

Efecto de diferentes tipos de cocción sobre el contenido en humedad, lípidos, proteínas y sales minerales de la caballa (*Scomber colias*)

Effect of different types of cooking on the humidity, lipids, protein, and minerals composition in mackerel (*Scomber colias*)

ADAY PADILLA MARTÍN

GRADO EN BIOLOGÍA

SEPTIEMBRE 2015

FACULTAD DE BIOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA



Índice

Introducción.....	pág. 1
Material y métodos.....	pág. 4
• Hervido.....	Pág. 5
• Fritura.....	Pág. 5
• Planchado.....	Pág. 6
• Extracción de lípidos.....	Pág. 7
• Determinación de proteínas.....	Pág. 7
• Determinación de humedad.....	Pág. 7
• Determinación de cenizas.....	Pág. 8
• Transesterificación metílica.....	Pág. 8
• Cromatografía de gases.....	Pág. 9
• Análisis estadístico.....	Pág. 9
Resultados y discusión.....	Pág.10
Conclusiones.....	Pág. 14

Resumen

El propósito de este trabajo fue comprobar la variación el contenido de sales minerales, proteínas, humedad y lípidos en el músculo de caballa (*Scomber colias*), tras ser sometidos a diferentes tipos de cocción (en fresco, hervido, fritura y a la plancha). Las mediciones se realizaron sobre 16 individuos pertenecientes al mismo lote de pesca y de características homogéneas, los cuales fueron cocinados utilizando la pieza entera del pescado.

Se observó que el contenido en humedad si bien disminuyo significativamente desde un punto de vista estadístico, supuso una variación muy leve, decreciendo igualmente en los tres tratamientos. Al no producirse esta pérdida importante de humedad, se observó que la caballa hervida presentaba valores de proteína, lípidos y cenizas homólogos a los de una caballa fresca. Comportamiento que también se produjo en los tratamientos de fritura y planchado donde el porcentaje de proteínas y cenizas no vario y solo se produjo un aumento en la concentración de lípidos. Dicho aumento no fue provocado por la pérdida de humedad sino por la perfusión del aceite de oliva incrementando únicamente la concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva y manteniéndose constantes los demás. Los tratamientos de fritura y planchado, además arrojaron valores homólogos entre si presentando un mismo incremento de los ácidos saturados y monoinsaturados siendo iguales con respecto a la ganancia de lípidos.

Palabras clave: Caballa, Cocción, Humedad, Proteínas, FAMES.

Abstract

The purpose was this work was to determine the variation in the moisture, lipids, protein, and ash composition in mackerel (*Scomber colias*), when it's subjected to different types of cooking (fresh, boiled, fried and grilled). The analysis was performed on 16 individuals belonging to the same fishing batch and with homogeneous characteristics, which were cooked using the whole piece of fish.

It was observed that the moisture content decreased very slightly and equally in the three treatments. Since the humidity don't decreased, it was observed that the concentration of protein, lipids and ash presented in boiled mackerel equal to those of fresh mackerel. This same fact occurred in frying and grilling treatments where the concentration of protein and minerals did not vary and only the concentration of lipids increased. This increase was not caused by dehydration but by the infusion of olive oil increasing only the concentration of fatty acids presents in olive oil and others. Frying and grilling treatments presented also the same increase in the monounsaturated and saturated acids being equal with respect to the lipids increase.

Key words: mackerel, cooking, moisture, Protein, FAMES.

Introducción

El pescado se caracteriza por ser una fuente importante de nutrientes, principalmente proteínas de alto valor nutricional y ácidos grasos poliinsaturados. Además es una carne rica en minerales y vitaminas por lo que se le considera un alimento de alta calidad. Su valor nutricional varía en función de numerosos factores como la especie a las que pertenecen, la edad, el medio en el que viven, el tipo de alimentación y las condiciones de transporte, distribución y almacenado.

En el pescado la cantidad de proteínas representa entre 10% y 25% del peso, el agua entre 65% y 85%, la grasa entre el 0,1 y el 25% y los minerales entre el 0,8% y el 2%. La cantidad de hidratos de carbono presentes es muy baja o casi nula. Las proteínas de esta carne contienen todos los aminoácidos esenciales (aquellos que no podemos sintetizar en nuestro organismo) al igual que otras carnes como las de ganado porcino o vacuno, pero con la ventaja de que aporta menor cantidad de grasas y que tras tratamiento térmico es más fácil de digerir. Las proteínas son moléculas fundamentales en la dieta pues cumplen importantes funciones en la construcción y reparación estructural de los tejidos especialmente del músculo esquelético. Además son las moléculas reguladoras por excelencia de los organismos vivos siendo el componente principal de las enzimas, muchas hormonas, inmunoglobulinas, elementos de coagulación, etc.

Pero sin duda lo que hace más interesante al pescado como alimento es su composición lipídica. Antes de desarrollar este argumento es preciso aclarar algunos conceptos sobre los lípidos. Los lípidos son moléculas muy versátiles siendo no solo la principal fuente de almacenamiento de energía sino también el constituyente principal de los sistemas de membrana de las células, y la base estructural fundamental de muchas hormonas.

Son un grupo heterogéneo de biomoléculas de difícil clasificación. La clasificación más aceptada en la actualizada realizada por el proyecto LIPID MAP en colaboración con el comité internacional de la clasificación y nomenclatura de los lípidos. Según esta clasificación se separan los lípidos en ocho categorías principales.

Ácidos grasos	Glicerolípidos
Glicerolípidos	Esfingolípidos
Esteroles	Prenoles
Sacarolípidos	Policétidos

Los constituyentes principales de las membranas celulares son los glicerolípidos y los esfingolípidos. Caracterizados por presentar una cabeza apolar y cadenas apolares que confieren a la molécula un carácter antipático. Esta propiedad los hace idóneos para creación de dobles membranas y micelios. Los glicerolípidos derivan del ácido fosfático al que se le une un alcohol o aminoalcohol. Entre los más destacados de esta clase encontramos la fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina. Los esfingolípidos por su parte son derivados de la ceramida, molécula formada por la unión de esfingosina a un ácido graso de cadena larga generalmente saturado. Los Triglicéridos son la principal forma de almacenado de energía. Están formados por una molécula de glicerol esterificada con ácidos grasos, y dependiendo del número de ácidos grasos encontramos monoglicéridos, diglicéridos, y triglicéridos.

A excepción de los prenoles y los esteroides el resto de los lípidos incluyen dentro de su estructura ácidos grasos siendo estos considerados los lípidos de estructura más simple. Constan únicamente de cadenas hidrocarbonadas hidrófobas de longitud variable que poseen un grupo carboxilo terminal y un extremo metilo terminal. En función de si presentan o no dobles enlaces se clasifican en ácidos grasos saturados (sin dobles enlaces), e insaturados (con dobles enlaces). En caso de los insaturados se distingue entre los monoinsaturados (con un solo doble enlace) y poliinsaturados (con más de un doble enlace) conocidos como PUFA. En caso de que los poliinsaturados superen los 20 átomos de carbono se conocen como HUFAs (Highly unsaturated fatty acid).

En el pescado entre los ácidos grasos saturados destacan, por su abundancia relativa, los ácidos palmítico 16:0 y esteárico 18:0; entre los monoenoos el ácido oleico 18:1n-9; y dentro de los HUFAS el ácido eicosapentaenoico (EPA) 20:5n3 y el ácido Docosaenoico (DHA) 22:6n-3 dentro de la serie n-3 y menos comúnmente en peces el ácido araquidónico 20:4n-6, de la serie n-6. El sistema nomenclatural usado en este trabajo es el sistema (n) u omega (ω) por ser el más utilizado en el mundo divulgativo. En él se exponen el número de carbonos de la cadena, el número de insaturaciones, y la posición del primer doble enlace desde el extremo metilo terminal. De esta manera el ácido araquidónico 20:4n-6 posee 20 carbonos, 4 dobles enlaces, y presenta el primer doble enlace desde el extremo metilo en la posición 6.

Todos los ácidos grasos anteriormente mencionados juegan un papel relevante como elementos estructurales de las membranas plasmáticas. Su proporción está directamente implicada en la fluidez de la membrana y en la funcionalidad de ambas. Cada uno de ellos tiene implicaciones importantes en la salud y algunas de ellas pueden ser consideradas las siguientes:

16:0 ácido palmítico: es uno de los ácidos más abundantes en los aceites vegetales sobre todo en la de palma o en la de coco. A pesar de que se trata de un ácido graso saturado y su elevado consumo es negativo para la salud puede considerarse un ácido graso importante pues es uno de los principales pilares de la ruta lipogénica y a partir de él se forman una gran variedad de otros ácidos grasos-

18:1n-9 ácido oleico: muestra efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular y hepática haciendo que mejore la proporción de las moléculas HDL frente a las LDL

20:5 n-3 (EPA) y 22:6 n3 (DHA): componentes encontrados abundantemente en los aceites de pescado que presentan una alta actividad hipolipémica. Reducen la producción de triglicéridos en el hígado puesto que son mal sustrato de las enzimas responsables de los triglicéridos e inhibe la esterificación de los ácidos grasos. Además provocan el aumento de la beta oxidación de ácidos grasos en los peroxisomas del hígado contribuyendo nuevamente a la disminución de triglicéridos. Muchos estudios relacionan estos ácidos n-3 con el aumento de la fluidez de membrana de las neuronas siendo en estas células constituyentes abundantes de los fosfolípidos de membrana. También están relacionados con el correcto funcionamiento del sistema cardiovascular

Ácido araquidónico 20:4n-6 al igual que los ácidos grasos HUFAs n-3 tiene una alta presencia en las membranas de muchos tejidos como la neuronal y retinal y está muy relacionado con procesos tan importantes como el desarrollo embrionario y la proliferación neuronal. Pero a diferencia del DHA o el EPA el ARA si puede

sintetizarse en el cuerpo y puede producirse en gran cantidad tomando como sustrato otro ácido graso el linolénico 18 2n-6 el cual está presente abundantemente en las aceites vegetales. Por esta razón en las dietas occidentales la proporción entre araquidónico 20:4n-6 y los n-3 EPA y DHA es desproporcionada. Llegando a representar n-6 50/1 n-3 esto provoca una serie de problemas como enfermedades inflamatorias, degeneración neuronal, depresión, etc. La correcta proporción que deberían seguir para que las HUFA pudieran actuar de manera beneficiosa de manera conjunta es de 10/ 1.

Efecto de los distintos tipos de cocción sobre el pescado

Durante el cocinado de los alimentos la variación de las propiedades nutricionales como en nuestro caso la variación de las proteínas, lípidos, electrolitos y agua está directamente influenciada por los siguientes factores.

- Tamaño y superficie de exposición del alimento
- Temperatura
- Medios empleados
- Tiempo de cocción

Cuando cocinamos un alimento con una superficie de exposición elevada con respecto a su volumen (como un filete) el medio de cocinado estará en contacto directo con la práctica totalidad del alimento, lo cual reduce el tiempo de cocinado pero permite que la alteración de las propiedades nutricionales sea más severa. En esta situación las proteínas se degradaran con mayor facilidad la deshidratación será mayor y por lo tanto también será la concentración en sales y ácidos grasos. Al cocinar una pieza entera de cierto grosor como en el caso que nos ocupa donde cocinamos el pez entero la superficie de contacto con respecto al tamaño se reduce por lo que también es menor la deshidratación y la perfusión del medio hacia el interior del tejido.

Con respecto a la temperatura, cuando empleamos temperaturas de cocinado bajas aumentamos notablemente el tiempo de cocinado y permitimos una mayor variación de la humedad . Al emplear altas temperaturas causamos sobre la superficie del alimento una fase de sellado que provoca que en el interior se produzca una cocción rápida sin perder cantidades importantes de humedad y manteniendo gran parte de las propiedades nutricionales. En nuestro caso la piel de la caballa sufre es efecto sellado debido a la coagulación de las proteínas. En nuestro trabajo jugamos con 3 tipos de medios diferentes: el hervido, la inmersión en aceite y el planchado.

Durante el hervido el medio de cocción es agua caliente, la cual no provoca grandes modificaciones en la composición molecular del alimento pero si puede provocar una alta deshidratación y consiguientemente una pérdida de electrolitos y una concentración de las proteínas y los ácidos grasos. En este tipo de cocinado es interesante para no provocar grandes modificaciones ajustar la cantidad de agua al tamaño del alimento, ya que así, el agua alcanzara antes un equilibrio osmótico con el medio interno del alimento.

Si añadimos mucho agua ya de por si hipertónica el alimento tendrá que perder más agua para equilibrar la diferencia osmótica, efecto que se acentuará marcadamente si añadimos sal al agua lo cual provocando una mayor deshidratación. El agua de por si puede alcanzar una temperatura máxima de unos 85° temperatura más que suficiente

para cocinar un pez en poco tiempo pero debido a su alto calor específico hay que comunicar bastante calor para calentarla por dicha razón es preferible siempre añadir los alimentos cuando se allá alcanzado la temperatura máxima y no antes.

La fritura de inmersión es un medio que modifica notablemente el contenido en ácidos grasos. Además puede provocar una alta deshidratación en función de la temperatura y el tiempo de cocinado. Cabe esperar que la fritura en aceite de oliva con un alto contenido en ácido oleico 18:1n-9 (71%) y palmítico 16:0 (14%) modifique las proporciones de saturados y poliinsaturados pero las altas temperaturas alcanzadas durante la fritura (de 200°C convencionalmente) podrían limitar la pérdida de agua y la alta perfusión de los ácidos grasos hacia el interior.

Durante el método de planchado también se emplean finas superficies de aceite para facilitar el cocinado e impedir la adherencia del tejido a la superficie de la plancha. En este caso naturalmente la exposición al aceite es menor pero también aumenta el tiempo de cocción lo cual puede provocar mayor deshidratación que en la fritura y una mayor perfusión de los ácidos grasos en el tejido.

Material y métodos

Fueron empleadas 16 caballas en el trabajo todas ellas pertenecientes a un mismo lote y registradas con la siguiente información.

- Zona de captura: Atlántico centro oriental
- Arte de pesca: redes de cerco y redes izadas
- Puerto de desembarco: Playa de San Juan
- Fecha de desembarco 15/03/15
- Nombre científico: *Scomber colias*
- Nombre comercial : caballa
- Centro de expedición: polígono industrial de granadilla SP2-02 Granadilla de Abona. Tenerife canarias

Dichas caballas fueron primeramente pesadas y medidas anotando en la tabla que expongo a continuación. Además puede apreciarse en dicha tabla la distribución que hicimos de las nuestras destinando 4 caballas para cada tratamiento y comprobando mediante la media y la desviación típicas que se trataban de grupos lo suficientemente homogéneos.

Tabla 1: Relación de talla y peso de las caballas agrupadas de cuatro en cuatro con las medias y desviaciones típicas para cada grupo.

	Talla(cm)	Media	Desviación	Peso(g)	Media	Desviación
1 FRESCA	21,00			97,50		
2 FRESCA	19,80			80,60		
3 FRESCA	18,80			74,60		
4 FRESCA	19,00	19,65	1,00	69,80	80,63	12,09
5 HERVIDA	20,40			73,40		
6 HERVIDA	20,80			92,30		
7 HERVIDA	20,00			78,00		
8 HERVIDA	20,90	20,53	0,41	95,50	84,80	10,75
9 FRITA	20,30			91,30		
10 FRITA	20,30			89,00		
11 FRITA	20,70			82,50		
12 FRITA	19,40	20,18	0,55	72,10	83,73	8,60
13 PLANCHA	19,90			82,80		
14 PLANCHA	18,90			67,60		
15 PLANCHA	18,30			64,50		
16 PLANCHA	21,00	19,53	1,18	84,90	74,95	10,39

Una vez comprobada la uniformidad de los distintos tipos de caballas procedimos a realizar los tres tratamientos de cocción a los que hemos aludido en el trabajo: hervido, fritura de inmersión y fritura a la plancha. El grupo de caballas frescas integrado por los individuos del 1 al 4 fueron utilizados para tomar datos de referencia que sirvieran para evaluar la variación

Hervido

En este tratamiento fueron empleadas las caballas numeradas de la 5 a la 8. Se dispuso de un recipiente cilíndrico metálico de 25 cm de diámetro en su base, el cual fue rellenado con dos litros de agua mineral sin sal con las siguientes especificaciones

Residuo seco a 180°C: 135 mg/l	Calcio: 5,8 mg/l
Bicarbonato: 56,9 mg/l	Magnesio: 4,3 mg/l
Sulfato: 4,9 mg/l	Potasio: 8,5 mg/l
Cloruro: 17,2 mg/l	Sodio: 20,3 mg/l
Fluoruro: 0,3 mg/l	Silice: 34,3 mg/l

- Conductividad a 20°C de 175 microS. cm^{-1}

El agua fue llevada a ebullición alcanzando una temperatura estable de 85°C, temperatura que fue medida con un termómetro de precisión. Una vez alcanzada tal temperatura se introdujeron las cuatro caballas simultáneamente dentro del recipiente dentro de una malla metálica quedando totalmente sumergidas en el líquido y permaneciendo así el tiempo de 7 minutos y medio. Finalizado el cocinado las caballas fueron escurridas del líquido y conservadas juntas y clasificadas dentro de un recipiente de plástico.

Fritura

Para este tratamiento se utilizó con una freidora de llama metálica, cilíndrica de 25 centímetros de base rellena con 2,5 litros de aceite vegetal con las siguientes especificaciones

- Valor energético: 3389KJ /824 kcal. por 100 ml
- Densidad :
- Composición en ácidos grasos en % del peso:

18:1n-9	Oleico	71%
16:0	Palmítico	14%
18:2n-6	Linolenico	10%
18:0	Esteárico	3%
16:1n-7	Palmitoleico	1%

Dicho aceite fue calentado hasta alcanzar la temperatura de 200°C, temperatura que fue medida con un termómetro preciso de alta temperatura. Las cuatro caballas de este tratamiento (de la 9 a la 12) fueron introducidas simultáneamente dentro del líquido dentro de una malla metálica, quedando totalmente cubiertas por el aceite hirviendo durante 2 minutos y medio. Pasado este tiempo se retiraron las caballas de la freidora y se comprobó que estaban completamente cocinadas. Las caballas fueron nuevamente guardadas dentro de un recipiente de plástico hermético.

Planchado

En este tratamiento realizamos el cocinado sobre una plancha eléctrica de cerámica la cual calentamos a una temperatura de 180°C. Sobre esta plancha esparcimos una fina capa de aceite de oliva (la misma que para el tratamiento anterior), y situamos encima las cuatro caballas designadas para este tratamiento. Las caballas fueron cocinadas todas juntas cubiertas además por una tapa cuadrada de vidrio para concentrar el calor. El cocinado tardó 8 minutos dando la vuelta a las caballas a los 4 minutos para asegurarse de que estaban bien cocinados por ambos lados. Una vez cocinadas las caballas fueron retiradas y guardadas en su correspondiente recipiente.

Hay que aclarar que los diferentes tratamientos fueron organizados en dos días diferentes. Las caballas frescas y hervidas fueron las primeras en ser cocinadas y analizadas seguidamente de la fase de pesado y medición. Mientras que las caballas destinadas a la fritura y a la plancha fueron guardadas en la nevera en hielo durante una noche antes de ser cocinadas y posteriormente analizadas. Todas las caballas fueron identificadas desde el principio situando al lado de su branquia una aguja clavada con el número identificativo de esa muestra y un color correspondiente a su tratamiento. De esta manera nos aseguramos que las caballas medidas se corresponden con las que luego muestreamos en el laboratorio.

Muestreo y extracción

En la primera jornada tras el cocinado se trasladaron las caballas frescas y hervidas al laboratorio para realizar el muestreo y la extracción. Todas las caballas siguieron el proceso de muestreo que describo a continuación:

La caballa es situada en una superficie lisa y limpia donde con ayuda de un escalpelo y unas pinzas para seccionamos una porción de musculo de la zona dorsal de aproximadamente 5 gramos. Situamos la sección sobre una placa de Petri de vidrio que se encuentra a su vez sobre un recipiente con hielo, garantizando en todo momento la frescura del tejido y no provocar deshidratación. Seguidamente retiramos con cuidado de la sección, la epidermis y la dermis del pez para quedarnos con el tejido muscular de un color rosa pálido en caso de las caballas fresca y blanco en el caso de las cocinadas ya que este tejido es el objeto de nuestro estudio.

Una vez separado el tejido muscular pesamos con ayuda de un granatario de precisión una muestra aproximada de 550mg anotando el peso real en una tabla. Esta muestra es introducida dentro de un tubo ensayo, mantenida en hielo y tapada dado que será empleada para la extracción de lípidos por lo que es importante impedir la deshidratación y la oxidación. A continuación tomamos una segunda muestra de aproximadamente 2 gramos las cuales introducimos dentro de un recipientes de porcelana especial para aguantar grandes temperaturas. Esta muestra fue empleada para la medición de la humedad y para el cálculo del porcentaje de cenizas y para ello tuvo que ser anotado el peso exacto del recipiente y de la muestra. Finalmente tomamos una tercera muestra de musculo de aproximadamente 700 mg la cual colocamos sobre un recipiente cilíndrico de papel de aluminio. Esta muestra fue utilizada para el cálculo de la humedad por lo que se realizó el pesado exacto del papel de aluminio y de la muestra.

Extracción del lípido total

La extracción del lípido se realizó a partir de la primera muestra anteriormente citada. Dicha muestra de aproximadamente 550mg fue pesada e introducida dentro de un tubo de ensayo en frio y tapado. La extracción se obtuvo mediante la homogeneización mecánica de la muestra en una mezcla de cloroformo/metanol (2:1, v/v) tal y como se muestra en la modificación Folch et al., 1957. Se añadió posteriormente KCl (0,88%) y se realizó una centrifugación para que el homogeneizado se separara en dos fases: una fase superior acuosa (que se elimina) y una fase inferior orgánica que contiene el lípido total de la muestra. La fase orgánica se separó en un nuevo tubo y se evaporó bajo corriente de nitrógeno en una campana extractora hasta alcanzar un volumen de 1,5 ml aprox. Llegado este punto el lípido fue trasvasado a un bote de vidrio de 2ml de capacidad que previamente había sido pesado y marcado con el número de cada muestra. Finalmente el solvente fue totalmente evaporado en corriente de nitrógeno y fue conservado en un desecador de vacío durante 7 horas. El peso del lípido en mg se obtuvo de la resta del peso del bote de vidrio vacío al peso del bote con los lípidos. Por su parte el % de lípido en peso fresco fue hallado simplemente aplicando la siguiente formula.

$$\frac{(\text{Peso del lípido mg} \times 100)}{\text{Peso de la muestra}}$$

El lípido total fue conservado en cloroformo/metanol (2:1, v/v) con BHT como antioxidante a una concentración de 10mg/ ml. Las muestras fueron selladas en atmósfera de nitrógeno y mantenidas en congelador Para análisis posteriores.

Determinación del porcentaje de Humedad.

La tercera muestra a la que hicimos mención en el apartado anterior, aquella que había sido pesada y depositada en un recipiente de papel de aluminio de peso también conocido, se colocó en estufa a 110°C. Tras 24 horas en dicha estufa se dejó atemperar la muestra durante 30 minutos en un desecador para permitir que alcance la temperatura ambiente sin ganar de nuevo humedad. Seguidamente se volvió a pesar la muestra deshidratada en peso seco y se calculó el porcentaje de humedad mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = [(F - S) / (F - A)] * 100.$$

- F= Peso en fresco
- S= Peso en seco
- A= Peso del Papel de aluminio

Determinación de proteínas

El contenido en proteínas se calculó a partir del contenido total de nitrógeno de la muestra siguiendo el método de Kjeldahl (AOAC, 1990). En primer lugar de las muestras deshidratadas utilizadas para el cálculo de la humedad se tomaron 2 gramos que son separados y situados dentro de tubos de ensayo envueltos en papel libre de nitrógeno. Las muestras se digirieron usando ácido sulfúrico, sulfato potásico y sulfato de cobre (como catalizador), obteniéndose de este modo el nitrógeno en forma de sales de amonio. Posteriormente, calentando estas sales en presencia de hidróxido de sodio, se destila el amoniaco de cada una de las muestras. El amoniaco es recogido en una disolución de ácido bórico y valorado con ácido clorhídrico 0,1 N. % la manera de realizar el cálculo de la valoración es de la siguiente forma:

$$\% \text{ de Proteína en peso seco} = [(HCL \times (V_m - V_b) \times 14 \times 6,25) / 1000 \times m] \times 100$$

Donde

- HCL= normalidad del HCl
- V_m= volumen de HCl valorado para la muestra
- V_b = volumen de HCl valorado para el blanco
- m = masa en g de la muestra
- 14= peso atómico del nitrógeno
- 6,25 = factor de conversión de nitrógeno en cantidad de proteína asumiendo que las proteínas contienen un 16% de N

Para pasar posteriormente los valores de proteína en peso seco a en peso fresco hay que aplicar la siguiente formula

Determinación de las cenizas

Las cenizas dan una estimación del contenido en minerales de la muestra. Su determinación se llevó a cabo mediante incineración a altas temperaturas, de esa

manera, la materia orgánica se transforma en CO₂ y H₂O, que se volatilizan quedando únicamente los minerales como productos residuales en forma de ceniza.

Para la valoración, primero se introdujo aproximadamente 2 g de la muestra en un recipiente de porcelana ideado para altas temperaturas. Dicho recipiente espesado antes de albergar la muestra y después dicha muestra fue introducida en una estufa de 110°C durante 12 horas para provocar su deshidratación. Llegado a este punto se realizó una nueva pesada que sirvió para calcular por duplicado el porcentaje de humedad del tejido.

A continuación se aplicó el método de A.O.A.C (1990) consistente en la incineración progresiva de la muestra en una mufla. Se aumenta progresivamente y a intervalos de media hora la temperatura desde 200°C hasta 450°C. El motivo de esta gradualidad es evitar la formación de una costra superficial por una mala combustión de los lípidos lo que provocaría una incorrecta incineración del interior de la muestra. Una vez alcanzada la temperatura de 450 °C, la muestra se mantiene activa durante toda la noche. Una vez obtenidas las cenizas se trasladaran a un desecador para asegurar la total deshidratación mientras las muestras se atemperan. Finalmente las cenizas fueron pesadas y se calculó el porcentaje de cenizas en peso fresco con la siguiente operación

% de cenizas en peso fresco= (peso de las cenizas/peso de la muestra fresca) x 100.

Transesterificación metílica de ácidos grasos

A partir del extracto total de lípidos realizado se realizó la extracción de los ácidos grasos en forma de esteres metílicos o FAMES (Fatty Acids Methyl Esters) para proceder a su cuantificación e identificación posterior por cromatografía de gases. Este proceso se realizó sometiendo dos gramos de extracto lipídico total a una transesterificación metílica por catálisis ácida durante 16 horas a 50°C, usando para ello un ml de tolueno (para favorecer la disolución de los ácidos menos polares) y 2ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 1% de (v/v) en metanol (actuando el metanol como agente donador de los grupos metílicos durante la transesterificación y el sulfúrico como catalizador de la reacción) (Chistie, 1982). Los esteres metílicos de ácidos grasos resultantes, es decir, los FAMES fueron recuperados mediante dos extracciones lípido:lípido consecutivas y purificados por cromatografía en capa fina, utilizando la mezcla de los solventes hexano/dietil-éter/ácido acético en proporción 90:10:1, e identificados por visualización directa de los estándares, tras la tinción de los mismos con una solución de yodo resublimado (Iodina) al 1% en cloroformo. Como estándar interno para la cuantificación, previo al proceso se añadió el ácido nonadecanoico (19:0) en una cantidad equivalente al 5% de los lípidos. Como patrón externo de identificación se utilizaron los esteres metílicos de un extracto lipídico de huevo de bacalao. Los FAMES ya purificados e identificados fueron extraídos de la sílice mediante el raspado de la banda correspondiente y resuspensión en una mezcla de hexano/dietil éter 1:1. Finalmente tras evaporación bajo flujo de nitrógeno, los FAMES se resuspenden en un pequeño volumen de 750 µl de hexano BHT (0,01%), estando ya en disposición de ser inyectados en el cromatógrafo de gases

Cromatografía de gases

La determinación cualitativa y cuantitativa de los esteres metílicos de ácidos grasos se realizó utilizando un cromatógrafo de gases equipado con inyector *on column* y un detector FID (Flame Ionization Detector) que utiliza como fase móvil un flujo constante de helio (1,5 ml/min). La identificación de cada ácido graso en el cromatograma se llevó

a cabo con la ayuda de un multiestándar muy completo de tipo marino procedente de un aceite de hueva de bacalao bien caracterizado, y de uso rutinario el laboratorio.

Análisis estadístico

Para llevar a cabo las comparaciones entre los efectos de los distintos tratamientos se aseguró su normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff, seguido del test de Levene para comprobar la homogeneidad de las varianzas. Los grupos con varianza homogénea (paramétricos) fueron estudiados con el análisis de varianza ANOVA y se observó las similitudes de grupo mediante un test de Tukey. En aquellos datos cuya varianza no presento homogeneidad (no paramétricos) se aplicó la transformación del logaritmo neperiano (Ln) y se intentó realizar de nuevo el análisis ANOVA comparando de nuevo mediante el test de Tukey. Los datos en los que no se alcanzó homogeneidad de la varianza aun realizando la transformación fueron estudiados aplicado el test no paramétrico de Kruskall-wallis y posteriormente el post-hoc Games-Howell a fin de hallar en ellos las similitudes de grupo.

Resultados y discusión

Observando los datos de la tabla 2 podemos comprobar el resultado comparativo de las variaciones que han provocado los distintos tratamientos sobre el porcentaje de cenizas, humedad, lípido total y proteínas. La variación en el contenido de humedad a pesar de que es lo suficientemente significativa como para que el análisis estadístico la detecte, ciertamente es pequeña. La humedad disminuyo en los tres tratamientos de manera homologa en torno a un 3,1 %, variación que no produjo la concentración en proteínas, lípidos ni sales minerales en ninguno de los tratamientos. Al no producirse esta concentración, los valores nutricionales de la caballa fresca y la hervida permanecieron iguales no produciéndose diferencias en proteínas, lípidos ni cenizas.

Tabla 2: Análisis comparativo de los diferentes tratamientos sobre los valores nutricionales de la caballa (*Scomber colias*) en g/100g de tejido muscular

	En fresco	Hervido	Fritura	Planchado
% Cenizas	1,60±0,14	1,56±0,28	1,51±11	1,58±11
% Humedad	76,83±0,85 b	73,11±0,36 a	73,89±2,14 a	73,35±1,97 a
% Lípido	0,86±0,18 b	0,94±0,05 b	1,42±0,21 a	1,29±13 a
% Proteínas	20,60±0,75	19,41±3,01	21,82±3,31	20,50±2,06

Los resultados muestran las medias en valores absolutos de 4 muestras (n=4)± la desviación estándar (SD). Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05)

Los tratamientos de fritura y planchado por su parte si acusaron un aumento notable del contenido en lípido y además dicho aumento se produjo de igual manera en ambos. Si comparamos sus valores con las muestras en fresco tampoco se aprecian diferencias significativas en el contenido en proteínas y de cenizas, indicando que el aumento del contenido en lípido no fue causado por la concentración debida a la deshidratación sino únicamente por la perfusión del aceite.

Este resultado está en consonancia con los datos obtenidos del análisis de los FAMES los cuales son recogidos en la tabla número 3. En esta tabla se refleja la concentración de varios ácidos grasos pertenecientes a las diferentes categorías (insaturados, mono insaturados, PUFAS y HUFAS), además de los valores de lípidos totales para cada categoría. De entre los ácidos grasos escogidos se incluyeron ácidos grasos presentes en el aceite de oliva y solo presentes en el pescado a fin de poder comprobar si el aumento de la concentración de lípido fue influenciado únicamente por la perfusión del aceite o también está influenciada por la deshidratación.

Tabla 3: contenido en ácidos grasos en el musculo de caballa ($\mu\text{g}/100\text{g}$ de tejido)

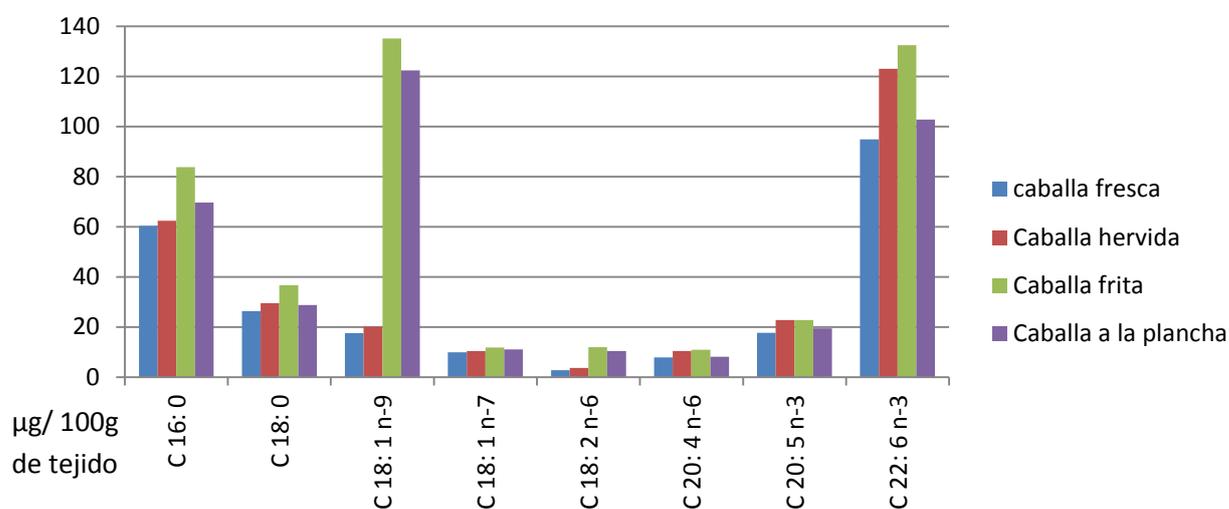
Ácidos grasos	En fresco	Hervido	Fritura	Planchado
C 16: 0	60,34±8,89 b	62,34±12,06 b	83,78±7,28 a	69,70±9,86 a
C 18: 0	26,40±4,11	29,57±7,84	36,72±2,91	28,76±5,41
C 18: 1 n-9	17,52±1,97 b	20,12±4,80 b	135,08±31,52 a	122,32±12,39 a
C 18: 1 n-7	9,90±1,44	10,43±2,31	11,81±0,89	11,12±1,09
C 18: 2 n-6	2,82±0,69 b	3,65±1,13 b	11,91±2,68 a	10,42±1,03 a
C 20: 4 n-6	7,83±0,82	10,44±3,12	10,98±0,79	8,16±2,29
C 20: 5 n-3	17,64±2,42	22,76±5,68	22,80±1,84	19,45±3,29
C 22: 6 n-3	94,92±15,08	123,00±31,96	132,41±12,51	102,79±19,94
SFAs	93,37±14,12 b	95,09±22,24 b	129,68±11,14 a	105,58±16,51 a
MUFAs	39,54±6,35 b	42,26±11,17 b	160,81±34,91 a	145,24±15,99 a
PUFAs	136,18±21,68	178,74±48,14	200,16±20,23	157,82±29,92
HUFAs	128,78±19,89	170,07±45,52	181,75±16,81	141,85±28,07
n-6	15,71±2,23 b	17,91±1,86 b	27,93±3,01 a	26,71±2,40 a
n-3	119,09±19,27	122,92±39,56	134,37±15,50	130,02±24,51
n-3/n-6	7,57±2,45 a	6,86±1,86 a	4,81±1,56 b	4,88±1,66 b
DHA/EPA	5,38±2,24	5,41±2,62	5,81±1,81	5,28±2,05
EPA/DHA	0,19±0,16	0,19±0,11	0,18±0,12	0,19±0,17
EPA/ARA	2,58±1,12	2,18±1,17	2,08±1,02	2,38±1,24

Los resultados muestran las medias en valores absolutos de 4 muestras (n=4) \pm la desviación estándar (SD). Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Se puede apreciar que el contenido en ácidos grasos de las caballas hervidas es homólogo al observado en las caballas frescas, no produciéndose un aumento ni variación debida a la deshidratación. Si nos fijamos en el caso de los otros dos tratamientos los únicos ácidos grasos que aumentan significativamente su concentración son aquellos que esta presentes el aceite de oliva es decir 16:0 (ácido palmítico);18:1n-9 (ácido oleico) y el 18:2n6 (linoleico) siendo este último el que menos aumentó. El único ácido graso presente en el aceite que no aumento significativamente su concentración en estos dos tratamientos fue el 18:0 (esteárico) resultado razonable si tenemos en cuenta que supone solo el 3% del volumen del aceite de oliva.

Este resultado puede observarse más claramente en la Grafica 1 donde se reflejan los incrementos sufridos por los ácidos grasos del aceite con respecto al resto.

Grafica 1: Comparativa de los valores absolutos de ácidos grasos en los tres tratamientos con respecto a las caballas frescas expresada en $\mu\text{g}/100\text{g}$ de tejido.



La proporción de saturados y monoinsaturados solo vario en los tratamientos de fritura y planchado, aumentando debido a la perfusión del ácido palmítico (16:0) y oleico (18:1n-9) respectivamente. Con respecto a los polinsaturados, el aumento de la concentración de linoleico (18:2n-6) no fue suficiente para que los tratamientos se diferenciaron significativamente en su porción general de PUFA, la cual se mantuvo igual en todos los tratamientos. Los HUFAs por su parte tampoco sufrieron variaciones dado que el EPA(20:5n-3), el DHA(22:6n-3) y el araquidónico (20:4n-6) no se encuentran presentes en el aceite, comportamiento que se ve reflejado también en las relaciones DHA/EPA, EPA/DHA y EPA/ARA. En el musculo de caballa los ácidos grasos n-3 DHA y EPA se mantienen en proporciones muy superiores al ácido n-6 araquidónico (12:1) por lo que puede se le considerarse un alimento idóneo para equilibrar en la dieta la proporción n-3 y n-6.

Los ácidos grasos n-3 no aumentaron su concentración, No obstante si nos fijamos en los valores de n-6 y en la proporción n-3/n6 en los tratamientos de fritura y planchado; se observa un ligero aumento de los ácidos grasos n-6 impulsado por el linoleico, el cual desplaza ligeramente la proporción respecto a los valores del tejido fresco y hervido. El ácido graso linoleico puede servir como sustrato para la síntesis de araquidónico en el organismo pudiendo alterar la proporción entre los HUFAS n-3 y

n-6. No obstante el aumento de la concentración de este ácido graso es bastante sutil por estar presente en el aceite de oliva solo en un 10%. Este aumento sería mucho más acusado si hubiéramos utilizado un aceite más rico en linoleico como el de girasol, en el que este ácido graso llega a representar el 37% (Segura et al, 2014).

En los tratamientos de fritura y planchado el cocinado de la pieza entera de pescado a altas temperaturas, produce un efecto de sellado en la epidermis, provocado por la coagulación de las proteínas en superficie. Este hecho permite que en ambos tratamientos la pérdida de agua aunque significativa sea bastante baja y que no se produzca un aumento en la concentración de ácidos grasos por deshidratación. En comparativa cuando se fríe el pescado en filetes la pérdida de humedad es mucho más acusada llegando a alcanzar una disminución del 32% (Weber et al, 2007)

El aumento en la concentración de los ácidos grasos del aceite se produjo en igual medida en ambos tratamientos denotando así que la ganancia de lípidos por parte del músculo de la caballa es igual cuando freímos por inmersión o cuando freímos a la plancha sobre una superficie de aceite. El tiempo de cocinado y la temperatura son factores determinantes a este respecto. A pesar de que en el tratamiento de fritura el alimento está más expuesto a la perfusión de lípidos, la temperatura es más alta que en el planchado aumentando el efecto de sellado y el tiempo de cocinado se reduce a la mitad.

Conclusiones

Al cocinar la caballa mediante los tres tratamientos descritos, en el músculo de la caballa se produjo una pérdida de humedad significativa pero leve (3,1%) la cual se me mostró homologa en los 3 tratamientos. Esta disminución de la humedad, no produjo el aumento de la concentración de las proteínas, lípidos ni cenizas.

Los valores nutricionales mostrados por las caballas hervidas se mostraron estadísticamente iguales, coincidiendo para los resultados de proteínas, lípidos y cenizas por lo que puede considerarse el tratamiento culinario más respetuoso con el valor nutricional del pescado.

Los tratamientos de fritura y planchado no mostraron variaciones en la concentración de proteínas y cenizas con respecto al tejido fresco pero sí que presentaron un aumento de la concentración de lípidos. Dicho aumento se considera estadísticamente igual para los dos tratamientos por lo que ambos pueden considerarse iguales con respecto a la codificación de los valores nutricionales de la caballa. Dicho aumento en la concentración de ácidos grasos no fue influenciado por la pérdida de humedad sino únicamente por la perfusión del aceite de oliva empleado en ambos tratamientos. Solo se produjo un aumento en la concentración de los ácidos grasos presentes en el aceite manteniéndose constante la concentración del resto.

En los tratamientos de fritura y planchado se produjo un aumento de la concentración de insaturados y monoinsaturados provocado por la perfusión de ácido palmítico (16:0) y oleico (18:1n-9) respectivamente. Además se produjo un ligero aumento de los ácidos grasos n-6 debido al linoleico (18:2n-6) el cual desplazó aunque en pequeña medida a la proporción n-3/n-6. A pesar de ello las concentraciones de los HUFAS n-3 (EPA y

DHA) y n-6 (ARA) se mantuvieron constantes por lo que se puede considerar que las caballas cocinadas mediante estos tratamientos no pierden en gran medida su valor nutricional y que siguen tratándose de alimentos interesantes para el mantenimiento de una correcta proporción de n-3:n-6 en la dieta.

Bibliografía y referencias

Sanchez-Gómez De Berrazueta JM y De Berrazueta JR. Consumo de pescado, omega-3 y factores de riesgo cardiovascular. *Revista Med* 2007; 15(2):218-224.

Carrero JJ, Martín-Bautista E, Baró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ y López-Huerta E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr Hosp* 2005; 20(1):63-69.

Castro-González MI, Ojeda A, Silencio JL, Cassis L, Ledesma H y Pérez-Gil F. Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutraceuticos. *Archivos Latinoamericano de Nutrición* 2004; 54(3):1-10.

Abib, m; Freyre, M; Fontanarrosa, M.E; Del Barco, D y Farraris N. 2003. Calidad nutricional de las grasa del pescado del río Panamá de consumo masivo en Santa Fé. *Revista FARICIR* 7.127-133

Coenders, A 1996. *Química culinaria* Editorial Acribia (España)

Hoffman, LC; Prinsloo, J.F; Casey NH And Theron, J. 1994. Effect o five cooking method on the proximate fatty acid and mineral composition of fillets of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) *Die SA Tydskrif vir voedselwetenskap en voiding* 6 (4): 146-152.