

OBTENCIÓN DE LÍPIDOS DE ALTO VALOR NUTRICIONAL A PARTIR DE PRODUCTOS DE DESECHO RESULTANTES DE LA COMERCIALIZACIÓN DE CHIPIRÓN (*Loligo gahi*)

Santiago P. Aubourg*, Marcos Trigo, M^a Jesús González, Salomé Lois e Isabel Medina

Instituto de Investigaciones Marinas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Vigo.

1. LAS ESPECIES MARINAS Y SUS PRODUCTOS DE DESECHO

La gran diversidad química y biológica observada en las especies marinas las hace especialmente atractivas como fuente de constituyentes de alto valor al objeto de ser empleadas en numerosas aplicaciones (Blanco y otros, 2007). Entre tales constituyentes se pueden citar proteínas de alto valor nutritivo y de gran digestibilidad, vitaminas liposolubles, minerales esenciales y ácidos grasos altamente insaturados (Tilami y Sampels, 2018). En concreto, los lípidos marinos son a día de hoy un objetivo de gran importancia debido a su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la serie ω 3, los cuales, han demostrado un papel positivo relevante en la lucha contra determinadas enfermedades humanas (Minihane y otros, 2016; Schunck y otros, 2018).

La pesca y la acuicultura juegan un papel importante en el desarrollo de la sociedad humana. A día de hoy, la producción anual de productos marinos contribuye en más de 170 millones de toneladas de productos marinos en todo el mundo (FAO, 2018). Sin embargo, solamente un 50-60% del total de las capturas es usado para consumo directo humano, siendo el procesado de productos marinos considerado como una de las principales fuentes de productos de desecho (cabezas, sangre, vísceras, piel, colas, etc.). (Ezquerro-Brauer y Aubourg, 2019). Consiguientemente, se obtiene un volumen nada despreciable de productos no deseados, constituyendo una fuente de contaminación para el medio ambiente, a no ser que se hagan notables esfuerzos para su aprovechamiento (Atef

y otros, 2017) y su valor comercial pueda ser incrementado (Rustad y otros, 2011).

Asimismo, es sabido que los subproductos del procesamiento de la industria pesquera son fuentes valiosas de componentes tales como proteínas, ácidos grasos insaturados de la serie ω 3, pigmentos, vitaminas, minerales y enzimas (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2008). Por ello, estos residuos deberían ser recuperados y aprovechados de forma eficiente, no solo para reducir el impacto ambiental que generan, sino por su potencial inclusión en alimentos, fármacos y otros tipos de productos en acuicultura, agricultura e industria en general. Así, se podrían convertir en coproductos de manera que llegasen a representar un campo de inversiones rentables (Shahidi, 2006).

Entre las distintas especies marinas, los cefalópodos constituyen un grupo biológico altamente interesante debido a su valor nutricional en la salud humana, por su significado comercial y por su gran aceptación por parte del consumidor a nivel mundial (Torrinha y otros, 2014). Entre las especies de cefalópodos, ha adquirido gran interés comercial el chipirón patagónico (*Loligo gahi* o *Loligo patagonica*). Esta especie nerítica se encuentra ampliamente distribuida a lo largo de la costa del sur de América, tanto atlántica (desde el golfo de San Matías hasta Tierra de Fuego, Argentina) como pacífica (desde el Sur de Perú hasta el Sur de Chile) (FAO, 2021). Este tipo de calamar es de pequeño tamaño (10-15 cm), oscilando su peso entre 75 y 150 g, y perteneciente a la familia *Loliginidae*.

2. PRESENTACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio se centra en la extracción de constituyentes lipídicos con propiedades nutritivas y saludables a partir de desechos de esta especie de chipirón. Los productos de desecho, considerados de forma conjunta, son analizados a nivel de los siguientes parámetros: contenido lipídico, composición en clases o grupos de lípidos (fosfolípidos, esteroides, triglicéridos, ácidos grasos libres y tocoferoles) y perfil de ácidos grasos a nivel individual (análisis cualitativo y cuantitativo), a nivel de grupos (saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) y a nivel de relaciones de grupos de ácidos (poliinsaturados/saturados y $\omega 3/\omega 6$). El empleo de productos de desecho en su totalidad se escogió por considerarse lo más práctico y comercialmente más interesante al no requerir un tratamiento o manipulación previa al objeto de llevar a cabo la separación de distintas fracciones (piel, vísceras, tentáculos, etc.). Asimismo, el estudio se llevó a cabo en piezas obtenidas a lo largo de un año, en concreto, en tiempos correspondientes a las cuatro estaciones del año.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Los productos de desecho de chipirón fueron facilitados por la empresa SERPESBA S.L.U. (Vigo, España). El cefalópodo fue obtenido en las cercanías de la costa argentina en el suroeste del océano Atlántico en los tiempos de verano (febrero), otoño (mayo), invierno (agosto) y primavera (noviembre) correspondientes al hemisferio Austral. Las muestras fueron transportadas en congelación a España. Una vez procesadas, los productos de desecho fueron transportados a nuestro laboratorio. En cada tiempo de muestreo, se consideraron tres lotes distintos de sub-productos de manera que el estudio se llevó a cabo por triplicado ($n = 3$).

La extracción lipídica se realizó de acuerdo con el método de Bligh y Dyer (1959), basado en una extracción en una mezcla monofásica de cloroformo-metanol. El contenido en fosfolípidos (FL) se midió mediante el procedimiento propuesto por Raheja y otros (1973), basado en la formación de un complejo entre el fósforo orgánico y molibdato amónico. En el caso de los esteroides (ES), este grupo lipídico se determinó a partir del método de Huang y otros (1961), basado en la reacción de Liebermann-Buchardt. El contenido en ácidos grasos libres (AGL) se determinó siguiendo el método de Lowry y Tinsley (1976), basado en la formación de un complejo con acetato cúprico y piridina.

Al objeto de cuantificar la presencia de triglicéridos (TG), se sometió el extracto lipídico a una cromatografía en capa fina (20 x 20 cm) al objeto de extraer los TG del extracto lipídico total. Posteriormente, la determinación del contenido de TG fue

realizada de acuerdo con el método de Vioque y Holman (1962), basado en la conversión de ésteres en ácidos hidroxámicos y la subsiguiente formación de un complejo con Fe (III).

El análisis de tocoferoles se llevó a cabo mediante el método propuesto por Cabrini y otros (1992). Para ello, los desechos de chipirón fueron extraídos con hexano y sometidos a separación por cromatografía líquido-líquido. Se estudió la presencia de distintos tipos de tocoferoles (α , β , γ y δ).

Al objeto de analizar la composición en ácidos grasos (AG) del extracto lipídico total, estos extractos fueron transmetilados mediante la adición de cloruro de acetilo, y posteriormente sometidos a una separación por cromatografía de gas-líquido (Álvarez y otros, 2009). Los picos obtenidos fueron identificados por comparación con patrones comerciales de tipo estándar y la cuantificación se llevó a cabo utilizando el ácido C19:0 como patrón interno. Asimismo, se calcularon los contenidos en ácidos grasos saturados (AGST), monoinsaturados (AGMI), AGPI, AGPI de las series $\omega 3$ (AGPI $\omega 3$) y $\omega 6$ (AGPI $\omega 6$) y las relaciones entre distintos grupos de ácidos como AGPI/AGST y AGPI $\omega 3$ /AGPI $\omega 6$.

Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza de una vía (ANOVA ($p < 0.05$)) al objeto de investigar el efecto de la estación del año.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. 1. Contenido en lípidos

El contenido lipídico estuvo incluido en todos los casos en el intervalo 17-22 g/kg de productos de desecho. Los valores lipídicos encontrados son mayores que los observados en partes comerciales de especies de cefalópodos en general (Piclet, 1987; Sieiro y otros, 2006). La comparación entre tiempos de captura indicó un incremento en valores medios de acuerdo con la siguiente secuencia: verano < otoño < invierno < primavera. Así, las muestras correspondientes a invierno y primavera reflejaron valores superiores ($p < 0.05$) a las correspondientes de verano y otoño.

4. 2. Contenido en clases de lípidos

El grupo de FL resultó ser la más abundante, con valores incluidos en el intervalo 359-464 g/kg lípidos (Figura 1). Se observó una tendencia decreciente en el valor medio desde invierno hasta otoño; así, estas dos estaciones proporcionaron los valores mayores y menores ($p < 0.05$), respectivamente. Los FL han demostrado ser fundamentales por su papel estructural durante el periodo vital de los seres vivos en general, siendo considerados como constituyentes fundamentales de las

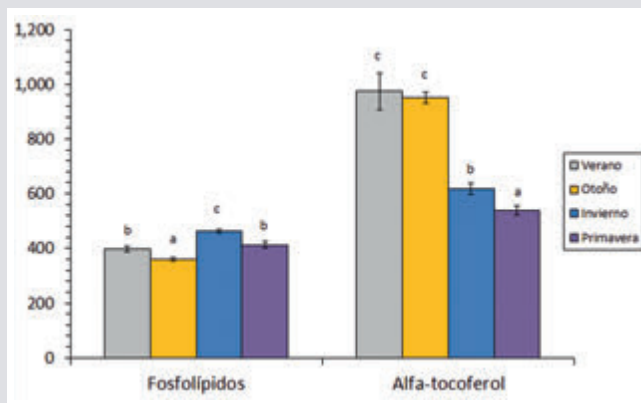


Figura 1: Contenido en fosfolípidos (g/kg lípidos) y α -tocoferol (mg/kg lípidos) en productos de desecho resultantes de la comercialización de chipirón*.

* Valores medios de tres replicados (n = 3) acompañados de distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estaciones.

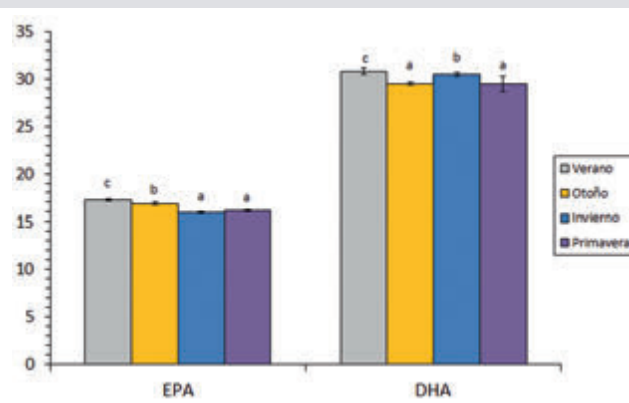


Figura 2: Contenido en los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (g/100 g de ácidos grasos totales) en productos de desecho resultantes de la comercialización de chipirón*.

* Valores medios de tres replicados (n = 3) acompañados de distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estaciones.

membranas celulares. Además, y sobre la base de su carácter anfipático, los FL han atraído una gran atención como posibles sistemas portadores de componentes activos, por su papel como componentes bioactivos y su efecto protector en distintos tipos de enfermedades (Li y otros, 2015). A nivel de composición, es de especial importancia la presencia en contenido alto de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA).

El contenido en ES de las distintas muestras reflejó valores muy parecidos entre las distintas muestras, estando incluidos todos ellos en el rango 115-132 g/kg lípidos. Tomando en cuenta los valores medios, la comparación entre muestras de distintas estaciones reveló un valor decreciente desde verano a primavera. Por tanto, su tendencia resultó ser inversa al contenido en lípidos totales. Esta relación inversa, de acuerdo con estudios previos, ha sido justificada sobre la base de que esta clase lipídica tiene un papel funcional y estructural en los seres vivos en general, al igual que los FL (Piclet, 1987; Barbosa y otros, 2018).

La clase de TG resultó la menos abundante de las clases analizadas. Sus valores oscilaron en el rango 10-13 g/kg lípidos. La comparación entre muestras indicó un incremento en los valores medios desde verano a primavera. Así, los valores encontrados en invierno y primavera fueron superiores a los de verano y otoño. Consiguientemente, se detectó una tendencia similar a la de los lípidos totales. Este resultado concuerda con estudios previos llevados a cabo en fracciones comestibles de especies marinas (Piclet, 1987; Barbosa y otros, 2018).

En comparación con los valores encontrados en fracciones comestibles de cefalópodos y especies marinas en general,

los valores encontrados para los AGL (157-282 g/kg lípidos) pueden considerarse como relativamente altos (Piclet, 1987; Álvarez y otros, 2009). Estos valores altos pueden justificarse por la actividad de enzimas de tipo lipasas o fosfolipasas, de conocida abundancia en las vísceras de especies marinas (Sieiro y otros, 2006; Aubourg y otros, 1999). El contenido en AGL dependería de la acción metabólica in vivo de este tipo de enzimas sobre moléculas lipídicas de mayor peso molecular tales como TG y FL. En el presente estudio, la comparación entre muestras de distintas estaciones reflejó un valor medio creciente desde invierno hasta otoño, siendo ésta una tendencia opuesta a la encontrada para los TG.

El análisis cualitativo de tocoferoles reveló únicamente la presencia de tocoferol, de acuerdo con estudios previos llevados a cabo en especies marinas de posición elevada en la escala evolutiva y alimentada por dietas naturales (Piclet, 1987; Álvarez y otros, 2009; Barbosa y otros, 2018). Los valores de este antioxidante endógeno (vitamina E) se mostraron incluidos en el rango 540-973 mg/kg lípidos (Figura 1). La mayor presencia ($p < 0.05$) se observó en las muestras de verano y otoño, mientras que la menor ($p < 0.05$) fue detectada en los productos de desecho correspondientes a la primavera. Sobre la base de los valores medios, se observó una tendencia decreciente desde verano hasta primavera, una tendencia similar a los ST y opuesta al contenido lipídico total y de TG.

4.3. Composición de ácidos grasos (AG)

El análisis cualitativo de AG resultó muy similar al de las partes comestibles de cefalópodos y especies marinas en general, con una amplia variedad en AGPI, AGMI y AGST

(Piclet, 1987; Sieiro y otros, 2006; Barbosa y otros, 2018). Desde un punto de vista cuantitativo, el ácido más abundante fue el DHA (30-31 g/100 g AG totales; Figura 2), seguido del C16:0 y del EPA (Figura 2). Otros ácidos relevantes por su presencia fueron: C20:1 ω 9, C18:0, C18:1 ω 9, C14:0, C20:4 ω 6 y C18:1 ω 7.

El análisis por grupos de AG reveló que el más abundante era el de AGPI (51-53 g/100 g AG totales). La comparación entre muestras indicó un valor medio creciente desde otoño hasta verano. El grupo de AGST mostró valores incluidos en el rango 32-35 g/100 g AG totales, indicando este grupo una tendencia creciente para los valores medios desde primavera hasta otoño. Finalmente, el grupo de AGMI fue el menos abundante con niveles incluidos en el rango 14-17 g/100 g AG totales, con tendencia creciente de sus valores medios desde verano hasta primavera.

Recientemente se presenta mucha atención al contenido en ácidos de la serie ω 3. Como consecuencia de una gran presencia de los ácidos DHA y EPA (Figura 2), los valores detectados en este estudio para ácidos insaturados de la serie ω 3 estuvieron incluidos en el rango 47-49 g/100 g AG totales. El contenido en este grupo de ácidos insaturados reflejó una tendencia creciente desde otoño hasta verano.

Asimismo, se presenta gran atención en la actualidad a distintas relaciones del contenido en diversos grupos de AG. Una de ellas es la relación AGPI/AGST, de acuerdo con su importante incidencia en el nivel de colesterol en sangre (Simopoulos, 2002). En este estudio, los valores de esta relación estuvieron incluidos en el rango 1.4-1.6. Es de destacar que los valores encontrados para primavera y verano fueron superiores ($p < 0.05$) a los correspondientes de otoño e invierno.

Es sabido que en la mayoría de los países occidentales no se consumen actualmente adecuados niveles de ácidos de la serie ω 3. Por ello, se le otorga una gran atención a la relación ω 3/ ω 6 de los alimentos incluidos en la dieta humana (Uauy y Valenzuela, 2000). Al objeto de prevenir desórdenes inflamatorios, cardiovasculares y neurológicos, la Organización Mundial de la Salud (WHO) recomienda actualmente que la mencionada relación no sea inferior a 1:10 (Kumari y otros, 2013). Asimismo, la Sociedad Nutricional Europea indica que un valor para esta relación de 1:5 o superior debe llevar a importantes beneficios para la salud (Simopoulos, 2002). En el estudio presente, los valores obtenidos se incluyeron en todos los casos en el rango 12-13, similar al obtenido en tejidos comestibles de especies marinas tales como besugo (*Pagellus bogaraveo*) y gallo (*Lepidorhombus whiffiagonis*) (Álvarez y otros, 2009; Barbosa y otros, 2018). Por tanto, estos valores pueden considerarse como altamente positivos para el consumo humano.

5. CONCLUSIONES

Este estudio proporciona una primera aproximación a la composición lipídica de los productos de desecho de chipirón como fuente válida de constituyentes lipídicos saludables para la dieta humana. Ha sido de destacar el alto contenido encontrado para la fracción de FL, para moléculas como α -tocoferol, DHA y EPA, y para ácidos grasos insaturados de la serie ω 3. Además, se observaron valores altamente saludables para relaciones entre distintos grupos de ácidos grasos tales como AGPI/AGST y ω 3/ ω 6.

El estudio estacional reflejó diferencias sustanciales entre las distintas épocas de captura a nivel del contenido de estos constituyentes. Sin embargo, los valores encontrados en las muestras estudiadas indicaron en todos los casos (en las distintas estaciones) que estos desechos pueden considerarse como fuentes apropiadas de constituyentes lipídicos altamente nutritivos y saludables para la dieta humana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez, V., Medina, I., Prego, R., and Aubourg, S. P. (2009). Lipid and mineral distribution in different zones of farmed and wild blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 957-966.
2. Arvanitoyannis, I. S., and Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 726-745.
3. Atef, M., and Ojagh, M. (2017). Health benefits and food applications of bioactive compounds from fish byproducts: A review. *Journal of Functional Foods*, 35, 673-681.
4. Aubourg, S. P., Rey-Mansilla, M., and Sotelo, C. G. (1999). Differential lipid damage in various muscle zones of frozen hake (*Merluccius merluccius*). *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 208, 189-193.
5. Barbosa, R. G.; Trigo, M.; Prego, R.; Fett, R., and Aubourg, S. P. (2018). The chemical composition of different edible locations (central and edge muscles) of flat fish (*Lepidorhombus whiffiagonis*). *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 271-281.
6. Blanco, M.; Sotelo, C. G.; Chapela, M^a. J., and Pérez-Martín, R. I. (2007). Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 29-36.
7. Bligh, E., and Dyer, W. (1959). A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
8. Cabrini, L.; Landi, L.; Stefanelli, C.; Barzanti, V., and Sechi, A. (1992). Extraction of lipid and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comparative Biochemistry and Physiology. Biochemistry and Molecular Biology*, 101, 383-386.
9. Ezquerra-Brauer, J. M., and Aubourg, S. P. (2019). Recent trends for the employment of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by-products as a source of bioactive compounds with nutritional, functional and preservative applications: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 987-998.
10. FAO. *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Rome, Italy. 2018; pp. 1-110.
11. FAO. Food and Agricultural Organisation of the United Nations. Fishery Division. Species Fact Sheets. *Loligo gahi* (Orbigny, 1835). 2021. www.fao.org/fishery/species/2713/en.
12. Huang, T.; Chen, C.; Wefler, V., and Raftery, A. (1961). A stable reagent for the Liebermann-Buchardt reaction. *Analytical Chemistry*, 33, 1405-1407.
13. Kumari, P.; Kumar, M.; Reddy, C. R., and Jha, B. (2013). Algal lipids, fatty acids and sterols. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Editora: H. Domínguez. Woodhead Publishing: Cambridge, UK, pp. 87-134.
14. Li, J.; Wang, X.; Zhang, T.; Huang, Z.; Luo, X., and Deng, Y. (2015). A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 81-98.
15. Lowry, R. and Tinsley, I. (1976). Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53, 470-472.
16. Minihane, A.; Armah, C.; Miles, E.; Madden, J.; Clark, A.; Caslake, M., and Calder P. (2016). Consumption of fish oil providing amounts of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid that can be obtained from the diet reduces blood pressure in adults with systolic hypertension: A retrospective analysis. *Journal of Nutrition*, 146, 516-523.
17. Piclet, G. (1987). Le poisson aliment. Composition-Intérêt nutritionnel. *Cahiers de Nutrition et Diététique*, XXII, 317-335.
18. Raheja, R.; Kaur, C.; Singh, A., and Bhatia, A. (1973). New colorimetric method for the quantitative determination of phospholipids without acid digestion. *Journal of Lipid Research*, 14, 695-697.
19. Rustad, T.; Storro, I., and Slizyte, R. (2011). Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 2001-2014.
20. Schunck, W.; Konkel, A.; Fischer, R., and Weylandt, K. (2018). Therapeutic potential of omega-3 fatty acid-derived epoxy eicosanoids in cardiovascular and inflammatory diseases. *Pharmacology and Therapeutics*, 183, 177-204.
21. Shahidi, F. (2006). *Maximising the Value of Marine By-Products*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 532 pp.
22. Sieiro, M. P.; Aubourg, S. P., and Rocha, F. (2006). Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 479-487.
23. Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56, 365-379.
24. Tilami, S. K., and Sampels, S. (2018). Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals. *Reviews in Fisheries Science*, 26, 242-253.
25. Torrinha, A.; Gomes, F.; Oliveira, M.; Cruz, R.; Mendes, E.; Delerue-Matis, C.; Casal, S., and Morais, S. (2014). Commercial squids: Characterization, assessment of potential health benefits/risks and discrimination based on mineral, lipid and vitamin E concentrations. *Food Chemistry and Toxicology*, 67, 44-56.
26. Uauy, R., and Valenzuela, A. (2000). Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition*, 16, 680-684.
27. Vioque, E., and Holman, R. (1962). Quantitative estimation of esters by thin-layer chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 39, 63-66.