

## Alimentos funcionales

# Óxidos de colesterol en langostinos frescos y congelados, crudos y a la plancha

M. Echarte, A. Conchillo, D. Ansorena e I. Astiasarán

*Departamento de Bromatología. Tecnología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra. Pamplona. España.*

### Resumen

Los óxidos de colesterol (COPs) se relacionan con diferentes efectos tóxicos entre los que destacan su implicación en los procesos de aterosclerosis. Se estudió la presencia de óxidos de colesterol en langostinos comercializados en fresco y en congelación, tanto en crudo, como sometidos a una tecnología culinaria habitual (plancha). La determinación se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). En los langostinos frescos se detectaron todos los COPs analizados con excepción del 7 $\alpha$ -hidroxicoolesterol, presentando una cantidad total de 33,15  $\mu$ g COPs/g grasa. Por el contrario, en los langostinos comercializados congelados sólo se detectaron el 7-ketocolesterol y el 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol, dando lugar a una cantidad total de 2,38  $\mu$ g COPs/g grasa. Estos resultados indican la gran efectividad de la comercialización bajo condiciones de congelación de este tipo de alimentos en cuanto a ralentizar la formación de COPs. El tratamiento culinario incrementó el contenido de COPs en ambos tipos de langostinos, alcanzando 55,43  $\mu$ g COPs/g grasa en los frescos y sólo 13,06  $\mu$ g COPs/g grasa en los congelados.

(*Nutr Hosp* 2005, 20:293-296)

Palabras clave: *Oxidación. Tecnologías culinarias. Oxisteroles. Marisco.*

### Introducción

El marisco tiene un especial interés en relación con el estudio de los potenciales procesos oxidativos que afectan a la fracción lipídica y, en concreto, al colesterol. A pesar de su elevado contenido en humedad y

### CHOLESTEROL OXIDATION PRODUCTS IN FRESH AND FROZEN SHRIMPS, RAW AND GRILLED

#### Abstract

Cholesterol oxidation products (COPs) have been related to different toxic effects, being the atherosclerotic process one of the best known. The presence of cholesterol oxides in freshly and frozenly commercialised shrimps, both raw and grilled, was studied. The determination was made by gas chromatography-mass spectrometry (GCMS). Fresh shrimps showed significant amounts of all analysed COPs, except for 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol, accounting in total for 33.15  $\mu$ g COPs/g fat. In contrast, in frozen commercialised shrimps only 7-ketocolesterol and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol were detected. These results point out the great effectiveness of the commercialisation of this type of products under freezing, in terms of to the minimisation of the COPs formation. The cooking method (grilling) increased the COPs content in both types of shrimps, reaching 55.43  $\mu$ g COPs/g fat in fresh shrimps and only 13.06  $\mu$ g COPs/g fat in frozen ones.

(*Nutr Hosp* 2005, 20:293-296)

Key words: *Oxidation. Cooking methods. Oxysterols. Seafood.*

bajo contenido en grasa, el marisco es una de las principales fuentes de colesterol, con cantidades en torno a los 150 mg/100g de porción comestible<sup>1,2</sup>.

Según datos del MAPA<sup>3</sup> el consumo de marisco (kgs per cápita) ha pasado de 7,92 en 1997 a 10,43 en el año 2001, incrementándose en un 6% el consumo total, fundamentalmente debido al aumento de productos congelados. Según estas mismas estadísticas el mayor consumo corresponde a producto fresco (6,2 kg *per cápita*), seguido de congelados (4,02 kgs *per cápita*) y cocidos (0,21 kg *per cápita*). Si se compara el consumo de marisco frente a otros productos de la pesca, ocupa el segundo lugar (10,43 kgs *per cápita*) después

**Correspondencia:** Dr. I. Astiasarán  
Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra  
31080 Pamplona (Navarra)  
E-mail: iastiasa@unav.es

Recibido: 22-VI-2004.  
Aceptado: 30-VI-2004.

del pescado fresco (16,25 kgs *per cápita*) y por delante del pescado congelado (4,12 kg *per cápita*).

Los estudios científicos más frecuentes en relación con el marisco desde el punto de vista de su calidad y de su seguridad se relacionan con el desarrollo de la melanosis y las formas de evitarla mediante el empleo de diferentes aditivos conservadores<sup>4</sup>. Sin embargo, no son muchos los estudios que se centran en el análisis de óxidos de colesterol en productos del mar. Los óxidos de colesterol (COPs) se relacionan con diferentes efectos tóxicos entre los que destacan su implicación en los procesos de aterosclerosis<sup>5</sup>. Los alimentos de origen animal son susceptibles de aportar al organismo cantidades significativas de estos compuestos dependiendo de la naturaleza del alimento, del procesado tecnológico y culinario y de las condiciones de almacenamiento. Diversos autores han analizado el contenido de óxidos de colesterol en pescados y derivados de pescado, obteniendo en todos los casos una gran diversidad de resultados, atribuida a la diferente naturaleza de la materia prima, a los distintos tipos de tratamientos culinarios a los que fueron sometidos y al tipo de conservación aplicado en cada caso<sup>6-10</sup>. Sin embargo, no se han encontrado trabajos que estimen la cantidad de óxidos de colesterol contenida en los mariscos, ni su variabilidad en función del tipo o de las diferentes tecnologías de conservación o de preparación. Hay que señalar en este sentido que, además de la alta cantidad de colesterol, se puede pensar que el alto porcentaje de insaturación de los ácidos grasos presentes en estos productos podrían favorecer los procesos oxidativos<sup>11</sup>.

El objetivo de este trabajo fue determinar la cantidad de óxidos de colesterol en uno de los mariscos de mayor consumo, los langostinos, en sus formas comerciales más frecuentes: crudos y congelados. Asimismo, se pretendió estimar la influencia de una de las tecnologías culinarias más usualmente aplicada a los langostinos, la plancha, sobre la intensidad de la oxidación del colesterol.

## Material y métodos

Se adquirieron en el mercado muestras de langostinos (*Penaeus vannamei*), cuatro de ellas comercializadas en fresco y cuatro muestras comercializadas en congelación, en cuatro establecimientos distintos de Pamplona. Cada muestra, de unos 650 g, se analizó por cuadruplicado en crudo y tras ser sometidos a la plancha (180° C, 3 min cada lado). Los langostinos congelados se descongelaron en refrigeración previamente a ser analizados o cocinados. Los langostinos adquiridos en fresco se mantuvieron en refrigeración hasta el momento del análisis. Se analizaron los siguientes parámetros de composición general: grasa mediante la Norma internacional ISO-1443<sup>12</sup>, humedad mediante la ISO 1442<sup>13</sup>, colesterol<sup>14</sup>. Extracción lipídica con cloroformo/metanol (2/1) mediante el método de Folch et al.<sup>15</sup>.

Determinación de óxidos de colesterol: la saponificación en frío, purificación en cartuchos de sílice y derivatización se llevaron a cabo según el método descrito por Guardiola et al.<sup>16</sup>. La posterior separación e identificación de los trimetilsililésteres de los óxidos de colesterol se llevó a cabo según el protocolo descrito en Echarte et al.<sup>17</sup>. Se empleó un cromatógrafo de gases HP 6890 GC System (Hewlett-Packard) acoplado a un detector de masas 5973 Mass Selective Detector (Hewlett-Packard). Las condiciones cromatográficas fueron: Columna: HP-5MS (30m x 250 µm diámetro interno x 0,25 µm espesor fase); Gas portador: Helio (1 ml/min); Temperatura del inyector: 250° C; Temperatura del horno: 80° C, mantenida durante 1 min y rampa hasta 250° C ascendiendo a 10° C/min, seguida de una segunda rampa hasta 280° C a 4° C/min manteniéndose esa temperatura durante 20 min.

Tratamiento estadístico: Se calcularon los valores medios del análisis por cuadruplicado de las cuatro muestras, así como la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se determinó la *t* de Student para establecer diferencias significativas entre las muestras crudas y cocinadas. Se consideraron diferencias significativas con un valor de  $p \geq 0,05$ . El programa estadístico aplicado fue SPSS (SPSS 9.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, III.)

## Discusión

En la tabla I se muestran los resultados obtenidos para la humedad, la grasa y el contenido en colesterol de los cuatro tipos de muestras. Los langostinos frescos y congelados presentaron, en crudo, valores similares de humedad y grasa. El cocinado a la plancha, que se realizó sin adición de grasa, disminuyó de forma significativa el contenido en humedad en ambos tipos de langostinos, mientras que el incremento de grasa sólo alcanzó significación estadística en el caso de los congelados. En cuanto al contenido en colesterol, en general las muestras congeladas mostraron valores superiores a las frescas, diferencias que podrían atribuirse a la heterogeneidad de las muestras. Mathew et al.<sup>18</sup> en un estudio sobre contenido en colesterol de diferentes tipos y especies de pescados y mariscos de la India obtuvieron para estos últimos datos que oscilaron entre 118 y 163 mg/100 g de muestra. Piironen et al.<sup>19</sup> detectaron 142 mg de colesterol/100 g muestra para langostinos congelados. La mayor presencia de colesterol en las muestras congeladas no se tradujo en una mayor concentración de óxidos de colesterol con respecto a las muestras en crudo, tal y como se comentará posteriormente. Los resultados de COPs de la tabla II ponen de manifiesto que los langostinos frescos crudos mostraron cantidades significativas de todos los COPs analizados con excepción del 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol, presentando una cantidad total de 33,15 µg COPs/g grasa (fig. 1). Por el contrario, en los langostinos comercializados congelados crudos sólo se

**Tabla I**

Resultados de humedad, grasa y colesterol de las muestras de langostinos frescos en crudo y cocinadas a la plancha. Se muestra la media de todas las determinaciones realizadas en cada muestra

	Frescos crudos	Frescos plancha	NS	Congelados crudos	Congelados plancha	NS
Humedad %	74,38 (0,41; 0,55)	70,54 (0,22; 0,3 1)	***	73,41 (0,38; 0,52)	71,89 (0,50; 0,70)	***
Grasa %	1 (0,04; 4)	1,39 (0,03; 2,16)	ns	1,14 (0,03; 2,63)	1,78 (0,02; 1,12)	***
Colesterol mg/100 g muestra	161,45 (8,54; 5,29)	172,53 (6,15; 3,56)	***	218,44 (10,30; 4,72)	210,37 (8,8 5; 4,2 1)	ns

Entre paréntesis (desviación estándar; coeficiente de variación)

NS: nivel de significación de la *t* de Student; \*\*\* ( $p < 0,001$ ); n.s. no significativo ( $p \geq 0,05$ ).

detectaron los óxidos primarios 7-ketocolesterol y el 7 $\beta$ -hidroxicolesterol, presentando una cantidad total de 2,38  $\mu\text{g}$  COPs/g grasa. Por tratarse de muestras comerciales de procedencia distinta para los langostinos frescos y congelados no se incluyó en el estudio una comparación estadística entre ambos grupos, ya que no se puede conocer con exactitud en qué medida la congelación habría influido en el nivel de COPs en la materia prima inicial. Sin embargo, los resultados encontrados parecen indicar la gran efectividad de la comercialización bajo condiciones de congelación de este tipo de alimentos en cuanto a ralentizar la formación de COPs.

En cuanto a la influencia del tratamiento culinario, la plancha incrementó de forma significativa el conte-

nido de todos los COPs analizados en ambos tipos de langostinos, detectándose en este caso todos los compuestos analizados, a excepción del 7 $\alpha$ -hidroxicolesterol en los langostinos frescos cocinados. El total de COPs en los productos cocinados alcanzó 55,43  $\mu\text{g}$  COPs/g grasa en los frescos y 13,06  $\mu\text{g}$  COPs/g grasa en los congelados. En otros trabajos de nuestro equipo de investigación también se detectó un incremento del contenido en COPs con el cocinado a la plancha, en este caso de muestras de pechuga de pollo, presentando valores 4,5 veces superiores en las muestras cocinadas respecto a las crudas<sup>20</sup>.

Con objeto de eliminar el factor de variabilidad que implica la diferente cantidad de colesterol en las muestras se calcularon los porcentajes de oxidación

**Tabla II**

Óxidos de colesterol en muestras de langostinos frescas y congeladas, crudas y a la plancha, respectivamente ( $\mu\text{g/g}$  grasa)

	Frescos crudos	Frescos plancha	NS	Congelados crudos	Congelados plancha	NS
Colestanetriol	1,23 (0, 10; 8,13)	1,42 (0,06; 4,23)	*	0	1,13 (0,001; 0,08)	***
7-Ketocolesterol	3,96 (0,33; 8,33)	8,04 (0,46; 5,72)	***	1,24 (0,01; 0,81)	2,27 (0, 19; 8,3 7)	***
7- $\beta$ -Hidroxicolesterol	5,17 (0,43; 8,32)	12,38 (0,46; 4,23)	***	1,14 (0,08; 7,02)	2,07 (0,04; 1,93)	***
7- $\alpha$ -Hidroxicolesterol	Nd	Nd		0	3,12 (0,04; 1,28)	***
$\alpha$ -Epoxicolesterol	4,48 (0,32; 7,14)	8,92 (0,38; 4,26)	***	0	1,35 (0,04; 2,96)	***
$\beta$ -Epoxicolesterol	17,16 (1, 18; 6,8 8)	22,55 (0,97; 4,30)	***	0	2,59 (0,04; 1,54)	***
25-Hidroxicolesterol	1,15 (0,14; 12,17)	2,12 (0,12; 5,66)	***	0	0,53 (0,01; 1,89)	***

Entre paréntesis (desviación estándar; coeficiente de variación).

NS: nivel de significación; \* ( $p < 0,05$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ); n.s. no significativo ( $p \geq 0,05$ ).

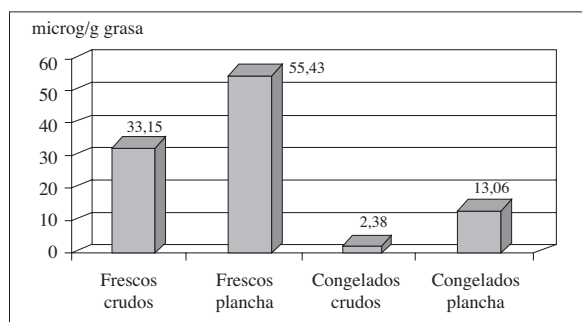


Fig. 1.—Óxidos de colesterol totales en muestras de langostinos frescos y congelados, crudos y a la plancha, respectivamente ( $\mu\text{g/g}$  grasa). Se muestra la suma total de las medias de cada óxido para cada tipo de muestra.

del colesterol (COPs/Colesterol \* 100), que se muestran en la figura 2. Los resultados fueron del orden de 0,020, 0,045, 0,001 y 0,011% para los langostinos frescos crudos, frescos cocinados, congelados crudos y congelados cocinados, respectivamente. Estos datos confirman que, a pesar del mayor contenido en colesterol de las muestras congeladas, la oxidación del colesterol se dio en mayor proporción en los langostinos comercializados en fresco, y particularmente en aquellos que fueron cocinados a la plancha.

No se han encontrado en la bibliografía trabajos con los que contrastar estos resultados de formación de óxidos de colesterol en langostinos u otro tipo de marisco. Sin embargo, parece interesante señalar que la congelación se presenta como un buen método para evitar la formación de óxidos de colesterol previamente a la comercialización de langostinos. Asimismo, se

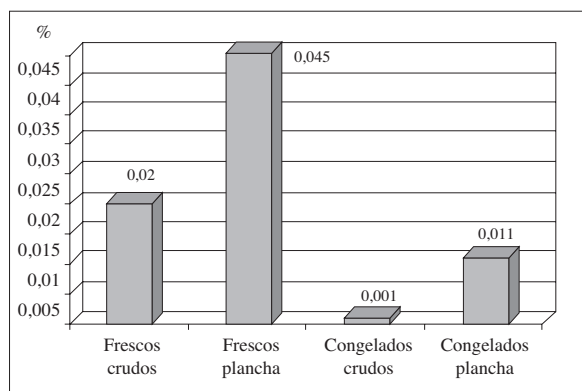


Fig. 2.—Porcentaje de oxidación de colesterol (COPs/cholesterol \* 100).

puede concluir que la plancha incrementa significativamente el contenido de óxidos de colesterol en langostinos frescos y congelados.

## Referencias

- Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C: Tablas de composición de alimentos. Ed. Pirámide. Madrid, 1995.
- Jiménez A, Cervera P, Bacardí M: Tabla de composición de alimentos Novartis. Novartis Consumer Health S.A. 2000.
- MAPA La Alimentación en España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, 2003.
- Morais C: Cause and prevention of black spot in shrimps. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Brazil, 1984, 21(2):121-135.
- Peng SK, Hu B, Morin R: Angitoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J Clin Lab Anal* 1991, 5:144-152.
- Oshima T, Li N, Koizumi C: Oxidation decomposition of cholesterol in fish products. *J Am Oil Chem Soc* 1993, 70:595-600.
- Osada K, Kodama T, Cui L, Yamada K, Sugano M: Levels and formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. *J Agric Food Chem* 1993, 41:1893-1898.
- Jeong-Hee K, Su-Jeong J, Yong-Ju K: Formation of cholesterol oxides in Sauri (Cololabis seira, Kongchi) during pan frying, deep fat frying, and microwave cooking. *Food Sci Biotechnol* 2000, 9(1):48-51.
- Scolan M, Luzzana U, Stefani L, Mentasti T, Moretti VM, Valfre F, Lopez C, Hardy RW: Quantification of cholesterol oxidation products in commercial fish meals and their formation during storage. *Aquac Res* 2000, 31 (10):785-791.
- Pickova J, Dutta PC: Cholesterol oxidation in some processed fish products. *J Am Oil Chem Soc* 2003, 80 (10):993-996.
- Li N, Oshima T, Shozen N, Ushio H, Koizumi C: Effects of the degree of unsaturation of coexisting triglycerols on cholesterol oxidation. *J Am Oil Chem Soc* 1994, 71:623-627.
- ISO: Determination of Total Fat content, ISO 1442-1973. In International Standards Meat and Meat Products; International Organization for Standardization: Ginebra.
- ISO: Determination of moisture content, ISO 1442-1997. In International Standards Meat and Meat Products; International Organization for Standardization: Ginebra.
- Kovacs MIP, Anderson WX, Ackman RG: A simple method for the determination of cholesterol and some plant sterols in fishery based food products. *J Food Sci* 1979, 44:1299-1301, 1305.
- Folch J, Lees M, Stanley GHS: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957, 226:497-509.
- Guardiola F, Codony R, Addis PR, Rafecas M, Boatella J: Comparison of three methods for the determination of oxysterols in spray-dried egg. *J Chromatogr A* 1995, 705:289-304.
- Echarte M, Ansorena D, Astiasarán I: Fatty acid modifications and cholesterol oxidation in pork loin during frying at different temperatures. *J Food Prot* 2001, 64(7):1062-1066.
- Mathew S, Ammu K, Viswanathan PG, Devadasan K: Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chem* 1999, 66:465-461.
- Piironen V, Toivo J, Lampi AM: New Data for Cholesterol Contents in Meat, Fish, Milk, Eggs and Their Products Consumed in Finland. *Food Comp Anal* 2002, 15:705-713.
- Conchillo A, Ansorena D, Astiasarán I: Combined effect of cooking (grilling and roasting) and chilling storage (with and without air) on lipid and cholesterol oxidation in chicken breast. *J Food Prot* 2003, 66 (5):840-846.