

## Colesterol y ácidos grasos insaturados en moluscos\*

por

J. M. GALLARDO,\*\* L. PASTORIZA \*\* y P. GONZÁLEZ \*\*

### INTRODUCCIÓN

Los productos marinos tienen una gran influencia en la dieta debido a su composición. Desde el punto de vista nutricional, son una fuente importante de proteínas de alta calidad, minerales y grasa. Tienen interés los efectos de los aceites marinos debido a su capacidad para disminuir los niveles de colesterol en el plasma y aunque están involucrados otros factores, estos efectos parecen ser debidos a la abundancia de ácidos grasos poliinsaturados en las grasas de los productos pesqueros (WOOD *et al.*, 1961).

Los ácidos grasos esenciales (linolénico, linoleico y araquidónico) son indispensables en la alimentación humana para el desarrollo del organismo (ZIEMLANSKI *et al.*, 1979) y han sido objeto de estudio, debido al papel que juegan en la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis, ya que disminuyen los lípidos de la sangre, en particular de colesterol, evitando a su vez la agregación de las plaquetas.

Para los expertos de FAO/OMS (1977), la relación ácidos grasos saturados/monoinsaturados/poliinsaturados debe ser 1:1:1; sin embargo, se debe profundizar más en esta relación para conocer mejor los efectos que se pueden producir.

Una de las características fundamentales de la grasa de los productos marinos es su contenido en ácidos grasos de cadena larga de la serie lino-

\* Recibido el 11 de diciembre de 1980.

\*\* Instituto de Investigaciones Pesqueras de Vigo. Muelle de Bouzas, s/n. Vigo.

lénica, tales como  $C_{20:5}$ , n-3, y  $C_{22:6}$ , n-3, que son compuestos hipocoles-terémicos e hipolipidémicos muy activos (DURAND *et al.*, 1979); esto ya había sido señalado por KEYS *et al.* (1965) al aceptar que existen tres de-terminantes dietéticas de la concentración de colesterol del plasma: la ingesta de colesterol, la de grasas saturadas y la de poliinsaturadas, que están relacionadas por la fórmula:

$$C = a(2S - P) + bZ \quad (1)$$

donde C es la concentración de colesterol plasmático en mg/100 ml, Z es la raíz cuadrada del contenido en colesterol de la dieta en mg/100 calorías, S y P son el contenido en ácidos grasos saturados y poliinsaturados, respectivamente, y a y b constantes.

La utilidad de esta ecuación es cualitativa, siendo de resaltar que la cantidad de ácidos grasos saturados e insaturados es más importante que la relación de grasa dietética poliinsaturada a saturada. Tanto la reducción de ácidos grasos saturados como el aumento de los poliinsaturados tiende a disminuir el colesterol y la influencia de estas modificaciones es mayor que la que ejerce la cantidad de colesterol ingerido en la dieta.

Según STANSBY (1973), los ácidos grasos poliinsaturados,  $C_{20:5}$  y  $C_{22:6}$ , presentes en los productos marinos, son muy efectivos en cuanto a disminuir los niveles de colesterol.

Teniendo en cuenta que la dieta ejerce un efecto significativo sobre la concentración de colesterol en el plasma (KUMMEROW, 1975), la industria alimentaria puede y debe jugar un papel importante en cuanto a las perspectivas nutricionales, ya que tiene la tecnología para fabricar nuevos productos que puedan reducir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Dado que los productos marinos tienen gran porvenir en este aspecto por su especial composición y que en la vieira, almeja, mejillón y berberecho de la ría de Arosa no se conocía dicha composición química, es por lo que es necesario estudiar estos moluscos de gran importancia comercial; siendo el objeto de este trabajo estudiar niveles de colesterol y tanto por ciento de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de los citados moluscos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materia prima

La materia prima utilizada en este trabajo estuvo constituida por los siguientes moluscos: vieira, *Pecten maximus* (L.), almeja, *Venerupis pul-lastra* (Mont.), mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) y berberecho, *Cerastoderma edule* (L.), procedentes de la ría de Arosa.

### **Determinación de proteínas**

El contenido en proteínas se ha calculado a partir del contenido en nitrógeno por multiplicación por el factor 6,25. El nitrógeno se determinó en un analizador elemental CNH modelo 240 de Perkin-Elmer.

### **Determinación de grasa**

El contenido en grasa se determinó según el procedimiento de DAMBERGS (1959).

### **Determinación de ácidos grasos**

Para la esterificación de los ácidos grasos se ha seguido el método de Metcalfe *et al.* (1966), con trifluoruro de boro-metanol. Todas las operaciones se han realizado en atmósfera de nitrógeno.

La separación de los derivados de los ácidos grasos en forma de ésteres metílicos se ha realizado mediante cromatografía gas-líquido empleando detector de ionización de llama, con una columna de vidrio de  $1800 \times 4$  mm, rellena con succinato de polietilenglicol al 4 % con ácido fosfórico al 0,16 % sobre gas Chrom de 100/120 mallas. La temperatura de columna fue  $200^{\circ}\text{C}$ , la del inyector  $250^{\circ}\text{C}$  y la del detector de  $350^{\circ}\text{C}$ . Como gas portador se empleó helio con un flujo de 13,3 ml/min, siendo el flujo de hidrógeno de 20 ml/min y el de aire de 275 ml/min.

Los ésteres de los ácidos grasos fueron identificados por comparación de sus tiempos de retención con muestras auténticas de ésteres de ácidos grasos.

### **Determinación del colesterol**

Una vez extraída la grasa total, se separa la fracción saponificable de la insaponificable, mediante una saponificación; después se realiza un lavado con volúmenes iguales de éter etílico y agua, formándose dos capas: en la fase etérea se encuentra el material insaponificable y en la acuosa el saponificable.

El extracto etéreo que contiene la fracción insaponificable se lava varias veces con una disolución de KOH 0,5 N, con el fin de eliminar trazas de saponificable que pudieron quedar en la fase orgánica, y posteriormente se lava con agua hasta eliminar la alcalinidad del medio orgánico, lo que se comprueba en el último lavado, que no debe acusar alcalinidad.

El extracto etéreo se concentra a vacío y con el fin de eliminar trazas de humedad se adiciona acetona, que se evapora a continuación. El residuo

es un polvo amarillo de olor característico, que se seca en desecador en presencia de pentóxido de fósforo, hasta peso constante.

Para la formación de los trimetilsilil éteres (TMS) de los esteroides se ha utilizado el reactivo de TRI-SIL, que está formado por hexametildisilazano-trimetilclorosilano-piridina (3:1:7).

El método consiste en tratar 10 mg de la mezcla de esteroides con 1 ml del reactivo, agitando durante 1 minuto y dejando reposar 15 minutos; transcurrido este tiempo se inyectan directamente en el cromatógrafo.

La separación de los derivados de los esteroides en forma de trimetilsilil éteres se ha realizado mediante cromatografía gas-líquido empleando detector de ionización de llama, con una columna de vidrio de 1800 × 4 mm, rellena con XE-60 al 3 % sobre Chromosorb W-H.P. 80/100 mallas. La temperatura de la columna fue de 208°C, la del inyector de 250°C y la del detector de 300°C. Como gas portador se ha empleado helio a flujo de 7,2 ml/min, siendo el flujo de hidrógeno 20 ml/min y el del aire 275 ml/min.

El análisis cualitativo del colesterol se realizó por comparación de tiempos de retención entre muestra auténtica y los picos del cromatograma problema.

## RESULTADOS EXPERIMENTALES

En el cuadro 1 se muestra la composición en proteínas, grasa y cenizas de los cuatro moluscos citados.

Los resultados experimentales muestran que tanto la composición proteica como la grasa es baja, lo cual tiene interés en dietas alimentarias destinadas a la reducción calórica.

Los resultados obtenidos son concordantes con los suministrados por FRAGA (1956) para mejillón, ÁLVAREZ-SEOANE (1960) para almeja, LÓPEZ-BENITO (1967) para berberecho, y LÓPEZ-BENITO (1955) para la vieira.

CUADRO 1

**Composición en proteínas, grasa y cenizas de la vieira *Pecten maximus* (L.), almeja *Venerupis pullastra* (Mont.), mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) y berberecho *Cerastoderma edule* (L.), de la ría de Arosa, correspondiente al mes de julio de 1977.**

	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)
Vieira	10,13	2,27	1,32
Almeja	9,16	1,77	1,83
Berberecho	7,73	1,50	1,80
Mejillón	9,45	2,20	1,43

CUADRO 2

Composición en colesterol, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados totales de la vieira *Pecten maximus* (L.), almeja *Venerupis pullastra* (Mont.), mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) y berberecho *Cerastoderma edule* (L.), de la ría de Arosa, correspondientes al mes de julio de 1977.

	mg colest./ 100 g músculo	g saturad./ 100 g músculo	g monoinsat./ 100 g músculo	g poliinsat./ 100 g músculo
Vieira	120,16	1,96	0,98	0,68
Almeja	144,19	0,77	0,77	0,66
Berberecho	93,89	0,89	0,27	0,23
Mejillón	210,00	2,14	0,84	0,77

En el cuadro 2 se muestra la composición en colesterol y ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados totales. En cuanto a los saturados totales, el mejillón y la vieira presentan valores altos, siendo más bajo el del berberecho, y, en cuanto a los poliinsaturados totales, los tantos por ciento son similares exceptuando el berberecho, que presenta valores más bajos.

Los niveles de colesterol son similares, destacando los valores más elevados del mejillón.

En el cuadro 3 se presentan los valores de  $C_{20:5}$  y  $C_{22:6}$ , ácidos grasos poliinsaturados de gran importancia. Son de destacar los valores de  $C_{20:5}$  en el mejillón y vieira y casi su ausencia en el berberecho, y en cuanto al  $C_{22:6}$  es notoria su presencia a concentraciones de traza en el berberecho.

Es posible que tenga lugar una regulación de la síntesis y almacenamiento de ácidos grasos poliinsaturados, ya que la cantidad de insaturado

CUADRO 3

Composición en ácidos grasos poliinsaturados  $C_{20:5}$  y  $C_{22:6}$  de la vieira *Pecten maximus* (L.), almeja *Venerupis pullastra* (Mont.), mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) y berberecho *Cerastoderma edule* (L.) de la ría de Arosa, correspondiente al mes de julio de 1977.

	$C_{20:5}$ (g/100 g músculo)	$C_{22:6}$ (g/100 g músculo)
Vieira	0,390	0,056
Almeja	0,100	0,160
Berberecho	0,051	trazas
Mejillón	0,372	0,140



de una familia que se encuentra en el tejido depende de la presencia de ácidos grasos de otras familias.

Así, según DE MORENO *et al.* (1976), cuando la dieta es deficiente en ácidos grasos poliinsaturados de la familia W-3, hay un decrecimiento de estos ácidos grasos, y al mismo tiempo un aumento de saturados e insaturados de otras familias, dichos autores concluyen que la composición en ácidos grasos está determinada por la dieta y relación fitoplancton/detritus, y en menor extensión por otros mecanismos.

Sin embargo, es preciso tener en cuenta los efectos de mecanismos biosintéticos e interconversiones metabólicas dentro de los organismos estudiados. LEWIN *et al.* (1979), por ejemplo, comprobaron que la mayoría de los ácidos grasos insaturados en  $C_{18}$ , que estaban ausentes en diatomeas, constituían al menos el 10 % del total en la almeja *Siliqua patula*, existiendo también diferencias cuantitativas respecto al  $C_{20:5}$  y  $C_{22:6}$ .

Dichos autores encontraron que la composición en ácidos grasos de la almeja es distinta de la de su principal fuente alimentaria, lo que es indicativo de un metabolismo que cambia la longitud de la cadena y el grado de saturación. Conclusiones similares han sido obtenidas por WATANABE y ACKMAN (1974) en estudios realizados en ostras, *Crassostrea virginica* y *Ostrea edulis*.

Numerosas investigaciones han mostrado evidencia de que el control de la composición de lípidos de membranas celulares, especialmente el grado de insaturación de ácidos grasos, es una parte importante de los procesos de adaptación, habiéndose comprobado que el sistema de desaturación en animales se debe a una transferencia electrónica compuesta de varias secuencias (CALDWELL *et al.*, 1979).

Bajo el punto de vista nutricional, y teniendo en cuenta que los ácidos eicosapentaenoico ( $C_{20:5}$ ) y docosahexaenoico ( $C_{22:6}$ ) son agentes hipocolesterémicos eficaces, se puede afirmar que los moluscos estudiados, por su composición en ácidos grasos insaturados, pueden ocupar un lugar preponderante en la dieta alimentaria.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Murado y al Dr. Franco sus sugerencias, a M. I. Montemayor la colaboración prestada, y a D. S. Gallardo Llerena su amabilidad al enviarnos las muestras de moluscos.

## RESUMEN

Se exponen datos sobre la composición de los ácidos grasos no saturados, con indicación de su utilización por los moluscos, tanto como importante fuente alimentaria, como para empleo de dichos ácidos en la determinación de los niveles de colesterol en el suero.

## SUMMARY

CHOLESTEROL AND FATTY ACIDS UNSATURATED IN MOLLUSCS. — Compositional data are reported indicating the usefulness of molluscs as an important food source and as a source of fatty acids unsaturated for the control of serum cholesterol levels.

## BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVAREZ-SEOANE, G. — 1960. Variación estacional de la composición química de la almeja babosa, *Tapes pullastra* (Mont.). *Inv. Pesq.*, 17: 3-32.
- CALDWELL, R. S., W. M. CALDARONE y B. A. ROSENE. — 1979. *Fatty acid composition of phospholipids in thermally acclimating sculpins (Leptocottus armatus) treated with polychlorinated byphenyls (Arecor 1254)*. In «*Marine pollution: Functional Responses*», 271-290. Ed. Academic Press, N.Y.
- DAMBERGS, N. — 1959. Extractives of fish muscle. Solvent-water ratio in extraction of fat and water solubles. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 16: 63-71.
- DE MORENO, J. E. A., V. J. MORENO y R. R. BRENNER. — 1976. Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma mactroides*. I. Composition of the lipids. *Lipids*, 11 (4): 334-340.
- DURAND, G., G. PASCAL y H. GOUNELLE DE PONTANEL. — 1979. Traitement de l'hypercholesterolemie chez le rat mâle par introduction dans la ration d'huile de soja supplémentée ou non par de l'huile de sardine. *Ann. Nutr. Alim.*, 33: 687-706.
- FRAGA, F. — 1956. Variación estacional de la composición química del mejillón (*Mytilus edulis*). *Inv. Pesq.* (4): 109-125.
- KEYS, A., J. T. ANDERSON y F. GRANDE. — 1965. Serum cholesterol response to changes in the diet. I. Iodine value of dietary fat versus 2S-P. *Metabolism*, 14: 747-758.
- KUMMEROW, F. A. — 1975. Lipids in atherosclerosis. *J. Food Sci.*, 40: 12-17.
- LEWIN, J., CHING-HONG-CHEN y T. HRUBY. — 1979. Blooms of surf-zone diatoms along the coast of the Olympic peninsula, Washington. X. Chemical composition of the surf diatom *Chaetoceros armatum* and its major herbivore, the pacific razor clam, *Siliqua patula*. *Marine Biology*, 51: 259-265.
- LÓPEZ-BENITO, M. — 1955. Composición química de la vieira (*Pecten jacobus*). *Inv. Pesq.*, 1, 137-151.
- 1967. Variación estacional de la composición química del berberecho (*Cardium edule*) en relación con el sustrato y el agua de mar. *Ibidem*, 31 (1): 91-111.
- METCALFE, L. D., A. A. SCHMITZ y J. R. PELKA. — 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38:514-515.

- STANSBY, M. E. — 1973. Polyunsaturates and fat in fish flesh. *Journal of American Dietetic Association*, 63 (6): 625-630.
- WATANABE, T. y R. G. ACKMAN. — 1974. Lipids and fatty acids of the american (*Crassostrea virginica*) and european flat (*Ostrea edulis*) oysters from a common habitat, and after one feeding with *Dicrateria inornata* or *Isochrysis galbana*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 31: 403-409.
- WOOD, J. D., J. BIELY y J. E. TOPLIFF. — 1961. The effect of diet, age, and sex on cholesterol metabolism in white leghorn chickens. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39: 1705-1715.
- ZIEMLANSKI, S., J. BUDZYNSKA-TOPOLOWSKA y J. RDZANEK. — 1979. Effets physiologiques de l'alimentation enrichie en acides gras essentiels chez le jeune homme. *Ann. Nutr. Alim.*, 33: 575-606.