en alimentación animal.

#### **Contenido de AG n-3 en alimentos marinos.**

La variabilidad en el contenido depende no solo de cambios sensoriales en los hábitos alimentarios de animales marinos sino también de la disponibilidad de alimentos para el pez y en las diferencias regionales en la composición de alimentos básicos y nutrimentos. La variación en el contenido de AGPI dependerá de la especie del pez, la época del año, el lugar y tipo de captura y su procesamiento industrial<sup>55,56</sup>. El contenido de lípidos en las porciones comestibles de los productos marinos puede variar de 0.5% hasta valores de 25%<sup>15</sup>. Desde este punto de vista los animales pueden clasificarse en cuatro grupos de acuerdo

a su contenido de lípidos: a) magra (< del 2% de grasa), b) bajo (2 a 4%), c) medio (4 a 8 %) y d) alto contenido de grasa (mas del 8%). Se debe tomar en cuenta que el lugar, época del año y tipo de captura puede ocasionar grandes cambios en el contenido de AGPI en el mismo pez. La temperatura también tiene una influencia importante, en las regiones polares el peso aumenta el grado de insaturación de los AG para compensar la reducción en la fluidez de membranas debida a las bajas temperaturas<sup>18,19</sup>. Las condiciones para la preservación del pez después de la captura y para el procesamiento posterior determinarán también el contenido final de AGPI en el pez. Los isómeros trans de los AG se encuentran en los aceites de productos vegetales y marinos cuando se procesan para producir grasas semisólidas. Los ácidos grasos trans son importantes porque afectan las concentraciones de lipoproteínas y la homeostasis<sup>31,32,39,59,61,62</sup>. Se ha sugerido que el consumo de pescado puede considerarse como un factor de riesgo dependiente de enfermedad coronaria (EC) y que el consumo de aceite de pescado reduce la mortalidad por EC<sup>55,56</sup>. Los hallazgos sugieren que un consumo mínimo de 30 g de pescado/día (210g/semana), de los cuales un tercio es aceite de pescado (70 g/semana) dan protección contra EC. Tanto la carne de pescado como el aceite dan protección. En el caso del aceite de pescado, este efecto se ha unido a la presencia de AGPI n-3, lo que sugiere que se reduce la incidencia de EC. El contenido de AGPI n-3 de aceite de pescado consiste principalmente de ácido eicosapentaenoico (AEP) y ácido docosahexaenoico (ADH), los que tienen propiedades antitrombóticas. Sin embargo, la carne de pescado contiene solo cerca del 1.5% de grasa en promedio, del cual aproximadamente el 5% es AEP<sup>22</sup>. Los americanos se han propuesto aumentar

su consumo de pescado a partir de estudios clásicos que informaban que los esquimales, quienes consumían grandes cantidades de pescado conteniendo AG n-3, tenían bajas incidencias de enfermedad coronaria<sup>36</sup>. Recomendaciones nutricias incluyen un aumento dietario de AG n-3, por consumir 1-2 porciones de 3 onzas de pescado/semana. Sin embargo, se ha propuesto que el huevo enriquecido con AG n-3, puede consumirse mejor relación al pescado debido a su bajo costo y mayor disponibilidad<sup>20</sup>.

#### **Procedimientos analíticos para medir AG y sus esteres metilicos.**

Tradicionalmente la pureza de los AG y sus derivados se ha establecido al determinar el valor de acidez (saponificación), valor de Yodo, punto de fusión e índice de refracción. Sin embargo estos métodos son poco sensibles y están sujetos a confusión en mezclas que incluyen a los isómeros y requieren de muestras grandes, por lo que generalmente se miden mejor por cromatografía gas-liquido (CGL) o por capa fina (CCF). LA CGL es mucho mejor cuando se incluye un detector de ionización de flama. Si se utiliza una columna con una fase estacionaria de Carbowax 20M con ácido 2-nitrotereftálico, se puede medir directamente los AG libres. En otras fases los AG deberán convertirse en sus ésteres metilicos. La cromatografía deberá efectuarse con un detector de ionización de flama. Las concentraciones de AG expresadas como  $\mu\text{g/L}$ , correlacionan muy bien con otros lípidos del plasma como el colesterol y la LDL<sup>63</sup>. El uso de estándares internos en GC ha demostrado ayudar en el análisis de AG<sup>64</sup>. El estándar interno debe ser un homólogo de los compuestos y deberá separarse bien de ellos. Otros métodos que se informan para medir AG y

oxidación de lípidos en alimentos: 1) Cromatografía de gases con espectrometría de masas, 2) Cromatografía líquida de alta resolución, HPLC y 3) Resonancia magnética nuclear.

## **CROMATOGRAFIA DE GASES**

Es un método para separar componentes de mezclas de compuestos volátiles. La separación se realiza para identificar y cuantificar la concentración de cada componente de la mezcla. La base para la separación cromatográfica de gases es la distribución de una muestra entre 2 fases. Una de estas fases es un lecho estacionario de una gran superficie de contacto y la otra fase es un gas que se difunde (percola) a través de la fase estacionaria. Si la fase estacionaria es un sólido se habla de Cromatografía Gas sólido (CGS). Esto depende de las propiedades de absorción del empaque de la columna para separar las muestras, primeramente gases. Los empaques comunes usados son: Silica gel, Tamiz molecular, Carbón activado. Si la fase estacionaria es un líquido se habla de Cromatografía Gas Líquido (CGL). El líquido está esparcido como una capa delgada en un sólido inerte y la base de la separación es la partición de la muestra dentro y fuera de la película de líquido. Se utilizan temperaturas de hasta 400°C.

### **EQUIPO BASICO**

Las partes básicas de un cromatógrafo son:

- a) Gas portador, b) Controlador de flujo y regulador de presión, c) Puerto de inyección (entrada de la muestra), d) Columna, e) Detector, f) Graficador,
- g) Termostato para inyector, columna y detector,

En CGL, los componentes a separar son acarreados a través de la columna por un gas inerte (gas portador). La mezcla de la muestra se fracciona entre el gas portador y un disolvente no volátil (fase estacionaria), colocado sobre un sólido inerte de tamaño específico (soporte sólido). El disolvente, selectivamente retarda los componentes de la muestra de acuerdo a su coeficiente de distribución, hasta que se forman bandas separadas en el gas portador. Estas bandas del componente dejan la columna en el flujo de gas y se grafican como una función del tiempo por un detector.

#### **ACIDOS GRASOS EN NUTRICION**

La recomendación frecuente es que un incremento en el consumo de pescado refleja un consumo mas racional de ácidos grasos poliinsaturados. La recomendación sin embargo es aumentar el consumo de productos marinos y la obtención de productos enriquecidos utilizando estos mismos alimentos. Sobre todo cuando se acepta que existe una correlación importante entre el consumo de estos productos y la disminución de problemas cardiovasculares. Aunque los efectos bioquímicos de los AG son poco entendidos no se discute y en algunas instancias hasta se enfatiza el efecto benéfico de los ácidos grasos poliinsaturados de estas fuentes marinas sobre la salud.

La pesquería comercial de la sardina en México<sup>67</sup>, en la zona costera del norte de la costa occidental de Baja California, se inicia en 1927. En la pesquería de esta zona la captura gravita en siete especies que son las principales: cinco de sardina (de la Familia Clupeidae, del orden Clupeiformes, y del suborden Clupeoidei) y dos

de anchoveta (Familia Engraulidae). La captura se obtiene en el noroeste de México, principalmente del Golfo de California. Por algún tiempo, estas siete especies han contribuido con más del 40% de la captura total nacional de peces (477 076 Ton de sardina o el 44.7% de las 1066 838 Ton totales en México, solo durante 1987). La especie más importante en la pesquería de pelágicos menores en el noroeste de México, hasta 1991, fue la sardina Monterrey (*Sardinops caeruleus*, también informada por muchos autores como *S.sagax* y como *S. sagax caerulea*), que contribuyó hasta con un 75% del total de la captura nacional de clupeoideos. La anchoveta norteña (*Engraulis mordax*), aportó cerca del 15% del total hasta 1989. Las tres especies de sardina crinuda (*Opisthonema spp.*) hablan representado un 10% hasta los últimos años, en los que su contribución se ha incrementado significativamente (*Opistonema libertate*, *O.medirastre* , y *O. bulleri*). De manera similar, la sardina bocona (que en realidad es un engráulido: *Cetengraulis mysticetus*), hablan significado alrededor del 10% del total de la captura nacional de clupeoideos y en la actualidad es una especie importante en términos de su contribución. La especie más incidental en las capturas comerciales ha sido la sardina japonesa (*Etrumeus teres*), que tradicionalmente ha mantenido niveles de producción bajos. (Cisneros-Mata, 1996). Las siete especies se han capturado por flotas pesqueras que desembarcan en puertos con infraestructura industrial para el procesamiento del producto, constituyéndose así lo que se conoce propiamente como la **pesquería de sardina**. Sin embargo, la captura de otras especies de sardinas se ha venido realizando desde tiempo atrás. Tal es el caso de *Harengula thissina*, o sardina plateada, que es utilizada como carnada viva en la pesca deportiva. Más recientemente, se realiza la captura de

juveniles de otras especies, que se presentan al mercado en forma deshidratada para su consumo como "charal seco". La captura de estas especies no se considera dentro de la pesquería de la sardina y tampoco registradas en la pesca deportiva ni en la pesca artesanal o de escama. La carencia de registros fiables no permiten evaluar su importancia económica o el efecto que representa la captura de juveniles en sus poblaciones. Comparativamente, con las siete especies que conforman la pesquería, el resto de las sardinas y anchovetas, casi todas ellas menores de 15 cm de longitud patrón, juegan un papel menor en el consumo humano directo o indirecto. Sin embargo, todas en general, participan de manera importante en las relaciones tróficas dentro de estuarios, esteros y aguas costeras; a menudo los huevos, larvas, juveniles y adultos de sardinas y anchovetas predominan en abundancia sobre los otros grupos de peces, por lo que son consumidos por un amplio número de depredadores. Los aspectos relativos a la distribución de los recursos en general han sido abordados, tradicionalmente, desde dos puntos de vista diferentes. El primero de ellos consiste en describir los límites extremos en los que se ha registrado la presencia de la especie, ofreciendo una imagen esquemática, que se utiliza básicamente con fines biogeográficos y sistemáticos. Por otra parte, los cambios en la distribución de las especies en cuestión son sumamente marcados y se dan como resultado tanto de variaciones en el medio ambiente como interacciones muy importantes entre los elementos que la conforman. Ello hace necesario considerar la distribución en términos más dinámicos, a fin de entender los mecanismos involucrados y en consecuencia, los cambios en la abundancia y disponibilidad de los recursos pesqueros, puesto que los dos enfoques obedecen a diferentes propósitos (Bakun, 1990) <sup>68</sup>.

## Distribución

### **Sardina Monterrey** (*Sardinops caeruleus* ).

Distribución Geográfica.- Es una especie pelágica costera que forma cardúmenes grandes y puede realizar movimientos amplios dentro de su área de distribución; se le encuentra en la costa pacífica de América, desde la costa sureste de Alaska (EUA) hasta la punta del sur de la península de Baja California y el Golfo de California, tan al sur como Mazatlán.

Distribución estacional.- En la primavera se localiza en el Golfo de California, de Cabo Tepoca a Yavaros (Son.) y de Bahía San Luis Gonzaga a Punta Chivato, en las costas de Baja California. En Verano desde Puerto Libertad (Son.) a Isla Patos (Son.), y desde Bahía San Luis Gonzaga a Bahía San Rafael (BC). En el otoño desde Puerto Libertad (Son.) a Isla Lobos (Son.) y desde Bahía San Luis Gonzaga a Isla San Marcos, en la porción occidental del Golfo. En invierno desde Cabo Lobos (Son.) hasta Agiabampo (Sin.) y en la costa de Baja California en los alrededores de Isla Tortuga e Isla San Marcos.

### **Sardina crinuda azul** (*Opisthonema libertate* ).

Distribución Geográfica.-Es una especie pelágica-costera que forma cardúmenes grandes y puede realizar movimientos amplios dentro de su área de distribución; se le encuentra del norte desde Santa Rosalía en la costa pacífica de Baja California, dentro del Golfo de California, hacia el sur hasta la Punta Sal y Punta Picos, Perú.

Distribución estacional.- En la primavera se localiza en el Golfo de California, se encuentra desde Bahía Kino hasta Teacapán (Sin.). En Verano la especie se puede distribuir desde Teacapán (Sin.) hasta Puerto Libertad (Son.) y al norte de Bahía Concepción (BCS). En el otoño, su distribución es igual a la del verano, en la costa

oriental, y desde Bahía San Luis Gonzaga hasta Bahía Santa Inés, en la porción occidental del Golfo. En invierno se localiza desde Desemboque (Son.) hasta Chametla (Sin.) y en la costa de Baja California en los alrededores de Isla San Marcos. Estas especies constituyen poblaciones que se desarrollan en el sistema de la corriente de California-Golfo de California, y son un ejemplo de las asociaciones características de los márgenes de surgencias costeras de los grandes giros oceánicos. El componente estacional en estos sistemas es importante. A diferencia de lo que podría ocurrir en condiciones más tropicales, las características de transición climática determinan una marcada estacionalidad en algunas variables importantes del ambiente abiótico, como temperatura, surgencias, luminosidad, vientos corrientes, etc. La temperatura ha sido considerada de manera tradicional no sólo como un factor importante en sí mismo, sino también como buen indicador de los cambios del ambiente abiótico, capaz de reflejar las variaciones de otros parámetros también importantes. En este sentido, se ha correlacionado con éxito las variaciones de temperatura con las de productividad, salinidad, surgencias y vientos, entre otros. Una de las especies que responden de manera clara a estas variaciones es la Sardina Monterrey (*Sardinops caeruleus*), que se ha identificado como una de las especies determinante en la dinámica del sistema (Cisneros-Mata, 1996).

## **JUSTIFICACION**

### **Situación actual.**

Actualmente no existen valores de contenido de ácidos grasos en los alimentos producidos y consumidos en México, incluyendo los que hasta este momento se

investigan como potencialmente nutritivos, de los cuales nuestro país cuenta con una gran diversidad. Las tablas sobre *Composición de Alimentos Mexicanos*<sup>65</sup> y *Latinoamericanos*<sup>66</sup>, no incluyen las concentraciones de la mayoría de los ácidos grasos, lo que hace importante el análisis de estos nutrimentos. Las primeras presentan los valores de AGS totales, de AGMI (oleico) y de AGPI como linoleico de unas cuantas especies marinas. Las segundas solo presentan el contenido de grasa total /100g de porción comestible.

Para el cálculo dietético de pacientes con problemas en el metabolismo de lípidos se utilizan los valores informados por la USDA<sup>17</sup>, en el Handbook 8, que, por otro lado, informa alimentos que no equivalen a los que actualmente se consumen en nuestro país. Se indica la cantidad en g/100 g de porción comestible en promedio  $\pm$  el error estándar y el número de muestras analizadas. Aunque también existen los valores informados por Paúl y Southgate<sup>16</sup>, quienes informan alimentos que en su mayoría no corresponden a los de nuestro país. En forma general los ácidos grasos que se investigarán se enlistan en el cuadro 4.

Por las razones expuestas brevemente, es necesario medir la concentración de los ácidos grasos en alimentos que puedan utilizarse para la alimentación humana o bien como fuentes alternas en alimentación animal.

### CUADRO 4

Nomenclatura, familia y nombre sistemático de los ácidos grasos

nomenclatura	familia	nombre trivial o sistemático ácido:
<b>SATURADOS</b>		
4:0		BUTIRICO*
6:0		CAPROICO*
8:0		CAPRILICO*
10:0		CAPRICO*
12:0		LAURICO*
14:0		MIRISTICO*
16:0		PALMITICO*
18:0		ESTEARICO*
<b>MONOINSATURADOS</b>		
14:1Δ9c		MIRISTOLEICO(cis-9-tetradecenoico)
16:1Δ9c		PALMITOLEICO(cis-9-hexadecenoico)*
18:1Δ6c		PETROSELINICO(cis-6-octadecenoico)
18:1Δ9c		OLEICO(cis-9-octadecenoico)*
18:1Δ11c	n-7	VACCENICO (cis-11-octadecenoico)
20:1		GADOLEICO(eicosanoico)*
22:1Δ13c		ERUCICO(cis-13-Docosenoico)*
<b>POLIINSATURADOS</b>		
18:2	n-6	LINOLEICO (octadecadienoico)*
18:3	n-3	LINOLENICO (octadecatrienoico)*
18:4	n-3	ESTEARIDONICO*
20:4	n-6	ARAQUIDONICO*
20:5	n-3	EICOSAPENTAENOICO*
22:6	n-3	DOCOSAHEXAENOICO*
24:1	n-9	NERVONICO (15-TETRACOSENOICO)

\* Informados por la USDA<sup>17</sup>

**TESS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## **OBJETIVO**

El objetivo del presente trabajo de investigación fue medir la concentración de los ácidos grasos contenidos en la porción comestible de la especie de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*) cruda obtenida de las costas del Pacífico mexicano y su variación estacional desde marzo 1996 y febrero de 1997.

## **MATERIALES Y METODOS**

A) Estandarización del método de cromatografía de gases.- Las condiciones de operación fueron las siguientes : flujo de  $H_2 = 35 \text{ mL /min}$ ; flujo de  $N_2 = 35 \text{ mL /min}$  ; flujo de Aire =  $330 \text{ mL /min}$ , con una relación split 1:50. Esta relación "split" significa la cantidad que se diluye la muestra por los gases antes de entrar a la columna, la misma relación split se utilizó tanto para los estándares como para los problemas que se inyectaron al equipo. La temperatura del detector se acondicionó a  $280^\circ\text{C}$ , la del inyector se optimizó a  $200^\circ\text{C}$  y la de la columna fue variable obteniendo un gradiente de temperatura, que inició en  $116^\circ\text{C}$  y terminó en  $230^\circ\text{C}$ . Una vez realizado esto, se instaló la columna DB-23 de  $0.25 \mu\text{m} \times 30 \text{ m}$  y se acondicionó por 24 horas. Al final de este tiempo se realizaron inyecciones individuales de los patrones. Inicialmente el tiempo de análisis fue de 25 minutos, pero debido a que la columna sufre de "saturación" cuando se inyectan las muestras, este tiempo se alargó a 35 min, con lo cual se logró un tiempo de "lavado de columna" que no interfiere con el siguiente análisis. Cada patrón se preparó a una concentración conocida, disolviéndolo en cloroformo grado HPLC (Merck, Co). Posteriormente cada solución patrón se inyectó en el cromatógrafo

en volúmenes de 1 uL. En primera instancia se inyectaron patrones de ácidos grasos en forma individual para obtener el tiempo de retención ( $T_r$ ) y área (A) de cada uno. Cada inyección se realizó por triplicado para obtener así coeficientes de variación aceptables para el análisis cromatográfico ( $< 10\%$ ). Con estos resultados se llenó una tabla en el programa de la computadora (Star Cx), con lo cual se logró la identificación y cuantificación de los AG en las muestras inyectadas posteriormente. Además de los 20 AG mostrados en el cuadro 1 se inyectó ácido heneicosanoico como un segundo estándar interno y más adelante otro AG, el ácido eicosapentaenoico o EPA. Para este efecto se colocaron en un vial, 10 uL de cada uno de los patrones recién preparados, hasta un volumen final de 220 uL el cual se aforó a 1000 uL por la adición de 780 uL de cloroformo. Así cada AG se encontró diluido 1:100 en esta mezcla. Una vez preparadas las soluciones patrón se mantuvieron a 0-4°C, sobre hielo, en lo que se inyectaba en el equipo. Se registró el  $T_r$  y el área y se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de cada grupo de inyecciones.

## **MUESTREO**

El muestreo de la sardina se realizó en dos formas: la primera mediante un convenio realizado con la Universidad de Colima, quien envió muestras mensualmente de diferentes pesquerías.

Las muestras se obtuvieron en el área de estudio localizada entre los meridianos 103°59' a 104°44' de longitud oeste y a los 18°53' a 19° latitud norte. En los litorales de la costa de Colima a lo largo de 160 Km. El método de obtención de

los peces fue de pesca ribereña, con muestreo al azar en el lugar de su captura. La muestra obtenida se transportó en hieleras por avión el mismo día de su captura manteniendo todo el tiempo una temperatura de 0-4°C. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico y se transportaron cubiertas con hielo.

La segunda forma de muestreo se realizó en la central de abasto de peces y mariscos "Nueva Viga" de la ciudad de México, cuando en algún mes no se recibió muestra de sardina de Colima. La forma de muestreo en esta central fue directa en el camión a la 5.00 AM, al azar. Cada camión provenía de un origen definido a saber: Mazatlán, Jalisco y Colima. No se obtuvo información sobre el arte de pesca, pero generalmente se realiza por arrastre con redes que tienen un tamaño de malla de 2.5 x 1.2 cm. La identificación de la especie se realizó con tablas taxonómicas (Álvarez, 1981)<sup>69</sup> y con tablas anexas, proporcionadas por la ENEP Iztacala.

#### **CRITERIOS DE SELECCIÓN.-CRITERIOS DE INCLUSION**

Se verificó que todos los productos se conservaran en buen estado, sin golpes, magulladuras y completos.

#### **TRATAMIENTO DE LA MUESTRA**

Todas las muestras se lavaron con agua desionizada, se eliminaron escamas, vísceras y aletas. Se separó la porción comestible de las partes laterales de cada pescado y una porción exactamente pesada de esta se procesó para la extracción

de los lípidos totales y su esterificación con trifluoruro de boro según Ackman<sup>(55,56)</sup>. La recuperación de los lípidos mediante el método usado fue del  $97 \pm 3.9\%$ .

## **PROCEDIMIENTOS**

El análisis de los ácidos grasos en las muestras se llevó a cabo por diferentes pasos que a continuación se mencionan:

- 1) Extracción de lípidos totales con solventes no polares según el método de Folch<sup>70,78,79</sup> y con los métodos de AOAC<sup>2,71</sup>.
- 2) Saponificación de los productos extraídos
- 3) Esterificación de los ácidos grasos por el método de trifluoruro de Boro, AOAC<sup>3</sup> y como lo describe Metcalfe<sup>72</sup> y Ackman.
- 4) Análisis cuantitativo por cromatografía gas-líquido capilar, según los métodos descritos por Slover y Lanza<sup>(73,74)</sup> y Body<sup>10</sup>, y con modificaciones hechas por nosotros para las condiciones de nuestro laboratorio con detección por ionización de flama (FID)<sup>75,76,77,80</sup>.

## **METODO PARA LA EXTRACCION DE LOS LIPIDOS**

### Reactivos

- a) Metanol, GR
- b) Cloroformo, GR
- c) Sulfato de sodio anhidro,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , GR
- d) Tierra de diatomeas, GR
- e) Hexano, GR

### Procedimiento

- 1) Pesar de 10-20g de la muestra, preferentemente la porción comestible, por lo que la muestra deberá deshuesarse y se deberán separar las partes no comestibles como piel, escamas, espinas, etc.
- 2) Colocar en un vaso de precipitados de 250 mL
- 3) Agregar 50-100 mL de metanol
- 4) Homogeneizar muy bien la muestra con un homogeneizador de tejidos (Polytron, Brinkmann Instruments) a 500 rpm por 5-10 minutos o hasta que no se observen grumos y este completamente homogeneizado.
- 5) Transferir a un matraz Erlen-Meyer de 250 mL y agregar 50-70 mL de cloroformo y 20 mL de H<sub>2</sub>O
- 6) Agitar durante 30 min. a 200 rpm
- 7) Agregar 50 mL de cloroformo y 20 mL de H<sub>2</sub>O, y volver a agitar en las mismas condiciones
- 8) Filtrar con papel Whatman 1 en un embudo Buchner con 2g de tierra de diatomeas
- 9) Lavar el papel filtro y el matraz con 50 mL de cloroformo
- 10) Transferir todos los lavados y el primer filtrado a una probeta graduada de polipropileno de 250 o 500 mL
- 11) Dejar reposar por espacio de 15-30 min hasta que se separen las dos capas (acuosa y clorofórmica)
- 12) Registrar y anotar el volumen de la capa clorofórmica (inferior)
- 13) Eliminar la capa acuosa por aspiración con vacío

- 14) Filtrar una alícuota de 100 mL del extracto de lípidos en un embudo que contenga 25 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$
- 15) Lavar el  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  con 15 mL de cloroformo.
- 16) Evaporar los extractos a sequedad a  $90^\circ\text{C}$  en baño de agua y en atmósfera de  $\text{N}_2$
- 17) Redisolver el extracto lipídico en 50 mL de hexano. (esta última fracción corresponde a el extracto lipídico que contiene a los ácidos grasos libres, fosfolípidos, triacilgliceridos y esteroles)

### **SAPONIFICACION Y EXTRACCION DE LA FRACCION SAPONIFICABLE (AOAC 43.289)**

#### **Parte I**

- 1) Filtrar una alícuota de 100 mL del extracto de lípidos en un embudo conteniendo lana de vidrio y 25g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro
- 2) Lavar el  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  con 15 mL de cloroformo
- 3) Evaporar los extractos a sequedad a  $90^\circ\text{C}$  en baño de agua y atmósfera de  $\text{N}_2$ .
- 4) Disolver el residuo en 70 mL de éter de petróleo
- 5) Filtrar con papel Whatman del No. 1 y 20g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$
- 6) Evaporar a sequedad en atmósfera de  $\text{N}_2$  en matraz Erlen Meyer

#### **Parte II**

- 1) Colocar el matraz Erlen Meyer en una parrilla con agitador magnético
- 2) Con agitación suave agregar lentamente 8 mL de KOH alcohólica (60g en 40 mL de agua y 40 mL de alcohol reactivo)

- 3) Unir el condensador, encender la parrilla y poner a reflujo 1 h
- 4) Apagar la parrilla y agregar 60 mL de alcohol reactivo a través del condensador mientras se enfría
- 5) Cuando ya no hay reflujo quitar el condensador y pipetear 100 mL de benceno y agitar
- 6) Quitar el foco del sistema y agitar vigorosamente 30 seg.
- 7) Colocar en un embudo de separación de 500 mL sin lavar
- 8) Agregar 200 mL de KOH 1N y agitar 10 seg.
- 9) Dejar separar las capas y descartar la capa acuosa(inferior)
- 10) Lavar la capa de benceno con 40 mL de KOH 0.5N
- 11) Rotar 10 seg.
- 12) Descartar la capa acuosa (inferior)
- 13) Poner en un embudo de separación limpio de 250 mL
- 14) Retrolavar con benceno con 40 mL de agua rotando 10 veces
- 15) Repetir el lavado 3 veces más
- 16) El pH del último lavado debe ser 7.0
- 17) Filtrar con papel Whatman del No. 4 con 15g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$
- 18) Recibir en un matraz Erlen Meyer g-s (con tapón de vidrio)
- 19) Agregar 20g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, tapar y agitar vigorosamente
- 20) dejar en reposo 15 min.
- 21) Pipetear alicuotas de 50 mL en matraz rb-gs (fondo redondo)
- 22) Evaporar a sequedad en un rotavapor 40°C
- 23) Agregar 3 mL de acetona y evaporar a sequedad
- 24) Disolver el residuo en 3 mL de etil benceno

## **PREPARACION DE LOS ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS**

*Esterificación en presencia de trifluoruro de boro (Método AOAC 28.059)*

### Reactivos

- a) Trifluoruro de Boro,  $\text{BF}_3$ . Pesar 125g de  $\text{BF}_3$  y disolver en 1L de Metanol, estable 2 años.
- b) Solución metanólica de NaOH 0.5N.- Disolver 2g de NaOH en 100 mL de metanol
- c) Heptano puro, grado cromatografía de gases
- d) Soln. de rojo de metilo 0.1% en etanol al 60%.
- e) Nitrógeno, grado cromatográfico <5%  $\text{O}_2/\text{Kg}$
- f) Soln. NaCl saturado

### Procedimiento

- 1) Agregar la muestra al matraz bola según la tabla anexa y la solución metanólica de NaOH. Agregar perlas de ebullición.
- 2) Adaptar el condensador y colocar en reflujo hasta que los glóbulos de grasa desaparezcan (5-10 min).
- 3) Agregar el  $\text{BF}_3$  con una pipeta automática a través del condensador y continuar la ebullición por dos minutos
- 4) Agregar 2-5 mL de heptano y ebullicir 1 min.
- 5) Enfriar, quitar el condensador y agregar varios mililitros de solución saturada de NaCl.

- 6) Rolar el matraz por varios minutos
- 7) Agregar mas NaCl saturado hasta la separación del heptano
- 8) Transferir 1 mL de heptano (capa superior) en un tubo de ensayo (fondo redondo) y agregar una pequeña cantidad de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, para remover el  $\text{H}_2\text{O}$ . Si es necesario, diluir la solución a una concentración de 5-10% para cromatografía de gases
- 9) Para recuperar los esteres secos, transferir las dos fases (acuosa y heptano), a un embudo de separación de 250 mL
- 10) Extraer con dos porciones de éter de petróleo de 50 mL (punto ebullición 30-60° C) o hexano.
- 11) Lavar los extractos combinados con dos porciones de 20 mL de agua o hasta que este libre de ácido (indicador rojo de metilo)
- 12) Secar sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anh., filtrar y evaporar en atmósfera de nitrógeno y baño de agua. Si la muestra es menor a 500 mg reducir los volúmenes de disolvente y agua.
- 13) La muestra evaporada puede reconstituirse con 1 mL de etil benceno (o cloroformo), en un vial con tapón de rosca y septa
- 14) Inyectar 1  $\mu\text{L}$  (1 microlitro) en el cromatógrafo de gases, por triplicado.
- 15) Una vez analizada la muestra, el vial se puede almacenar a  $-20^\circ\text{C}$ , para un reanálisis posterior.

muestra (mg)	matraz (mL)	NaOH 0.5N (mL)	Reactivo BF <sub>3</sub> (mL)
100-250	50	4	5
250-500	50	6	7
500-750	100	8	9
750-1000	100	10	12

**Notas:**

- Los ésteres mas volátiles pueden perderse si se prolonga la evaporación o si el baño de agua esta muy caliente
- Trabajar siempre en campana
- Lavar todo el material de vidrio inmediatamente después de usarlo
- Purgar todo el material con cloroformo antes de su utilización
- Eliminar las burbujas de aire del metanol, para evitar posibles oxidaciones de los ácidos grasos insaturados
- Mantener el heptano en atmósfera de nitrógeno y en refrigeración
- Se utilizó como antioxidante 2,6-diterbutil-4-metil-fenol (BHT) al 0.005%.

**ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES**

EQUIPO.- El análisis cromatográfico se realizó en un equipo VARIAN 3400 CX, que contenía un inyector split-splitless y un detector de ionización de flama (FID). La columna capilar utilizada fue de silica de 30m de largo por 0.53 mm de

diámetro, con un tamaño de partícula de 0.25  $\mu\text{m}$ . El gas portador utilizado fue  $\text{N}_2$  grado cromatografía de gases y extraseco (LINDE Co.), de la misma forma que el  $\text{H}_2$  y el aire usados para el detector.

La presión de entrada de los gases al equipo se ajustó a 30 mL/min el  $\text{N}_2$ , 300 mL/min el aire y 30 mL/min el  $\text{H}_2$ . El flujo final de  $\text{N}_2$  en la columna fue de 5 mL con un venteo del 95% y un ajuste de 7 mL. Con estos datos se obtuvo una relación de split de 1:50. El equipo estaba acoplado a una computadora la cual contenía el programa STAR para el manejo de datos cromatográficos.

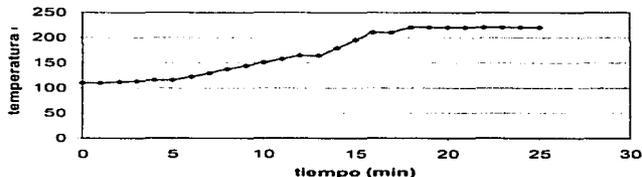
#### ACONDICIONAMIENTO DE LA COLUMNA

Antes del análisis la columna DB-23 se acondicionó por 24 horas a temperatura constante de 240° C.

#### GRADIENTE DE TEMPERATURA

Se utilizó un gradiente de temperatura, programando la temperatura de la columna de la siguiente forma: 1 minuto a 110° C, después se aumenta la temperatura a una velocidad de 2°C/ minuto durante 3 min., seguidos por un cambio de velocidad a 7°C/min durante 8 min, aumentando posteriormente a 15°C/min durante 3 min y manteniendo la temperatura final a 220 °C por aproximadamente 4 min. Entre cada cambio de temperatura se dejaba estabilizar un minuto. El tiempo total del análisis fue de 25 minutos (ver figura 1).

**Figura 1**  
**Gradiente de Temperatura de la columna en la**  
**determinación de ácidos grasos por**  
**Cromatografía capilar de gases**



#### Condiciones cromatográficas del equipo

Tipo de inyector:	split/splitless
Inyección:	1 $\mu$ L
Columna:	DB-23, 30 m x 0.53 mm
Split:	1:50
Flujo de gases :	
Nitrógeno	30 ml/min
Hidrógeno	30 ml/min
Aire	300 ml/min
Detección	Ionización de Flama
Temperatura del detector	280°C
Temperatura del inyector	200°C
Programa de temperatura:	si, 110-220°C

#### ANÁLISIS

Los ácidos grasos se identificaron por la obtención de los tiempos de retención ( $t_r$ ) de los patrones de referencia utilizados. Los patrones utilizados fueron los ésteres metílicos de los ácidos caprílico, capríco, laurico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmítoleico, estearico, eláidico, oleico, linoleico, petroselinico, cis vaccenico, linolelaídico, araquidónico, linolenico, cis-11-eicosenoico, erucico,

icosapentaenoico y docosahexaenoico (SIGMA CHEM. CO. y POLISCIENCE CO). Estos patrones se inyectaron primero en forma individual para obtener el tr y después se inyectaron como una mezcla de todos los patrones disponibles. Se inyectó en el equipo, en todos los casos en forma manual, 1µL del patrón, cada vez hasta obtener los mas bajos coeficientes de variación, realizándose un promedio de 10 a 15 inyecciones de cada patrón como promedio. Posteriormente cuando se inyectaron las mezclas de los patrones se determinó como se modificaban los tr y áreas de las mezclas. Como estándar interno se utilizo ácido nervónico según lo recomiendan Metcalfe y Ackman <sup>(56,72)</sup>.

Una vez determinadas las condiciones del análisis se inyectaron las muestras reconstituidas en cloroformo por triplicado. El volumen de inyección fue de 1 µL.

#### CALCULOS

La concentración de los ácidos grasos en mg/ 100 g de muestra se obtuvo por medio de la siguiente formula :

$$\text{mg del AG/100g de muestra} = \frac{(\text{área muestra}) \times \text{factor} \times \text{dilución ( o aforo)} \times 100}{\text{gramos de muestra}}$$

$$\text{factor} = \frac{\text{concentración del patrón}}{\text{área del patrón}}$$

El factor es diferente para cada ácido graso en particular de manera que se manejan tantos factores como patrones se utilicen.

## **RESULTADOS**

En el presente trabajo se detallan los resultados de la estandarización y aplicación del método de cuantificación de ácidos grasos utilizando un detector de ionización de flama. Para entender mejor estos resultados se presentan en dos partes, la primera corresponde a la estandarización y optimización del método utilizando patrones de muestras. En la segunda parte se presentan los resultados de la aplicación del método en las muestras de peces.

### **Parte 1.- Estandarización del método**

El cuadro 4 muestra los resultados de la inyección individual de 20 ácidos grasos AG, (posteriormente se añadieron 2 más, el ácido heneicosanoico y el ácido eicosapentaenóico o EPA). Cada ácido graso se inyectó por triplicado aunque en algunos casos el promedio representa mas de 6 inyecciones.

Prácticamente todos los tiempos de retención muestran coeficientes de variación (CV) menores al 1%, mientras que el área muestra coeficientes de variación menores al 10% con excepción de DHA, cis-vaccenico, petroselinico, linoleaidico, erucico y laurico.

Estas áreas no se usaron para el calculo de la concentración de AG, solo se utilizaron para obtener las condiciones iniciales de separación cromatográfica, esto es, si los picos se separaban correctamente. Por otro lado la obtención de los tiempos de retención de cada ácido graso individual fue necesaria para evaluar que se obtuviera poca resolución en el método.

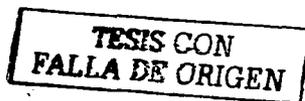
Los ácidos grasos saturados inyectados fueron: caprílico (8:0), cáprico (10:0), laurico (12:0), mirístico (14:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0).

Los ácidos grasos monoinsaturados inyectados fueron el ácido miristoleico (14:1), palmítoleico (16:1), petroselinico (18:1), oleico (18:1), cis-11-eicosenoico (20:1) y erucico (22:1n13c). Mientras que los ácidos grasos poliinsaturados inyectados fueron el ácido linolenico (18:3n3), eicosapentaenoico AEP (20:5n3), y docosahexaenoico ADH (22:6n3), que corresponden a los ácidos grasos n-3 y los ácidos linoleico (18:2n6) y araquidonico (20:4n6) que corresponden a los ácidos grasos n-6.

**Cuadro 4**  
**Inyección individual de los esteres metílicos de los ácidos grasos**

	<b>Tiempo de retención Promedio ± DE</b>	<b>CV</b>	<b>Area promedio ± DE</b>	<b>CV</b>
Caprílico	3.388±0.055	1.62	10141758 ± 128422	1.26
Capricho	5.795±0.026	0.458	32259628 ± 542785	1.7
Laurico	9.053±0.034	0.38	27171782 ± 3254878	11.97
Mirístico	12.181±0.02	0.165	27190853 ± 2447044	8.9
Miristoleico	12.797±0.057	0.44	42845224 ± 1570988	3.7
Linolenico	13.928±0.016	0.11	3540606 ± 12130	0.34
Palmitico	14.688±0.0075	0.051	560053 ± 32347	5.7
Palmitoleico	15.338±0.03	0.2	31726385 ± 3165258	9.9
araquidonico	15.551±0.003	0.019	222881 ± 3112	1.4
Estearico	16.819±0.023	0.141	9531933 ± 493672	5.2
Elaidico	16.925±0.01	0.064	14492777 ± 1940392	13.4
Petroselinico	17.003±0.036	0.212	17907292 ± 4004666	22.36
cis-vaccenico	17.067±0.016	0.094	16489202 ± 2361253	14.3
Oleico	17.05±0.05	0.29	26865026 ± 1 68580	0.62
Linolelaidico	17.225±0.037	0.216	14442532 ± 1590487	11.01
Linoleico	17.368±0.0086	0.049	9993258 ± 643585	6.4
cis-11-eicosenoico	18.677±0.0085	0.045	11188817 ± 931122	8.3
Erucico	20.53±0.021	0.105	4807008 ± 635681	13.22
Nervónico	22.837±0.0055	0.024	2692903 ± 73140	2.71
docosahexaenoico	22.858±0.0097	0.042	636064 ± 87476	13.7

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar



Se observa un agrupamiento importante entre los minutos 16.819 y 17.225, lo cual es indicativo de dificultad en la separación, cuando se inyectan en forma de mezclas. Se obtuvieron cerca de 100 cromatogramas que corresponden solo a la inyección individual de cada uno los patrones.

El coeficiente de variación (cuadro 4) del tiempo de retención fue menor al 0.5% en prácticamente todos los casos con excepción del ácido caprílico que mostró el CV mas alto (1.62%), pero los AG que mostraron menor CV fueron el ácido palmítico (CV = 0.051), nervonivo (CV = 0.024) y araquidónico (CV 0,019).

La inyección individual de los AG es necesaria ya que se requiere conocer el tiempo que tardan en salir los AG de la columna cromatográfica. En el caso de las áreas se observan coeficientes de variación mas altos, debido principalmente al tipo de patrón utilizado, ya que para su preparación la cantidad de AG disponible era menor. El valor de CV mas alto para las áreas obtenidas fue el del ácido petroselinico (22.36%) y el menor fue para el ácido linolenico ( 0.34%) de los 20 AG inyectados solo 7 de ellos tienen CV menores al 5% para las áreas.

El cuadro 5 muestra los resultados de la inyección de una mezcla de 22 patrones, la primera columna muestra el éster metílico inyectado, las siguientes tres columnas muestran la clave de 3 de las inyecciones de la mezcla patrón, la siguiente columna muestra el promedio de las inyecciones y posteriormente la desviación estándar, el coeficiente de variación y la concentración inyectada de cada estándar.

**Cuadro 5**  
**Resultados de la inyección de la mezcla de 22 patrones**

Pico No.	Ester metílico del ácido	Tiempo de retención promedio $\pm$ desv. Estd. (minutos)	CV (%)	Área Promedio $\pm$ desv. Estd.	CV (%)	Concentración (mg/mL)
1	Caprílico	3.175 $\pm$ 0.0028	0.09	10805.5 $\pm$ 3447	31.9	0.5
2	Cáprico	5.639 $\pm$ 0.0155	0.28	473304 $\pm$ 128639	27.2	0.5
3	Laurico	8.885 $\pm$ 0.0025	0.03	2633629 $\pm$ 46100	1.75	1
4	Mirístico	11.958 $\pm$ 0.0151	0.13	2700509.5 $\pm$ 555535	2.06	1
5	Miristoléico	12.485 $\pm$ 0.0108	0.09	1465467 $\pm$ 32828	2.24	14.3
6	Linoléico	13.892 $\pm$ 0.0023	0.02	35155 $\pm$ 521	1.48	7
7	Palmitico	14.692 $\pm$ 0.0072	0.05	34653 $\pm$ 1364	3.94	1
8	Palmitoléico	15.065 $\pm$ 0.0120	0.08	1103916 $\pm$ 27476	2.49	12.8
9	Araquidónico	15.222 $\pm$ 0.0020	0.01	18795.5 $\pm$ 1235	6.57	4.5
10	Estearico	16.690 $\pm$ 0.0194	0.12	277222 $\pm$ 14289	5.15	1
11	Eláidico	nd	--	Nd	--	6.1
12	Petroselinico	16.913 $\pm$ 0.0183	0.11	3277489 $\pm$ 239774	7.32	6
13	Oleico	17.068 $\pm$ 0.0128	0.08	338769.5 $\pm$ 13025	3.84	10.4
14	Cis-vaccenico	nd	--	Nd	--	6.4
15	Linolelaídico	nd	--	Nd	--	6.5
16	Linolenico	17.271 $\pm$ 0.0137	0.08	331039 $\pm$ 9013	2.72	8.8
17	Cis-11-oleicosenolco	18.483 $\pm$ 0.0085	0.05	251952 $\pm$ 6269	2.49	6.5
18	Henolcosenolco	19.473 $\pm$ 0.0671	0.34	25656872 $\pm$ 75976	2.96	50
19	Eruico	20.119 $\pm$ 0.0115	0.06	433243.5 $\pm$ 7886	1.82	4.6
20	Eicosapentaenolco	20.361 $\pm$ 0.047	0.02	76968 $\pm$ 152	0.20	1
21	Nervónico	22.829 $\pm$ 0.0106	0.05	203660 $\pm$ 7702	3.78	4.4
22	Docosahexaenolco	22.912 $\pm$ 0.0306	0.13	36585 $\pm$ 2763	7.55	16.5

nd = no detectado

La inyección en forma de mezcla da lugar a dos hallazgos; primero, los ácidos grasos como el eláidico, cis-vaccenico y linolelaídico no aparecen en la inyección de la mezcla de los estándares probablemente debido a que sus áreas son muy pequeñas ya que se hizo una dilución 1:100 de los estándares originales. Este problema se resolvió al utilizar estándares mas concentrados.

Segundo el ácido caprílico y el ácido cáprico muestran coeficientes de variación mayores al 20% en su área, mientras que los demás presentan valores menores al

7%. Los tiempos de retención muestran coeficientes de variación menores al 0.5%. Con estos datos se confirma que el método es útil para la identificación y cuantificación de 19 ácidos grasos.

La figura 2 muestra el corrimiento cromatográfico de la mezcla de los patrones de ácidos grasos utilizados (VER ANEXO 1). Se observa una buena separación de picos con un tiempo total de análisis de 30 minutos. En el eje de las ordenadas se presenta la respuesta en milivolts (mV) y en el eje de las abscisas se presenta el tiempo de análisis en minutos.

La variación intra día de patrones iguales inyectados siempre fue menor al 0.5%, y la variación inter ensayo fue menor al 0.1%. Estos valores indican que la identificación de los ácidos grasos inyectados en el CG es muy confiable ya que se pueden identificar los AG con un alto grado de precisión y exactitud; aun cuando en el tiempo de retención entre el minuto 17.0 y 18.0 aparecen 5 AG, se puede identificar a cualquiera de esos AG utilizando el promedio de ese tiempo  $\pm$  3 veces la desviación estándar. Este dato se incluye en el programa de integración de picos del equipo como un control de calidad del análisis.

Fue necesario inyectar la mezcla de los patrones cada vez que se inyectaran muestras y calcular la concentración de los problemas con sus patrones inyectados ese día, por lo tanto no es posible obtener una curva patrón de los AG por semana o mes. Se realizó la inyección de concentraciones variables de un AG, el ácido palmítico ( con un CV= 3.94% para el área) obteniendo una correlación con una  $r = 0.9897$ . Estos resultados muestran que la respuesta del equipo a la concentración inyectada estaba en un intervalo lineal.

El Tr obtenido para estas inyecciones mostró CV más bajos que para la inyección individual, es decir el CV mas alto para el Tr fue para el ácido heneicosanóico (0.34) y el más bajo fue para el ácido araquidónico (0.01).

Solo 5 ácidos grasos mostraron CV mayores al 5%. Y de estos solo tres mostraron similitud con los resultados obtenidos para las inyecciones individuales, los que son el ácido petroselinico, el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenóico.

Se debe recordar aquí que se inyecta 1 microlitro (0,001 mL) de muestra o estándar al equipo y que este a su vez diluye la muestra 1:100 y que esta dilución (en inglés se conoce como splitt) es la que se introduce a la columna, de manera que se cuantifican los ácidos grasos en una cienmilésima parte de un mililitro. La cuantificación por lo tanto tiene un error determinado.

Al mismo tiempo la respuesta de cada ácido graso a la cuantificación en el detector de ionización de flama es diferente, es decir la presencia del pico demuestra su separación pero en algunos casos el tamaño del pico (respuesta en milivolts) no es lo suficientemente alta con respecto a otros picos para una misma concentración, por lo que cuando se inyectan la mezcla algunos de ellos no aparecen o no se detectan o su respuesta se toma como una señal de ruido y por lo tanto no se integra como un resultado. Es por esta razón que algunos picos (elaidico, cis-vaccenico y linolelaidico) no aparecen en la inyección de la mezcla de los patrones a las concentraciones indicadas en el cuadro 5.

Parte 2.- Aplicación del método en las muestras de peces.

Todos los valores dados en las siguientes tablas se basan en el análisis cromatografico capilar gas líquido de los ésteres metilicos de los ácidos grasos.

preparados de un extracto de lípidos totales, por lo que se incluyen los ácidos grasos derivados de triacilgliceroles y fosfolípidos. La grasa total en muchos alimentos es una mezcla de triacilgliceroles, fosfolípidos, esteroides y compuestos afines, por lo que en muchas ocasiones el contenido de ácidos grasos se expresa como el contenido referido al total de lípidos. El valor para el contenido de lípidos en un alimento es extremadamente dependiente de los métodos analíticos utilizados en su medición, muchos de los cuales son aun conflictivos en los resultados que se obtienen.

Los valores para la composición de los ácidos grasos se expresan como mg del ácido graso individual por cada 100 g de ácidos grasos totales o bien como mg de ácido graso por cada 100 g de porción comestible. Como no todos los ácidos grasos están informados, la suma de los valores podría ser inferior a 100 % cuando se informan como el porcentaje del total de AG. Esto quiere decir que cuando se realiza la inyección de una muestra en el cromatógrafo existe una gran cantidad de picos que no se identifican (por no tener el patrón específico o por ser isómeros de los picos que ya están identificados), sobre todo en muestras como los peces. En forma general se identificó y cuantificó en cada muestra mas del 87% de los picos obtenidos en el análisis cromatográfico (figura 3, anexo 1).

Por esta razón en el presente trabajo se informa la concentración de los ácidos grasos como mg del AG por cada 100 g de porción comestible.

El cuadro 6 muestra las características de la sardina crinuda *Opisthonema libertate* durante 12 meses consecutivos para observar la variación de los ácidos grasos mes a mes. El cuadro muestra en la primera columna la fecha de obtención de las muestras, en la segunda el nombre de la especie estudiada en la tercera la clave

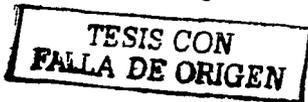
dada a la muestra, en la cuarta el número de sujetos estudiado y en las siguientes el peso, la longitud y el contenido de lípidos obtenido de las muestras. Se presentan los resultados como promedio  $\pm$  la desviación estándar. El cuadro muestra las características más importantes de las especies de sardina analizadas durante un año. La especie *Opisthonema libertate* se obtuvo en los meses de marzo, abril, mayo, junio, julio, septiembre, octubre, noviembre y febrero. No fue posible obtener muestra de esta especie en agosto, diciembre y enero. En agosto por el mal tiempo y en diciembre y enero por la presencia de la marea roja.

**Cuadro 6**  
**Características generales de la sardina crinuda *Opisthonema libertate***

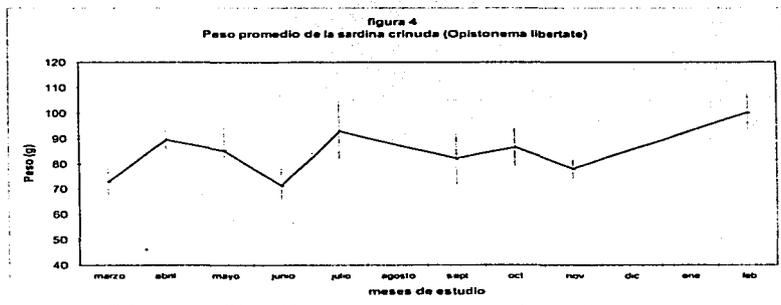
Fecha	Especie	clave	numero de sujetos	Peso promedio (g)	Longitud promedio (cm)	Lípidos %
Mar.-96	<i>O. libertate</i>	C.2.2	5	72,9 $\pm$ 5,6	21,2 $\pm$ 4,7	1,61 $\pm$ 0,1
Abr.-96	<i>O. libertate</i>	C.3.2	9	89,35 $\pm$ 4,1	19,2 $\pm$ 1,3	1,32 $\pm$ 0,6
May.-96	<i>O. libertate</i>	ca	4	85,1 $\pm$ 9,3	18,91 $\pm$ 2,7	2,37 $\pm$ 1,12
Jun.-96	<i>O. libertate</i>	ca	4	71,33 $\pm$ 6,7	20,3 $\pm$ 1,2	1,97 $\pm$ 0,73
Jul.-96	<i>O. libertate</i>	C.5.1	11	92,8 $\pm$ 11,9	21,7 $\pm$ 3,0	4,95 $\pm$ 0,65
Ago.-96	<i>S. caeruleus</i>	ca	5	101,3 $\pm$ 13	19,8 $\pm$ 6,1	4,02 $\pm$ 0,15
Sep.-96	<i>O. libertate</i>	ca	7	81,7 $\pm$ 10,2	18,9 $\pm$ 2,5	3,79 $\pm$ 0,39
Oct.-96	<i>O. libertate</i>	ca	3	86,4 $\pm$ 7,7	19,1 $\pm$ 3,5	4,66 $\pm$ 3,1
Nov.-96	<i>O. libertate</i>	ca	3	77,8 $\pm$ 3,9	20,9 $\pm$ 2,8	6,15 $\pm$ 1,76
Dic.-96	<i>S. caeruleus</i>	ca	4	105,9 $\pm$ 7,1	23,8 $\pm$ 4,0	5,27 $\pm$ 2,1
Ene.-97	<i>S. caeruleus</i>	ca	5	109,3 $\pm$ 8,6	22,8 $\pm$ 4,3	7,1 $\pm$ 3,2
Feb.-97	<i>O. libertate</i>	ca	5	99,9 $\pm$ 7,5	21,8 $\pm$ 4,6	6,3 $\pm$ 1,9

C. 2.2. = indica el numero de captura proporcionados por la Universidad de Colima  
ca = indica que fueron obtenidos en la central de abasto de la ciudad de México

La segunda forma de obtención de muestras se realizo en la central de abasto (ca) de mariscos y peces de la Cd. de México, donde se obtuvieron las muestras de sardina, directamente de los camiones que las trasportaban desde el lugar de

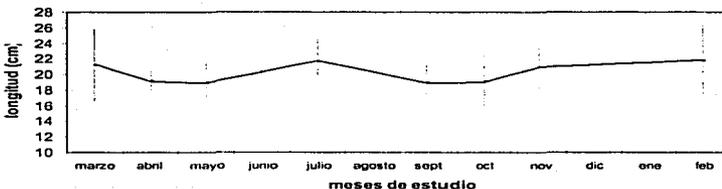


origen. Se registraron los orígenes de Guadalajara para las muestras obtenidas en mayo, junio, noviembre y diciembre; de Tepic Nayarit, para agosto y septiembre y de Colima para octubre, enero y febrero. Debido a que las muestras obtenidas por este método eran conseguidas entre las 5.00 y 6.00 AM en la central de abasto del DF (ca) no se logro diferenciar en el lugar del muestreo, los diferentes tipos de sardinas, por lo que se obtuvo como muestra en los meses de agosto, diciembre y enero la especie *Sardinops caeruleus*. Sin embargo para las figuras que se presentan no se grafican los valores de esta especie. El mayor peso para la especie *Opistonema libertate* fue en el mes de febrero ( $99.9 \pm 7.5$  g) y el menor fue en el mes de junio ( $71.33 \pm 6.7$ g) ver figura 4.



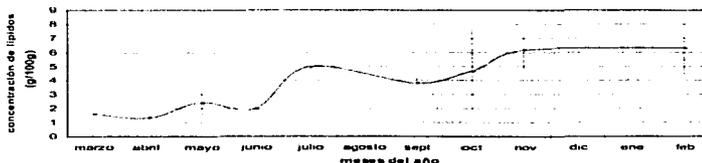
La longitud mayor se presentó en el mes de febrero ( $21.8 \pm 4.6$  cm) y la menor en el mes de septiembre ( $18.9 \pm 2.5$  cm) ver figura 5.

**Figura 5**  
**Longitud promedio de las muestras de sardina crinuda**  
**(*Opistonema libertate*) durante el tiempo de análisis**



La talla varió desde 14 cm hasta 25 cm, mientras que el peso tuvo valores entre 70 y 110g. La fracción lipídica fue mayor en los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero, lo que correlaciona con los cambios climáticos, es decir a mayor frío mayor contenido de lípidos totales. El porcentaje de lípidos obtenido en la extracción de las muestras fue menor en el mes de marzo ( 0.55 %) y mayor en el mes de enero (7.1%) ver figura 6.

**Figura 6**  
**Variación del contenido de lípidos en la sardina crinuda**  
**(*Opistonema libertate*)**



Existe una diferencia estadísticamente significativa para el peso entre los meses de febrero y noviembre ( $p < 0.05$ ), junio y marzo ( $p < 0.01$ ) y para el porcentaje de lípidos ( $p < 0.001$ ) entre los meses de diciembre y febrero y versus abril, mayo y junio. Los cuadros siguientes (7 a 9) muestran la concentración de ácidos grasos agrupados como: ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de las especies de sardina analizadas. De los 22 ácidos grasos mostrados en el cuadro 5, el ácido nervónico y el ácido heneicosanoico, los cuales no aparecen en la muestra, se utilizaron para la identificación y el cálculo de la concentración de los ácidos grasos en la muestra. Se identifican y se cuantifican sin dificultad los ácidos laurico, mirístico, miristólico, linolenico, palmitico, palmitoleico, araquidónico, esteárico, petroselinico, oleico, linoléico, cis-11-eicosanoico, erucico, eicosapentanoico y docosahexaenoico.

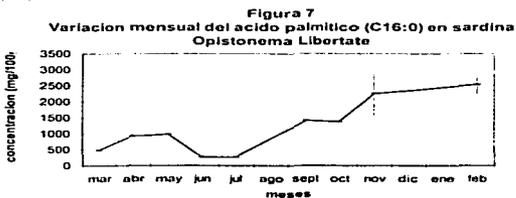
**Cuadro 7**  
**Contenido de ácidos grasos saturados en la sardina crinuda *Opisthonema Libertate***

ABREVIATURA	10:0.	12:0.	14:0.	16:0.	18:0.
NOMBRE	CAPRICO	LAURICO	MIRISTICO	PALMITICO	ESTEÁRICO
MES	mg %	mg %	mg %	mg %	mg %
MARZO		1,2±0,8	23±0,6	479,8±19	125±23
ABRIL		0,6±0,1	26,3±2,9	925,9±41	255±43
MAYO		0,7±0,2	32,7±0,6	989,5±30	320±15
JUNIO		0,3±0,02	9,1±2	264,4±46	61±5,3
JULIO		0,3±0,03	9,3±1,5	268,1±17	75±9,9
AGOSTO					
SEPTIEMBRE	H	0,8±0,2	52,4±0,4	1415±41	296±25
OCTUBRE	H	2,1±0,4	61,7±13	1380±127	364±52
NOVIEMBRE		1,8±0,06	75,7±14	2244±673	377±161
DICIEMBRE					
ENERO					
FEBRERO		2,0±0,1	91,4±12	2533±327	593±57

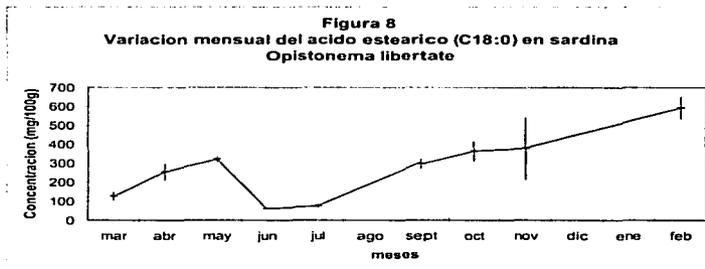
H = huellas, la concentración es menor a 0.001%

No se detectan en estas muestras, los ácidos caprílico, cáprico, elaidico, cis-vaccenico y linoleaidico, aunque como se observa en el cuadro 7 en algunos meses se detectan huellas (h = concentraciones < 0.001%) de ácido cáprico.

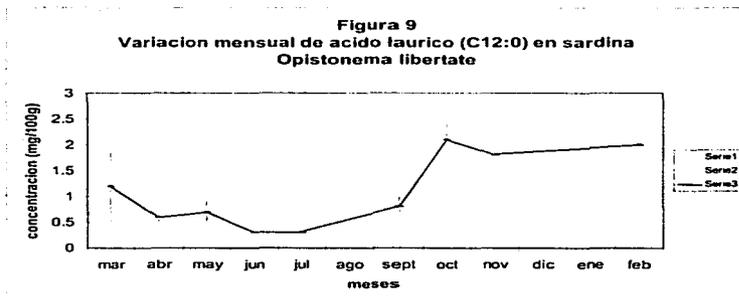
El cuadro 7 muestra la concentración (en mg del ácido graso/ 100 g de lípidos totales) de los AG saturados cáprico, laurico, mirístico, palmítico y esteárico. El mas abundante de estos AG saturados es el ácido palmítico, después el esteárico y luego el mirístico, siendo el laurico el que presenta los valores más bajos de concentración. El ácido graso que mostró mayor variabilidad a lo largo del año fue el ácido palmítico (Figura 7) que presentó los valores mas altos en los meses de diciembre y enero, aunque también muestra una elevación en abril y mayo, lo que corresponde a cambios climáticos en el primer caso y a cuestiones reproductivas en el segundo. Seguramente el ácido palmítico es uno de los ácidos grasos que más utiliza el pez como energético ya que se presenta en mayor concentración. Estos resultados concuerdan con lo informado en la literatura que mencionan al ácido palmítico como el mas concentrado en estas especies (14,104,105).



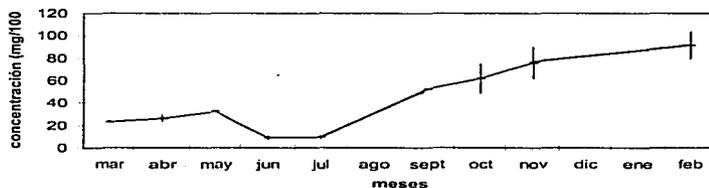
El ácido esteárico (figura 8) muestra un comportamiento similar al del ácido palmítico, pero a concentraciones menores. En ambos casos se presenta una mayor desviación estándar en el mes de noviembre.



El ácido laurico y mirístico presentó poca variación a lo largo del año; sin embargo se observa una ligera tendencia a aumentar en los meses de diciembre y enero (figuras 9 y 10).

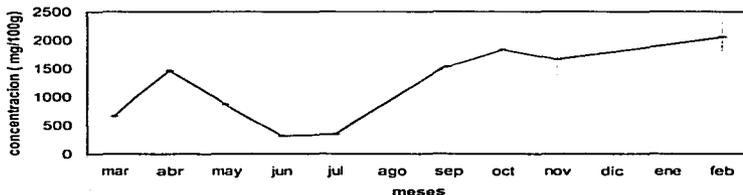


**Figura 10**  
**Variación mensual del ácido mirístico (C14:0) en sardina**  
***Opistonema libertate***



El cuadro 8 muestra los resultados de concentración de los ácidos grasos monoinsaturados, el mas abundante fue el ácido palmitoleico seguido del oléico y del cis-11-eicosanoico. De hecho el más variable de éstos fue el ácido palmitoleico (figura 11) que muestra elevaciones importantes en el mes de abril, agosto y enero, lo que correlaciona también con la variación del ácido palmítico.

**Figura 11**  
**Variación mensual del ácido palmitoleico (C16:1) en sardina**  
***Opistonema libertate***



**cuadro 8**  
**Contenido\* de ácidos grasos monoinsaturados en la sardina crinuda**  
*Opisthonema libertate*

ABREVIATURA	16:1	18:1n6c	18:1n9c	20:1	22:1n13c
NOMBRE	PALMITO- LÉICO	PETROSE- LÍNICO	OLEICO	CIS-11- EICOSANOÍCO	ERUCICO
MARZO	656±61	57,5±7,5	409±131	73,5±43	75±6,6
ABRIL	1460±103	200±42	586±334	128±10	58,4±11
MAYO	871±129	178±93	255±79	106±74	23,5±6,5
JUNIO	314±54	28,9±25	80±10	50±29	57±7,6
JULIO	340±98	45±3	72±11	35±19	22±1,6
AGOSTO					
SEPTIEMBRE	1521±49	195±10	51±10,2	123±23	80,5±37
OCTUBRE	1823±153	234±99	98,3±62	233±140	174±16
NOVIEMBRE	1663±390	78±27	159±15,6	73±9,2	138±15
DICIEMBRE					
ENERO					
FEBRERO	2059±268	342±38	60,5±19	198±24	329±195

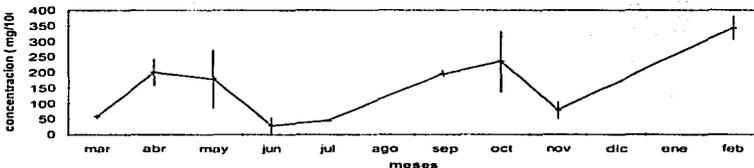
- el contenido esta expresado en mg/100g

Se encontró diferencia estadísticamente significativa cuando se compararon los valores altos del ácido palmitoléico con los valores obtenidos en junio y julio ( $p < 0.005$ ). El ácido Petroselinico (figura 12) mostró picos elevados de concentración estadísticamente significativos en los meses de abril ( $p < 0.05$ ), octubre ( $p < 0.05$ ) y febrero ( $p < 0.01$ ) comparados con el valor mas bajo obtenido en el mes de junio. El ácido oleico mostró un valor alto en el mes de abril y los demás meses mantiene valores bajos (figura 13).

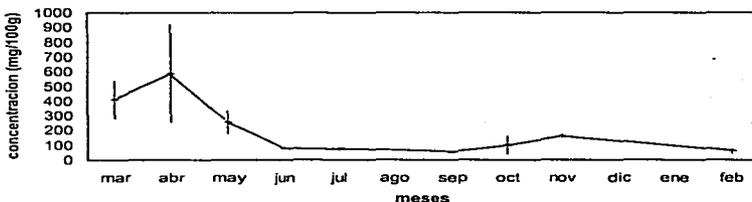
Se determinó una diferencia estadísticamente significativa entre el valor alto

mostrado en abril en comparación con los valores obtenidos en el resto de los meses ( $p < 0.05$ ). El ácido cis-11-eicosenoico (Fig. 14) muestra una tendencia a aumentar y un pico de concentración alto en el mes de octubre.

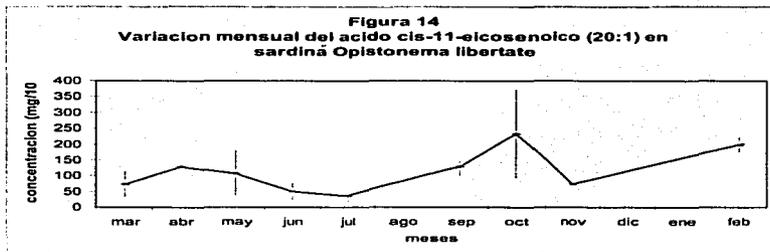
**Figura 12**  
Variación mensual del ácido petroselinico (18:1n6c) en sardina  
*Opistonema libertate*



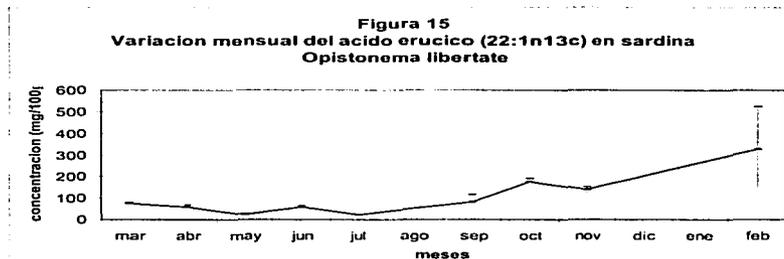
**Figura 13**  
Variación mensual del ácido oleico (18:1n9c) en sardina  
*Opistonema libertate*



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



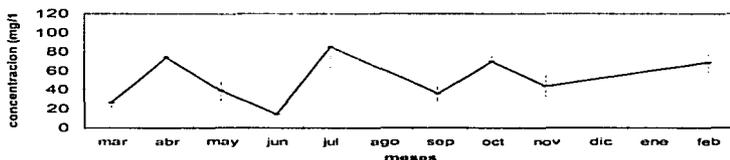
De la figura 15 se observa que el ácido erúrico aumenta su concentración en el mes de diciembre y se mantiene en niveles altos en enero y febrero.



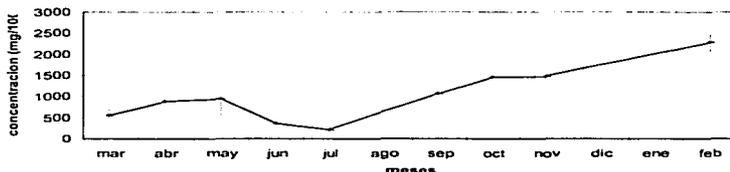
El cuadro 9 muestra la variación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en las muestras de sardina analizadas. Los AG más abundantes fueron el ácido docosahexaenoico (ADH) y el ácido araquidónico (AA), siendo más variable el ADH. El ácido eicosapentaenoico (AEP) y el ácido linoleico (Ali), presentaron las concentraciones más bajas de este grupo; junto con el ácido palmítico el ADH es

otra de las fracciones lipídicas que se encuentran en mayor concentración en las muestras estudiadas. El ácido linoleico mostró elevadas concentraciones en los meses de abril, julio y octubre, con tendencia a incrementarse en el mes de febrero (Fig. 16). A diferencia de otros AG, el ácido linoleico mostró valores altos en el mes de julio. El ácido araquidónico (figura 17) tiende a aumentar hacia el mes de febrero, elevación estadísticamente significativa ( $p < 0.005$ ) cuando se comparan con el mes de julio y donde se obtiene el valor más bajo para este AG.

**Figura 16**  
**Variación mensual del ácido linoleico (18:2n6) en sardina**  
***Opisthonema libertate***



**Figura 17**  
**Variación mensual del ácido araquidónico (20:4n6) en sardina**  
***Opisthonema libertate***



**Cuadro 9**  
**Contenido\* de ácidos grasos poliinsaturados en la sardina crinuda**  
*Opisthonema libertate*

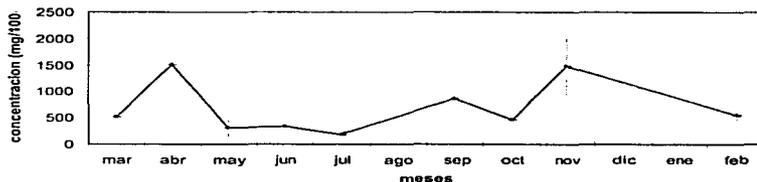
ABREVIATURA	18:2n6	20:4n6	18:3n3	20:5n3	22:6n3
NOMBRE	LINOLEICO	ARAQUIDONICO	LINOLENICO	AEP	ADH
MES					
MARZO	26,7±5,8	560±146	517±186	37,5±11	2461±235
ABRIL	73,9±4,1	882±54	1504±130	82±2,5	1605±110
MAYO	38,8±12	944±417	303±156	80±22	1372±82
JUNIO	14,2±4,8	363±75	340±20,5	23±12	3276±202
JULIO	84,7±22	207±13	175±57	13±4,8	1444±192
AGOSTO	---	---	---	---	---
SEPTIEMBRE	35,6±8,1	1066±59	858±101	67±9,8	6527±899
OCTUBRE	69,9±8,1	1461±30	467±25	83±22	7439±347
NOVIEMBRE	44,1±12	1471±57	1476±552	43±5,8	4534±262
DICIEMBRE	---	---	---	---	---
ENERO	---	---	---	---	---
FEBRERO	68,4±12	2281±311	552±114	116±6,9	1908±927

\* el contenido esta expresado en mg/100g

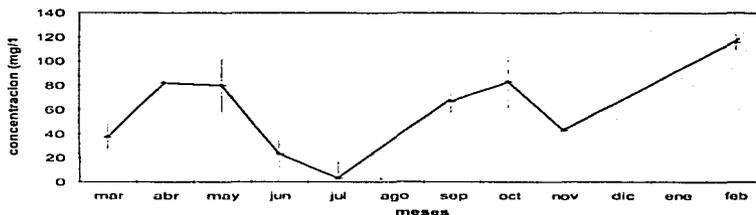
El ácido  $\alpha$ -linolenico (figura 18) muestra su pico mas alto en el mes de abril y noviembre y el valor mas bajo en julio con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.005$ ). El ácido eicosapentaenoico muestra valores altos en los meses de abril, mayo, octubre y febrero (Fig. 19). Resultó estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) el valor de febrero comparado con el mes julio que mostró el valor mas bajo.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**Figura 18**  
**Variación mensual del ácido alfa-linolénico (18:3n3) en sardina**  
***Opisthonema libertate***

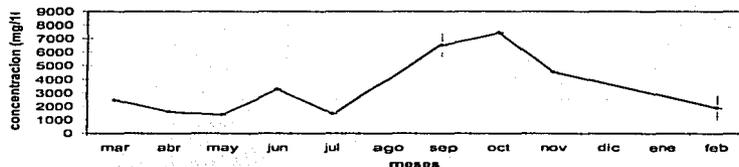


**Figura 19**  
**Variación mensual del ácido eicosapentaenoico (20:5n3) en**  
**sardina *Opisthonema libertate***



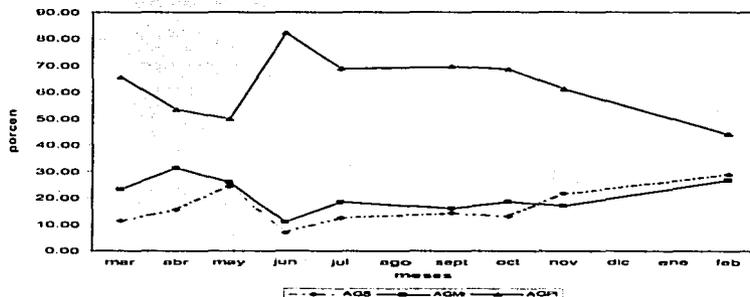
El ácido docosahexaenoico (figura 20) presentó su más elevada concentración en el mes de octubre y es significativa esa elevación cuando se compara con el valor más bajo en el mes de julio ( $p < 0.0005$ ).

**Figura 20**  
**Variación mensual del ácido docosahexaenoico (22:6n3) en**  
**sardina *Opisthonema libertate***



En la figura 21 se muestra la variación de los AG expresada como porcentaje del total de AG a lo largo de todo el año. Se aprecia que en el mes de junio existe elevación de AGPI y disminución de las dos fracciones de AG, los AGS y AGMI, y conforme estas dos fracciones aumentan hacia el mes de febrero disminuyen los AGPI.

**Figura 21**  
**VARIACION PORCENTUAL DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA**  
**SARDINA *Opisthonema libertate***



En el cuadro 10 se muestran los intervalos de concentración de los AG obtenidos durante el tiempo del estudio. Se presenta el valor mínimo y el máximo de cada ácido graso, sin tomar en cuenta la época del año (estación) o mes informado. El AG que se presenta en menor concentración es el ácido láurico y el mas concentrado es el ADH.

**Cuadro 10**  
**Intervalos de concentración en la variación anual de ácidos grasos en**  
**sardina *Opistonema Libertate***

Pico No.	Ácido graso	Valor mínimo durante el año (mg/100g)	Valor máximo durante el año (mg/100g)
1	Cáprico	(< 0.001)	
2	Laurico	0.3 (jun)	2.1 (oct)
3	Mirístico	9.1(jun)	91.4 (feb)
4	Palmitico	264.4 (jun)	2533 (feb)
5	Estearico	61 (jun)	593 (feb)
6	Palmitoléico	314 (jun)	2059 (feb)
7	Petroselinico	28.9 (jun)	342 (feb)
8	Oleico	51 (sept)	586 (abr)
9	Cis-11-eicosenoico	35 (jul)	233 (oct)
10	Erucico	22 (jul)	329 (feb)
11	Linoleico	14.2 (jun)	84.7 (jul)
12	Araquidonico	207 (jul)	2281 (feb)
13	Linolenico	175 (jul)	1504 (abr)
14	Eicosapentaenoico	13 (jul)	116 (feb)
15	Docosahexaenoico	1372 (may)	7439 (oct)

**TESIS CON FALLA DE ORIGEN**

En el cuadro 11 se presentan los resultados de lo AG agrupados por las estaciones del año: primavera, verano, otoño e invierno.

Para todos los AG los picos más altos de concentración se presentan en el invierno; los valores menos bajos se presentan en verano. En el caso de los AGMI solo el ácido 18:1n9c esta elevado en primavera y todos los demás aumentan su

concentración en invierno, de la misma forma que para los AGS, los AGMI presentan valores más bajos en verano.

Los AGPI mostraron un comportamiento diferente. Los AG n-6 (linoleico y araquidónico) están elevados en invierno pero bajos en primavera (linoleico) y verano (araquidónico). Los AG n-3 presentan la concentración mas alta en otoño (linolenico y ADH), en invierno (AEP). Aunque los valores más bajos en concentración se informaron para las muestras capturadas en verano (linolenico y AEP) y primavera (ADH).

En la figura 21 se observa que siempre predomina la concentración de los AGPI (mayor del 50%), sobre los AGMI (mayores al 10%) y los AGS (mayores al 5%) en ese orden. La variación porcentual más importante se observa para los AGPI en verano y tiende a disminuir hacia el invierno.

Tanto los AGS como los AGMI se encontraron en mayor concentración en primavera y suben ligeramente hacia el invierno. Para los AG n-6 la concentración más alta se encontró en invierno (2349.4 mg) y para los n-3 en otoño (7165.3 mg). La relación n-3/n-6 fue mas alta en verano (7.88) y en invierno esta relación fue la menor (cuadro 11).

**Cuadro 11**  
**Variación estacional de los ácidos grasos en la sardina crinuda**  
**(*Opisthonema libertate*)**

<b>ACIDO GRASO</b>	<b>PRIMAVERA</b>	<b>VERANO</b>	<b>OTONO</b>	<b>INVIERNO</b>
<b>Saturados</b>				
12:0	0.83±0.32 (0.01)	0.30±0.02 (0.008)	1.57±0.68 (0.01)	2.0±0.1 (0.02)
14:0	27.33±4.93 (0.43)	9.20±0.14 (0.2)	63.27±11.73 (0.5)	91.40±12.0 (0.8)
16:0	798.4±277.7 (12.7)	266.3±2.7 (6.9)	1679±489 (13.0)	2533±327 (22.8)
18:0	233.3±99.3 (3.5)	68.0±9.9 (1.77)	345.7±43.5 (2.7)	593±57.0 (5.3)
<b>Monoinsaturados</b>				
16:1	995.7±416 (14.9)	327.0±31 (8.5)	1669±151 (12.96)	2059±268 (18.5)
18:1n6c	145.2±76.7 (2.2)	36.95±11.4 (0.96)	169±81.2 (1.31)	342±38 (3.1)
18:1n9c	416.7±166 (6.2)	76±5.7 (1.97)	102.8±54.1 (0.8)	60.5±19 (0.5)
20:1	102.5±27.4 (1.5)	42.5±10.6 (1.1)	145±81.2 (1.1)	196±24 (1.8)
22:1n13c	52.3±26.3 (0.8)	39.5±24.8 (1.0)	13.8±47.2 (1.0)	329±195 (2.95)
<b>Poliinsaturados</b>				
18:2n6	46.5±24.5 (0.7)	49.5±17.9 (1.3)	49.8±17.9 (0.38)	68.4±12.0 (0.6)
20:4n6	795±206 (11.9)	285±231 (7.4)	1333±231 (10.3)	2281±311 (20.5)
18:3n3	775±641 (11.6)	258±509 (6.7)	934±509 (7.3)	552±114 (5.0)
20:5n3	66.5±25.1 (1.0)	18±20.2 (0.5)	64.3±20.2 (0.5)	116±6.9 (1.0)
22:6n3	1813±573 (27.2)	2360±1485 (61.4)	6167±1485 (47.9)	1908±927 (44.2)
n-6 totales	841.5	334.5	1382.8	2349.4
n-3 totales	2654.5	2636	7165.3	2576
n3/n6	3.15	7.88	5.18	1.09

( ) El valor entre paréntesis indica el porcentaje del total en esa estación del año

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

El contenido lipídico de muchos peces muestra considerables cambios estacionales y es difícil asignar valores absolutos<sup>(55,16)</sup>. El contenido "actual" de lípidos del pescado capturado y consumido muestra menos variación debido a que el pez se captura durante una parte limitada del ciclo anual; por lo tanto los valores están basados en el contenido de grasa del pescado durante el periodo en el que se realizaron la mayoría de las capturas.

Cuando se consideran los valores para peces, es importante tener en mente que a la muestra se le extrajo de una población total. Ellos son de hecho alimento de otros peces al mismo tiempo que son cazadores. Esto significa que probablemente su composición es mas variable que la de otros alimentos o ámbitos biológicos donde la alimentación esta muy controlada.

La composición de ácidos grasos de los peces mostrados en otras tablas<sup>(5,6, 10,16,81)</sup>, es muy extensa e incluye especies de peces que raramente se comen o que tienen poco interés económico. Hay sin embargo una considerable variación en la composición dentro de la misma especie y su variación es inclusive mayor que entre diferentes especies. La pesquería de la sardina en México<sup>62</sup> es multiespecífica ya que en las capturas aparecen especies que no son de la familia Cupleidae, solo se realiza en el Pacífico y ocupa el tercer lugar en volumen de explotación de las especies comestibles.

La sardina tiene usos para consumo humano e industrial, anualmente se capturan mas de 400 000 toneladas; para consumo humano se utiliza en forma directa (enlatada) o en forma indirecta como harina de pescado en la alimentación animal. Sin embargo el consumo *per cápita* de pescado en la población mexicana es

bajo o no esta documentado pero se estima que no es mayor a los 5 kg por año<sup>83</sup>, en comparación con el consumo de los japoneses que en promedio es de 33 a 91 kg por año<sup>1,84,94</sup>. Los aceites marinos tienen importancia como fuente de C20, C22, ácidos grasos omega 3 polienólicos y por su importancia como precursores de eicosanoides y docosanooides<sup>85</sup>.

### **Lípidos totales**

Los valores para la composición de los ácidos grasos se expresan como mg del ácido graso individual por cada 100 g de ácidos grasos totales. Como no todos los ácidos grasos están informados, la suma de los valores podría ser inferior a 100. Todos los valores dados en los resultados se basan en el análisis cromatográfico gas líquido de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, preparados de un extracto de lípidos totales, por lo que se incluyen los ácidos grasos derivados de triacilgliceroles y fosfolípidos. Un valor de 0 significa que el ácido graso en cuestión no se informó y por lo tanto no se detectó (nd) por este método. La variación en el contenido lipídico de la sardina estudiada es muy similar a la informada por Barlow y Stansby<sup>85</sup> en 1982, para macarela, aunque esta especie contiene hasta un 25% de grasa total. El incremento a lo largo del año muestra un comportamiento similar al de la sardina crinuda, quien tiene los valores mas altos en los meses de noviembre y diciembre, es decir durante la transición otoño–invierno. De alguna forma el pez acumula lípidos como reserva energética para el cambio de temperatura que se observa en invierno. Aunque desde el mes de septiembre muestra valores altos. El peso y talla obtenidos es semejante a los valores informados por Barlow y Stansby<sup>85</sup> para otras especies de peces como el

arenque (*Cuplea harenque*) quien en promedio tiene un peso de 88.7g y una longitud promedio de 21.3 cm. En el caso de las carpas (*Cyprinius caorpo*)<sup>18</sup> el contenido total de lípidos es del 20 al 30%, mientras que en la sardina crinuda este varía del 0.55 al 6.15%. La macarela (*Scomber scombrus*)<sup>86</sup>, como la sardina son especies que muestran marcados cambios estacionales en el contenido de lípidos.

### **Ácidos grasos saturados**

Los ácidos grasos saturados forman del 20 al 30 % del total de ácidos grasos de los organismos marinos y se obtienen fácilmente de la cadena alimentaria<sup>87</sup> del pez, además de que son biosintetizados *de novo*. En el caso del presente estudio los AGS sólo cubrieron como máximo un 16.64% en la primavera y 28.92% en invierno. El ácido palmítico fue siempre el más importante (10-25%) seguido por el ácido mirístico (3-13%) y el ácido esteárico (1-4%). Para el caso de la sardina crinuda *Opistonema libertate*, el ácido palmítico tuvo un 22.8% en invierno y valores bajos en el verano (6.9%), solo que en este caso se observó más concentrado el ácido esteárico seguido del mirístico. Existen ácidos grasos de cadena impar o de cadena ramificada (iso o ante-iso) que normalmente forman menos del 5% del total de ácidos grasos en el pez. Estos ácidos pueden ser de origen dietario o formados y absorbidos a partir de bacterias en el intestino o simplemente originados a partir de ciertos aminoácidos durante los procesos de recambio metabólico en el pez<sup>87,87</sup>. Normalmente estos AG no se incluyen como resultado importante en las tablas de composición de alimentos. El pescado puede sintetizar tanto sus ácidos grasos saturados como sus monoinsaturados a partir de su alimento<sup>88</sup>. En todos los aceites de pescado la proporción de C20:0 es menos

del 1% y la de C22:0 es menor al 0.1%. En el presente estudio no se logró cuantificar estos AG, debido a que las áreas obtenidas no fueron integradas por el programa STAR.

### **Ácidos grasos monoinsaturados**

La diferencia básica entre los ácidos grasos del tejido de depósito y los fosfolípidos musculares es la proporción de AGMI<sup>15,18,19</sup>. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el ácido palmítico contribuye entre el 8.5% (en verano) y el 18.5% (en invierno) al total de AG.

Que el C16:1 sea mayor que el C18:1 en la sardina crinuda *Opisthonema libertate* o viceversa depende de las circunstancias dietarias, posiblemente de la temperatura y de otros factores tales como el estado de maduración gonadal del pez<sup>67</sup>. En la sardina estudiada el C16:1 y el C18:1, por otra parte, son sintetizados *de novo*. Se acepta una proporción del 25 al 31% de los AGMI, con el C18:1 un poco más elevado que el C16:1<sup>1,10,13,14</sup>. En el presente trabajo se observó el predominio del 16:1 en todo el año. Sin embargo 18:1 resultó ser más bajo que lo informado ya que los índices C18:1/C16:1 varían entre 0.6 y 1.0<sup>66,69</sup>. Para la sardina crinuda la relación obtenida C18:1/C16:1 fue menor a 0.6 en primavera y menor a 0.2 en invierno.

Nettleton<sup>15</sup> y Ackman<sup>56</sup> han propuesto que la grasa de la sardina tiene cambios anuales muy grandes en los índices de yodo debido a la restricción del alimento después del invierno. La disminución en los valores de yodo representan una acumulación de C22:1 y los ésteres serosos presentes en los copépodos<sup>14,75,68</sup>. Con los datos mostrados aquí, se observa una acumulación del C22:1 (2.95%) en

invierno, en comparación con la primavera (0.8%), lo que confirma esta amplia variación en los resultados y la baja biodisponibilidad del alimento (copépodos) en el hábitat de la sardina.

En suma el pez puede sintetizar sus propios AGMI a partir de material alimentario y es capaz de elongarlos (elongar = alargar la cadena carbonada del ácido graso). Sin embargo es muy probable que el origen principal de los AGMI de cadena larga en el tejido adiposo del pez sea similar a la de los alcoholes grasos de cadena larga de los esteres serosos que forman parte de la cadena alimentaria del pez (ejemplo: copépodos)<sup>87</sup>. Los valores de AGMI mostrados y específicamente de 16:1 en primavera pueden ser indicativos del inicio de reproducción en el pez (Palomares García, 2001) y en invierno como resultado de la necesidad de precursores suficientes para obtener AGPI's. El mismo patrón se observa con C16:0. Esto ayuda a explicar en alguna medida las variaciones en el contenido de C22:1 en aceites de peces para las mismas especies de pescados en diferentes hábitat.

C20:1 y C22:1 están ausentes en anchovetas y ciertas sardinias, aunque aquí se informa el ácido erúcico (C22:1) en un intervalo de 0.8 a 3.7%, comparado con el aceite de castor, donde forma del 40 al 50% de los AG totales<sup>90</sup>.

En el presente trabajo se logró identificar y cuantificar C20:1 encontrándose en un intervalo de concentración de 1.1-2.2%.

### Ácidos grasos poliinsaturados

La composición de ácidos grasos de productos marinos depende de las especies y está sujeto a variación estacional<sup>18</sup>. El salmón contiene 0.89g de AEP/100g de porción comestible y 1.19g de ADH/100g porción comestible<sup>19</sup>. El total de n-3 en el

salmón es de 2.55 g/100 g y de un 11 al 12% de lípidos totales. En este estudio se midieron para la sardina crinuda *Opisthonema libertate* valores mas bajos para AEP (116mg/100g de porción comestible en invierno) y un total de n-3 de 2.57 g/ 100g de PC en invierno, cantidad similar en el salmón, pero 7.16 g/100g en otoño.

Estos valores de concentración de AGPI son importantes ya que el pez sintetiza en otoño una gran cantidad de AGPI, los que se incorporan a membranas para mantener la función tisular y celular. La suma total de n-6 muestra un máximo en invierno, que correlaciona también con el aumento de C16:0, C16:1 y C18:2n6, observados para esta época del año. El AEP es ubicuo en los lípidos del pescado y varía del 5 al 25% del total de ácidos grasos y usualmente esta acompañado del ADH<sup>54</sup>, pero en el caso de la sardina crinuda el porcentaje fue muy bajo y varió de 0.5 al 1.3%.

El ácido linolenico apenas excede el 1% de los ácidos grasos de los lípidos marinos de origen animal<sup>85</sup>, sin embargo en nuestro estudio se determinaron valores máximos en primavera (11.6%) y bajos en invierno (5.0%).

Las cantidades de AEP y ADH suman al menos el 90% de los AGPI n-3 en los aceites de productos marinos<sup>15</sup>. En la sardina se obtuvo una proporción de AEP + ADH del 62 % en verano, encontrándose el valor mas bajo en invierno con una AEP+ADH alcanzando el 50% del total de AGPI. La sardina es un alimento de bajo costo en comparación con otras especies, contiene relativamente poco colesterol y es una buena fuente de AEP y ADH. Los productos enlatados como las sardinas son muy buena fuente de AEP aunque el atún enlatado es menos valioso debido a que varias especies tienen menos carne y el ADH excede al AEP<sup>55</sup>.

El representante mas importante de los ácidos grasos n-6 es el ácido linoleico seguido por su sucesor el ácido araquidonico los dos representan aproximadamente el 2% del total de ácidos grasos<sup>29</sup>. La sardina mostró que el n-6 mas importante fue el ácido araquidonico y después el linoleico, formando los dos entre el 20 y el 30% de los AGPI totales. Estos ácidos grasos se complementan con ácido palmítico seguidos de ácido esteárico y poco mirístico.

Se desconoce el balance exacto entre los diferentes tipos de plantas unicelulares en el océano, que son parte de la cadena alimentaria de la sardina, pero probablemente no es un accidente que los animales marinos hayan adaptado su metabolismo a una mejor disponibilidad de alimentos ricos en ácidos grasos n-3 (ácido linolenico) en lugar de preferir a miembros de la familia n-6 (ácido linoleico), como sucede en la sardina crinuda<sup>67,68</sup>. Las bajas temperaturas del medio ambiente en que habita la sardina pueden requerir mas moléculas insaturadas en los lípidos mas importantes por lo que en los ácidos grasos C20 y C22 se pueden introducir mas fácilmente dobles ligaduras en las posiciones n-3, que en las posiciones n-6, debido a la posición del enlace.

El ADH es el ácido graso con el mayor grado de insaturación común en el pez, importante para el desarrollo cerebral, formando parte del sistema nervioso central en el hombre.

Mucho del ácido alfa-linolénico se metaboliza para energía, por lo que en invierno se obtienen los valores mas bajos. En la grasa de depósito o reserva de peces de vida larga el ADH esta normalmente en mayor concentración que el AEP. En esta grasa de depósito los dos ácidos grasos no solo tienen una función definida sino que también pueden servir como indicador de ingestión de fuentes dietarias. Por

ejemplo el pez gato que se alimenta principalmente de mariscos tiene una alta proporción de AEP. Por lo tanto parece que los n-3 encontrados en el aceite de pescado se originan principalmente de la cadena alimentaria.

En las plantas unicelulares marinas predominan los n-3, pero las bacterias contribuyen poco a estos ácidos grasos<sup>15</sup>. En pingüinos se han encontrado valores bajos de AEP y ADH, pero se han encontrado valores altos de ácido linoleico y de ácido palmitoleico<sup>18,19,55</sup>.

Una de las principales aplicaciones de conocer la concentración de ácidos grasos en estos alimentos podría radicar en el efecto de las grasas dietarias sobre la salud y la evidencia actual de los beneficios probables del consumo de los aceites de pescado y el pescado mismo, para combatir la hipertensión, enfermedad coronaria, hepática y el cáncer.

Por ejemplo, bajo condiciones fisiológicas, en niños a pretérmino, no existe una conversión de los precursores de n-3 y n-6 a ADH y ARA suficiente para cubrir los requerimientos mínimos, por lo que es necesario proporcionárselos con la lactancia materna o con formulas adicionadas de ARA, AEP y ADH que se consideran como indispensables en la maduración cerebral y de la retina<sup>36,54</sup>.

En ratas se ha demostrado que el hígado y corazón contienen mas AGPI n-3 y menos n-6 cuando se alimentan con aceites de pescado que cuando se alimentan con aceite de maíz<sup>91</sup>.

En el caso de ratas, la ingestión de niveles elevados de AGPI n-3 inhibe el crecimiento de tumores químico-inducidos o trasplantados<sup>92</sup>. Las dietas dadas a estos animales contenían un 7% de carne de pescado y un 9% de aceite de pescado. Los cambios observados fueron estadísticamente significativos en la

proporción de AG de 16:0, 16:1, 18:1, 20:5 y 22:6, los que estuvieron presentes en grandes cantidades.

De octubre a diciembre el metabolismo de los AG es mas rápido y por lo tanto la proporción relativa de los AGS en esta fase disminuye mientras que los AGMI y AGPI aumentan. La síntesis de AGPI Y AGMI es constante desde el mes de octubre y desciende a partir del mes de mayo y esta síntesis es a costa de los AGS que disminuyen en ese mismo periodo<sup>85,88,93</sup>.

## **Conclusiones**

Se identificaron 15 ácidos grasos de los 22 estándares. La separación cromatográfica resuelve bien la separación de los n-3 y n-6.

Se determinó la composición de ácidos grasos en la sardina crinuda *Opisthonema libertate* durante 9 meses cubriendo las cuatro estaciones del año.

De los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico presentó la mayor concentración, seguido del esteárico.

En los AGMI monoénicos de la sardina fue más concentrado el ácido palmítico, seguido del oleico y erucico.

El AGPI predominante fue el ADH seguido del ácido araquidónico. Se cuantificaron bien los ácidos grasos n-3 y n-6.

La variación mensual de los ácidos grasos saturados en la sardina muestra más elevación en el mes de mayo y noviembre-diciembre.

Los AGMI muestran un patrón semejante pero los picos máximos de concentración los tienen en abril y octubre.

Dentro de los AGPI el ácido linoleico mostró la mayor variación y el ácido araquidónico la menor. Mostrando picos máximos de concentración en abril y octubre (de la misma forma los AGMI). Predominaron los AGPI sobre los AGMI y los AGS.

La relación del n-3/n-6, fue mayor con respecto a lo informado mostrando valores bajos solo en el invierno donde el valor fue de 1.1.

Los valores más altos en peso, longitud, porcentaje de lípidos, 12:0, 14:0, 16:0 18:0 (AGS) 16:0, 18:1n6c, 20:1, 22:1n13c, y AGMI 18:2, 20:4 y 20:5 y AGPI se

observaron en invierno. Mientras que en otoño fueron mas altos 22:6, 18:3, y 18:1n9c.

Se determino la variación estacional del contenido de ácidos grasos en la sardina, observándose mayor variabilidad en los ácidos palmítico, docosaheptaenoico y palmitoléico, mediante el método de cromatografía capilar de gases .

Se confirmó que estas especies son una fuente de ácidos grasos poliinsaturados de las familias n-3 y n-6.

Comparadas con otras especies la sardina crinuda *Opistonema libertate* contiene mas ácidos grasos indispensables, lo que la convierte en una excelente alternativa para la alimentación humana.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1) Chow CK. Fatty acids in foods and their health implications Marcel Dekker INC. 1992, USA.
- 2) AOAC, Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, AOAC, 1989, 14th ed, vol 72, USA.
- 3) Cunnanne SC, Ganguli S, Menard CH, Liede AC, Hamadesh MJ, Chen ZY, Wolever TMS, Jenkins DJA. High  $\alpha$ -linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. Brit J Nutr 1993; 69 : 443-453
- 4) Garcia VV, Palmer JK. Fatty acids composition of the oil of winged beans *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC. J Am Oil Chem Soc 1979; 56: 931-932
- 5) Bowes CF, Church HN Food values of portions commonly used. 1975, 12a. ed. J.B. Lippincott Co. pp 32-38
- 6) Chávez MM, Hernández M, Roldan JA. Tablas de uso práctico del Valor Nutritivo de los Alimentos de Mayor Consumo en México. 1992, Comisión Nal. de Alimentación-INNSZ, pag. 28
- 7) Belay A, Ota Y, Miyakawa K, Shimamatzu H. Current knowledge on potential health benefits of spirulina. J Appl Phycol 1992; 5:235-241
- 8) Elson ChE. Tropical oils: Nutritional and scientific issues. Crit Rev Food Sci Nutr 1992; 31(1/2): 79-102.
- 9) Erickson DR. Controversy about palm oil. Nutr Rev. 1988; 46: 173-176.
- 10) Body DR. The lipid composition of the Roe tissues from four common New Zealand marine fish species. J Food Comp Anal 1989; 2: 350-355.
- 11) Jones SD, Le Cornu K. The assessment of oily fish intake in two clinic populations. J Hum Nutr Diet 1994; 7:141-145
- 12) Krzynowe KJ, D'Entremont DL, Panunzio LJ, Maney RS. Purification of omega-3 fatty acid from fish oil using HPLC: An overview . en 12Th Annual Conference of the tropical and Subtropical fisheries Technological Society of the America. Orlando FL, USA, 9-11 nov, 1987

- 13) Mourente G, Tocher DR. Lipid class and fatty acid composition of brain lipids from Atlantic herring (*Clupea harengus*) at different stages of development. Mar Biol 1992; 112:553-558
- 14) Mueller-Harvey I, Parkes RJ. Measurement of volatile fatty acids in pore water from marine sediments by HPLC. Estuar Coast Shelf Sci 1987; 25: 567-579
- 15) Nettleton JA. Omega-3 fatty acids : comparison of plant and sea food sources in human nutrition. J Am Diet Assoc 1991; 91:331-337
- 16) Paul AA, Southgate DAT. The composition of foods. 1978, Elsevier/North-holland Biomedical Press, London UK, pag 289-300
- 17) Posati LP, Orr ML. Composition of Foods. Agriculture Handbook No 8/15, USDA, Washington DC, 1976.
- 18) Sykora M, Valenta M. Changes in the lipid composition of some tissues of carp (*Cyprinus carpio L* ) in winter. Zivocisna Vyroba 1982; 27: 821-830
- 19) Sykora M, Valenta M. Lipids in some fish of the Salmonidae family. Zivocisna Vyroba 1980; 25: 815-824
- 20) Marshall AC, Kubena KS, Hargis PS, Van Elswyk ME. Omega-3 fatty acid enriched table eggs: A survey of consumer acceptability. J Am Diet Assoc 1993; 93: A73.
- 21) Myer L, Damian J, Liescheski P, Tehrani J. The determination of fat content in dry processed foods using supercritical fluid extraction. Oral presentation in Pittsburg Conference 1992, march, USA.
- 22) Jones DY, Judd JT, Taylor PR, Campbell WS, Nair PP. Influence of caloric contribution and saturation of dietary fat on plasma lipids in premenopausal women. Am J Clin Nutr 1987; 45: 1451-6
- 23) Grundy SM. Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol, and coronary heart disease. Am J Clin Nutr 1987; 45: 1168-75
- 24) Grundy SM, Florentin L, Nix D, Whelan MF. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for reducing raised levels of plasma cholesterol in man. Am J Clin Nutr 1988, 47: 965-9
- 25) Grundy SM, Lena Vega G. Plasma cholesterol responsiveness to saturated fatty acids. Am J Clin Nutr 1988; 47: 822-4

- 26) Lees RS, Karel M, Omega-3-fatty acids in health and disease Food Sci Technology, Marcel Dekker Inc, 1990, New York , USA
- 27) Seaborn GT, Joseph JD, Bauersfield PE. NMFS fish oil research AIDS fishing industry and consumers. 11th Tropical and Subtropical Fisheries Technological Conference of the Americas. Otwell and Koburger Eds, 1986, num 45, pag 17.
- 28) Nuñez EA. Molecular bases for a study on the influence of lipid nutrition on endocrinology en: Proceedings of the XIV Annual International Gabim Seminar, held in VilleFrance-Sur-Mer, France November 14-16, 1990, vol. 17(3): 309-315
- 29) Vergroessen AJ. Physiological effects of dietary linoleic acid. Nutr Rev 1977; 35:1-4
- 30) INEGI, SSA, DGEI, 1998-1999
- 31) McKeigue P. Trans fatty acids and coronary heart disease : weighing the evidence against hardened fat. Lancet 1995; 345: 269-270
- 31a) Lands WEM. Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids . FASEB J 1992; 6:2530-2536
- 32) Aro A, Kardinaal AFM, Salminen I, Riemersma RA, Delgado-Rodriguez M, Gomez-Aracena J, Huttunen JK, Kohlmeier L, Martin BC, Martin-Moreno JM, Mazaev VP, Ringstad J, Thamm M, van't Veer P, Kok FJ. Adipose tissue isomeric trans fatty acids and risk of myocardial infarction in nine countries: the EURAMIC study. Lancet 1995; 345:273-278.
- 33) Smith DR, Smith SB. Fatty acid chain length and degree of unsaturation alter cellularity of adipose tissue. J Am Diet Assoc 1993; 93 : A104
- 34) Topping D. Dietary fatty acids and protection against experimental cardiac arrhythmias in rats. Nutr Rev 1993; 51:271-273
- 35) Roberts TL, Wood DA, Riemersma RA, Gallagher PJ, Lampe FC. Trans isomers of oleic and linoleic acids in adipose tissue and sudden cardiac health. Lancet 1995; 345:278-282
- 36) Tidwell DK, McNaughton JP, Pellum LK, McLaurin BP, Chen SC. Comparison of the effects of adding fish high or low in n-3 fatty acids to a diet conforming to the Dietary Guidelines for Americans. J Am Diet Assoc 1993; 93:1124-1128

- 37) Abushufa R, Reed P, Weinkove C. Fatty acids in erythrocytes measured by isocratic HPLC. *Clin Chem* 1994; 40: 1707-1712
- 38) Anderson GJ, Van Winkle S, Connor WE. Reversibility of the effects of dietary fish oil on the fatty acid composition of the brain and retina of growing chicks. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1126:237-246.
- 39) Applewhite T. trans-Isomers, serum lipids and cardiovascular disease: Another point of view. *Nutr Rev* 1993; 51: 344-345
- 40) Gray JB, Martinovic AM. Eicosanoids and essential fatty acid modulation in chronic disease and the chronic fatigue syndrome. *Med Hypotheses* 1994; 43:31-42
- 41) Crawford M. Dietary polyunsaturated fatty acids and aortic plaques. *Lancet* 1995; 345: 256-257
- 42) Editor. Fish oil supplementation reduces intestinal hyperproliferation in persons at risk for colon cancer. *Nutr Rev* 1993; 51: 241-243
- 43) Van Aswegen CH, Du Plessis DJ. Can linoleic acid and gamma-linolenic acid be important in cancer treatment. *Med Hypotheses* 1994; 43: 415-417
- 44) Sargent JR, Coupland K, Wilson R. Nervonic acid and demyelinating disease. *Med Hypotheses* 1994; 42:237-242
- 45) Spirer Z, Koren L, Finkelstein A, Jurgenson U. Prevention of febrile seizures by dietary supplementation with N-3 polyunsaturated fatty acids. *Med Hypotheses* 1994; 43:43-45
- 46) Razzini E, Baronzio QF. Omega-3 fatty acids as coadjuvant treatment in AIDS. *Med Hypotheses* 1993; 41: 300-305.
- 47) Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company, 1986
- 48) Kritchevsky D. Effects of triglyceride structure on lipid metabolism. *Nutr Rev* 1988; 46:177-181
- 49) McNair HM, Bonelli JE, Yarnell JWG, Elwood PC. Dietary indices of atherogenicity and thrombogenicity and ischaemic heart disease risk: The Caerphilly Prospective Study. *Brit J Nutr* 1994; 71: 249-257.
- 50) Fritsche KL. Fish oils and immune function. *Nutr Rev* 1993; 51:24-27

- 51) Hinds A, Sanders TAB. The effect of increasing of dietary fish oil in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on lymphocyte phospholipid fatty acid composition and cell-mediated immunity in the mouse. *Brit J Nutr* 1993; 69: 423-429.
- 52) Olson RE. Fish oils as hipotriglyceridemic agents. *Nutr Rev* 1988; 46: 198-200
- 53) Olson RE, Trans fatty acids and  $\beta$ -oxidation. *Nut Rev* 1988; 46:138-139
- 54) Uauy-Dagash R, Valenzuela A. Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: How to optimise the health, benefits. *Prog Food Nutr Sci* 1992; 16 : 199-243
- 55)Ackman RG, McLeod C. Total lipids and nutritionally important fatty acids of some Nova Scotia fish and Shellfish food products. *Can Inst Food Sci Technol J* 1988; 21: 390-398
- 56)Ackman RG. Nutritional composition of fats in seafood's. *Prog Food Nutr Sci* 1989; 13:161-241
- 57) Preston ST, Pankrats RE. Fatty acids and their esters. Poliscience Corp. Pub, 1971, USA.
- 58) Lerner R, Lindström P, Berg A, Johansson E, Rosendal K, Palmblad J. Development and characterization of essential fatty acid deficiency in human endothelial cells culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1147-1151
- 59) Coniglio JG. Free fatty acids in plasma may exert feed-back control of lipoprotein lipase activity. *Nutr Rev* 1993; 51:18-19
- 60) Ross E. The role of marine fish oils in the treatment of ulcerative colitis. *Nutr Rev* 1993; 51:47-49
- 61) Lichstenstein A. Trans fatty acids , blood lipids and cardiovascular risk: Where do we stand? *Nutr Rev* 1993 51:340-343
- 62) Philips FC, Erdahl WL, Nadenieck JD, Nutter LJ, Schmit JA. Analysis of triglyceride species by high-performance liquid chromatography via a flame ionisation detector. *Lipids* 1984; 19(2): 142-150
- 63) Ma J, Folsom AR, Lewis LA, Eckfeldt JH. Expression of plasma fatty acid data in studies of cardiovascular disease risk: concentration or percentage? *Clin Chem* 1993; 39: 2527-2529

- 64) Smith NB. Internal standards in gas chromatography analyses for ethylene glycol in serum. *Clin Chem* 1993; 39: 2020
- 65) Mendoza ME, Bourges RH, Morales J, Chávez A. Composición de alimentos industrializados. Pub. L-14, Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, 1987.
- 66) Woot-Tsuen Wu Leung. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina, INCAP, 1964, Ed. Interamericana, pag. 72.
- 67) Cisneros-Mata MA, MO Nevárez-Martínez, G. Montemayor -López, J.P. Santos-Molina y R. Morales Azpeitia. 1996. Pesquerías de sardina en el golfo de California 1988/1989 y 1989/1990. SePesca, INP/CRIP-Guaymas, Son.
- 68) Bakun, A. 1990. Global climate change and intensification of coastal ocean upwelling. *Science* 247 (12):198-201.
- 69) Álvarez del Villar, et al. Claves de identificación de especies marinas del golfo y del pacífico de México. Ed Acribia, 1981.
- 70) Folch J, Lees M, Sloan GH. *J Biol Chem* 1957; 226:497
- 71) Official Methods of analysis of the AOAC, 15th edition, 1990, USA.
- 72) Metcalfe LD, Schmitz AA, Pelka JR. *Anal Chem* 1966; 38:514
- 73) Slover HT, Lanza E. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc* 1979; 56: 933-943
- 74) Slover HT, Lanza E, Thompson RH. Lipids in fast foods. *J Food Sci* 1980; 45:1583-1591
- 75) Herrera JE. Analysis of fatty acids in natural waters. *Fla Sci* 1980; 43(suppl 1):38
- 76) Chen IS, Shen SJ, Sheppard AJ. Comparison of methylene chloride and chloroform for the extraction of fats from foods products. *JAOCS*, 1981; 58: 599-601.
- 77) Lee MJ, Crook T, Noel C, Levinson UM. Detergent extraction and enzymatic analysis for fecal long-chain fatty acids, triglycerides and cholesterol. *Clin Chem* 1994; 40: 2230-2234
- 78) Hubbard WD, Sheppard AJ, Newkirk DR, Prosser AR, Osgood T. comparison of various methods for the extraction of total lipids, fatty acids, cholesterol, and other sterols from foods products. *J Am Oil Chem Soc* 1977; 54: 81-83

- 79) Horrobin DF, Huang YS, Cunnane SC, Manku MS. Essential fatty acids in plasma, red blood cells and liver phospholipids in common laboratory animals as compared to humans. *Lipids* 1984; 19(10): 806-811
- 80) Phillips FC, Erdahl WL, Nadenicek JD, Nutler LJ, Schmith JA, Privett OS. Analysis of triglyceride species by high performance liquid chromatography via a flame ionisation detector. *Lipids* 1984; 19: 142-149
- 81) Richardson M, Posati LP, Anderson BA. Composition of foods. Agriculture Handbook No, 8-7, Science and education Administration, United States Department of Agriculture, USA, 1980
- 82) Ruiz Dura MF, Recursos pesqueros de las costas de México; su conservación y manejo socioeconómico. 3ª ed, Limusa, 1995, pag 235-242.
- 83) Morales de Leon JC, Bourges RH, Necochea MH. Improved utilization of marine species of low commercial value through the elaboration of hydrolyzates. *Arch Lat Nutr* , 1985; 35:105-118.
- 84 ) Kobayashi M, Sasaki S, Hamada GS, Tsugane S. Serum n-3 fatty acids, fish consumption and cancer mortality in six Japanese populations in Japan and Brazil. *Jpn J Cancer Res* 1999 Sep;90(9):914-21
- 85) Barlow SM, Stansby ME. Nutritional evaluation of long chain fatty acids in fish oil, 1982, Academic Press , USA
- 86) Wander RC, Patton BD. Lipids and fatty acids of three species of Northeast pacific finfish harvested in summer. *J Food Comp Anal* 1991, 4:128-135
- 87) Palomares Garcia R, Gomez Gutierrez J. Ecology and secondary productivity of the copepods off Bahia Magdalena Baja California Sur, Mexico, 2001.  
[www.geocites.com/CollegePark/Grounds/6882/copepods.html](http://www.geocites.com/CollegePark/Grounds/6882/copepods.html)
- 88) Kozlova T, Khotimchenko S. Fatty acid composition of endemic Baikal fish and crustacean *Comp Biochem Physiol* 1993; 105B: 97-103
- 89) Aggelousis G, Lazos ES. Fatty acid composition of the lipids from eight freshwater fish species from Greece. *J Food Comp Anal* 1991, 4:68-76.

- 90) Hyvonen L, Lampi AM, Varo P, Koivistoinen P. Fatty acid analysis , TAG equivalents as net fat value and nutritional attributes of commercial fats and Oils. J Food Comp Anal 1993, 6:24-39.
- 91) Yonekubo A, Honda S, Hagiwara M, Okano M, Yamamoto Y. The effects of dietary fish oil on the serum lipids and tissue fatty acids composition of rats. Agric Biol Chem 1990; 54:1829-1833
- 92) Schutgens RBH, Bouman IW, Nijenhuis AA, Wanders RJA, Frumau MEJ. Profiles of very-long-chain fatty acids in plasma, fibroblasts, and blood cells in Zellweger syndrome, X-linked adrenoleukodystrophy, and rhizomelic chondrodysplasia punctata. Clin Chem 1993; 39:1632-1637.
- 93) Lytle JS, Lytle TF . Fatty acids and cholesterol content of sharks and rays. J Food Comp Anal 1994, 7:110-118.
- 94) Apparoo DM, Kubow S, Kuhnlein HV. Lipid composition of indigenous foods eaten by the sahtu (hareskin) Dene-Metis of the northwest territories. J Food Comp Anal 1991, 4:107-119

ANEXO 1

Figura 2

Corrimiento cromatográfico de la mezcla de patrones

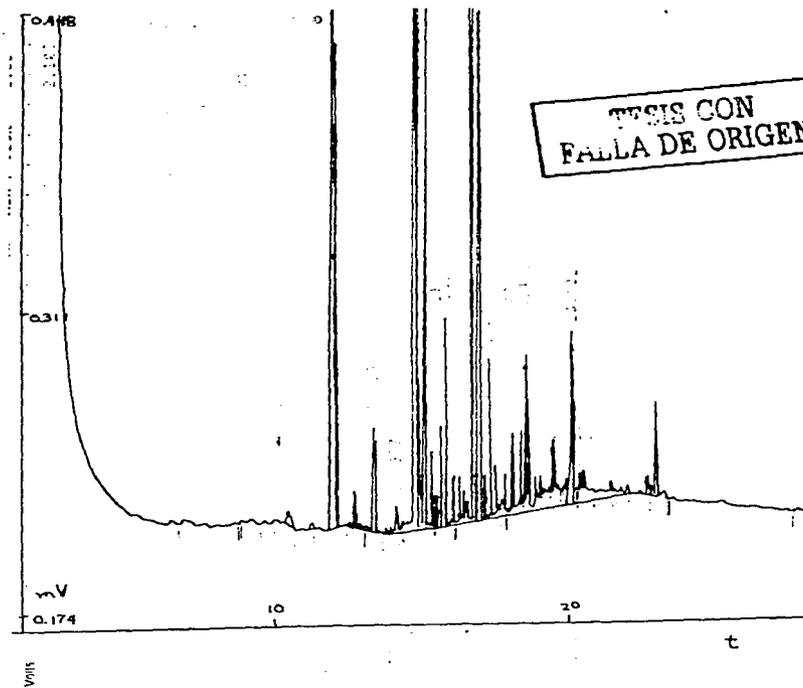


Figura 3  
Corrimiento cromatográfico de una muestra

