

- 36) GONZÁLEZ, J.; CARRAL, J.M.; CELADA, J.D.; SÁEZ-ROYUELA, M.; GAUDIOSO, V.R.; FERNÁNDEZ, R.; LÓLEZ-BAISSON, C. (1993). Management of crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana) for intensification of juvenile production. *Freshwater Crayfish*, 9: 144-146.
- 37) PAZ, P.; GAUDIOSO, V.R. (1980). Ensayo de algunos agentes anestésicos en *Austropotamobius pallipes* Lereboullet. *Pan. Vet.*, 9: 341-351.
- 38) REYNOLDS, J.D.; CELADA, J.D.; CARRAL, J.M.; MATTHEWS, M.A. (1992). Reproduction of astacid crayfish in captivity - current developments and implication for culture, with special reference to Ireland and Spain. *Invert. Reprod. Dev.*, 22 (1-3): 253-266.
- 39) SÁEZ-ROYUELA, M. (1994). *Supervivencia y crecimiento de juveniles de los astácidos Austropotamobius pallipes Lereboullet y Pacifastacus leniusculus Dana a partir del estado 2 en condiciones de laboratorio*. Tesis Doctoral, Universidad de León, 322 pp.
- 40) SÁEZ-ROYUELA, M.; CARRAL, J.M.; CELADA, J.D.; MUÑOZ, C. (1995). Effects of management on survival and growth of stage 2 juvenile freshwater signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana) under laboratory conditions. *Aquaculture*, 133: 123-133.
- 41) SÁEZ-ROYUELA, M.; CARRAL, J.M.; CELADA, J.D.; MUÑOZ, C.; PEREZ, J.R. (1995). Modified photoperiod and light intensity influence on survival and growth of stage 2 juvenile *Pacifastacus leniusculus*. *J. Appl. Aquacult.* (en prensa).
- 42) TEMIÑO, C.; FERNÁNDEZ, R.; CELADA, J.D.; GAUDIOSO, V.R. (1984). Nutritional studies on second stage *Pacifastacus leniusculus* Dana. *Freshwater Crayfish* 6, Lund, Sweden.
- 43) TEMIÑO, C.; CELADA, J.D.; CARRAL, J.M.; FERNÁNDEZ, R. (1986). Estudio de las poblaciones astacícolas en los ríos de la provincia de Burgos. Perspectivas. *Jornadas de Estudio del cangrejo de Río*. Gobierno Vasco, Vitoria, pp 87-109.

CAMBIOS EN EL CONTENIDO EN MACRONUTRIENTES Y EN LA COMPOSICIÓN EN AMINOÁCIDOS DE SARDINA FRESCA Y SARDINA DESCONGELADA POR REFRIGERACIÓN O EN HORNO MICROONDAS.

(CHANGES IN MACRONUTRIENT CONTENT AND AMINO ACID COMPOSITION OF FRESH SARDINE AND SARDINE AFTER DEFROSTING IN A FRIDGE OR USING A MICROWAVE OVEN).

A. M. Castrillón*
M. E. Álvarez Pontes*
M. T. García-Arias**
M. C. García Fernández**

Palabras clave: sardina, aminoácidos, descongelación, microondas.
Key words: sardine, amino acids, defrosting, microwave

SUMMARY

Sardines (*Clupea pilchardus*) were frozen, stored in frozen state and then defrosted by the two most common defrosting processes: a conventional method (refrigeration) or using a microwave oven. Before freezing and after defrosting, humidity, fat, protein and ash content as well as amino acid composition were analyzed in order to compare the influence of both processes. Sardines defrosted with microwave oven maintained a similar protein content level than fresh sardine, whereas the protein content of the conventional defrosted sardine decreased. The ash content

* Instituto de Nutrición y Bromatología (CSIC). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense.

** Dpto de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

An. Fac. Vet. 1992-1994, 38, 71-77

decreased in both cases and the fat percentage increased in the traditional defrosted sardine. After both defrosting processes, losses of cystine, histidine and lysine were found. The content of the rest of the amino acids investigated decreased after the conventional defrosting and remained at the same levels after microwave defrosting.

RESUMEN

Sardina (*Clupea pilchardus*) se sometió a congelación, almacenamiento en estado congelado y posterior descongelación mediante dos procesos diferentes: convencional (refrigeración) o en microondas. En sardina fresca y descongelada, se analizó el contenido en humedad, grasa, proteína y cenizas y la composición en aminoácidos de la proteína, con objeto de comparar la influencia de las dos formas de descongelación más habituales. La sardina descongelada en microondas mantuvo su contenido en proteína al mismo nivel que la sardina fresca, mientras que en la descongelada en frigorífico este nivel descendió. El contenido en cenizas disminuyó en ambos casos y el porcentaje de grasa fue mayor en la sardina descongelada en frigorífico. Respecto al contenido en aminoácidos se destaca una pérdida de cistina, histidina y lisina, tras la descongelación en ambos modos, detectándose también pérdidas en prácticamente el resto de aminoácidos durante la descongelación convencional, que se retuvieron sin embargo tras la descongelación en microondas.

INTRODUCCIÓN

El horno microondas se ha introducido rápidamente en los hogares debido a la rapidez y limpieza que supone este proceso. Actualmente una práctica habitual es la compra espaciada de productos congelados y su posterior conservación en el congelador doméstico con el objeto de poder cocinarlos cuando se necesiten. El microondas es en estos casos un elemento auxiliar inestimable ya que permite descongelar un producto en un tiempo muy corto y dejarlo listo para cocinar.

Algunos autores^{4,10} se han ocupado de estudiar la influencia que tiene el almacenamiento en congelación sobre la proteína de sardina y los cambios en la composición en ácidos grasos por congelación y descongelación¹. Sin embargo, no se han hecho estudios que analicen la influencia que el proceso de descongelación pueda tener sobre la proteína del alimento. Y si tenemos en cuenta por una parte, la importancia actual que desde el punto de vista nutritivo y sanitario tiene el consumo de pescado azul en base, preferentemente, al papel beneficioso de su grasa en relación con las enfermedades cardiovasculares^{11,12}, y por otra parte que es uno de los productos más perecederos; nos pareció interesante abordar este estudio en un pescado graso, sardina, cuya proteína con una composición en aminoácidos similar a la de otros alimentos como leche o carne es además de alta calidad.

El objeto del presente estudio será por tanto comparar el efecto de la descongelación por un método tradicional (refrigeración) o en microondas sobre el contenido en macronutrientes y la composición en aminoácidos de la sardina. Los resultados se

expresarán siempre respecto a 100 g de alimento, y no en sustancia seca, ya que, cuando se recomienda en una dieta el consumo de pescado, se refiere siempre a gramos de alimento.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de la muestra. Se utilizó sardina (*Clupea pilchardus*), pescado de alto contenido en grasa. Se adquirió en un mercado minorista de Madrid donde se aseguraba que el espacio de tiempo entre su captura y la llegada al laboratorio, no era superior a 24 horas. El peso medio de las sardinas fue de $91,36 \pm 11,68$ g y el tamaño estaba comprendido entre 21 y 23 cm de largo.

Para la preparación de la muestra, las sardinas se descabezaron, evisceraron, separándose espinas, escamas y cola y abriéndose en abanico. Se lavaron en agua fría para eliminar cualquier sustancia que pudieran llevar adherida y se escurrieron sobre papel de filtro, presionando suavemente con la mano para eliminar en lo posible el agua sobrante. Cada sardina se separó entonces en dos partes formándose aleatoriamente dos lotes iniciales que contenían cada uno la mitad de cada sardina con el objeto de obtener muestras lo más homogéneas posible. De estos dos lotes se separó una parte de cada uno que, mezclada, se utilizó como muestra de referencia: sardina fresca que se analizó inmediatamente. El resto se congeló por separado, con objeto de descongelarlo, en su momento, en frigorífico o en microondas respectivamente, y se almacenó en congelación a -20°C durante cuatro meses, al cabo de los cuales se procedió a descongelar y analizar.

La descongelación convencional se realizó en frigorífico a una temperatura aproximada de 4°C durante unas 12 horas, dejándolo después a temperatura ambiente 3 horas más, para que la temperatura final alcanzada no fuera muy diferente de la que se conseguía en la descongelación en microondas. La descongelación en microondas se realizó en un horno microondas modelo GLODSTAR ER 4350E con una frecuencia en DEFROSTING (40% de la potencia total del horno). El tiempo de este proceso fue de 5 minutos.

Análisis de las muestras

Contenido en macronutrientes

Humedad.- Se determinó por el método de la A.O.A.C.², secando la muestra en estufa a 105°C hasta peso constante.

Proteína.- Se determinó mediante análisis de nitrógeno, método Kjeldal, en un analizador Kjeltex modelo AUTO 1030 (Tecator, Suecia). Para el paso a proteína se utilizó el factor de conversión 6,25 (A.O.A.C.)².

Grasa.- Se determinó mediante la cuantificación del extracto etéreo por el método Soxhlet. La unidad de extracción fue un Soxhlet U-6 (Kjlab, Suecia). Como disolvente se utilizó éter de petróleo ($40-60^{\circ}\text{C}$).

Cenizas.- El contenido en cenizas totales se obtuvo mediante incineración de la muestra a 450-500°C, en horno mufla hasta peso constante (A.O.A.C.)²

Composición en aminoácidos

El análisis de aminoácidos se llevó a cabo en un autoanalizador Beckman, sistem 6300, con columna de sodio de 25 cm.

La muestra se hidrolizó previamente con CIH 6N para todos los aminoácidos estables en este tipo de hidrólisis. Los aminoácidos azufrados se hidrolizaron después de su oxidación con ácido perbórmico.

Antes de su hidrólisis, la sardina se liofilizó y desengrasó con eter frío.

Como estándar de calibración se utilizó el STD de Beckman al que se añadió metioninsulfona y ácido cisteico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido en macronutrientes: La sardina fresca utilizada en este estudio tenía un contenido en nutrientes similar al encontrado por otros autores para este mismo pescado^{3,5,9,14}

El contenido en proteína y cenizas disminuyó respecto a la muestra fresca tras la descongelación convencional de la sardina, lo que hizo que porcentualmente el contenido en grasa aumentara significativamente en este caso (Tabla 1). La causa de estos descensos no puede tener otra explicación que la dilución en el exudado. Sin embargo, en la descongelación en microondas donde el exudado fué menor, no se

TABLA 1

Contenido en macronutrientes de sardina fresca y sardina descongelada en frigorífico o en microondas (g/ 100g de alimento)

	S. fresca	S. descongelada en frigorífico	S. descongelada en microondas
Proteína	20,67±0,62a	18,18±0,37b	19,43±0,29a
Grasa	15,44±0,12c	18,01±0,06a	16,25±0,09b
Cenizas	3,26±0,08a	2,55±0,08b	2,31±0,09c
Humedad	61,32±0,28	61,55±0,19	62,30±0,32

Valores medios de 4 determinaciones ± desviación estandar

Diferentes letras en cada línea indican diferencias significativas entre medias

(p<0,05).

perdió proteína y el descenso en cenizas fué mayor, que en la descongelación convencional. Este resultado hace sospechar que la proteína de sardina sufrió, por efecto de la energía del microondas, algún tipo de cambio estructural que la hizo menos soluble. Porcentualmente, el contenido en grasa también aumentó en este pescado tras la descongelación en microondas respecto a la muestra fresca, aunque este aumento fue menor que el obtenido tras la descongelación en frigorífico. En resumen, la sardina descongelada en microondas resultó algo más rica en proteína que la descongelada en frigorífico y con menor contenido en grasa y cenizas.

A la vista de estos resultados, parece que el contenido proteico se mantiene mejor con la descongelación en microondas que por el método tradicional. Sin embargo, lo importante en cuanto a este nutriente se refiere no es tanto la cantidad que se mantiene en el proceso como si pierde o no calidad nutritiva. Para aclarar este extremo, recurrimos a analizar su composición en aminoácidos.

Composición en aminoácidos:

La composición en aminoácidos de los filetes de sardina fresca, utilizados en este estudio, fué similar a la encontrada por otros autores^{6,7,8,13} para pescado: Iwasaki y Harada⁷ en sardina, arenque y salmón; Seat y Brown¹³ y García Arias⁶ en atún y Maruf y col.⁸ en caballa. Los aminoácidos mayoritarios encontrados fueron aspártico, glutámico, alanina, leucina y lisina y los minoritarios metionina, cistina y tirosina (Tabla 2).

Con el almacenamiento al estado congelado y la posterior descongelación, el aminoácido más afectado fué la cistina/cisteína, que sufrió pérdidas de un 24% tanto en descongelación convencional como en microondas. La pérdida de metionina fué mayor en descongelación convencional 19.2% que en microondas, donde se observó una tendencia al descenso con respecto a sardina fresca que no llegó a ser significativa. Histidina y lisina también descendieron significativamente en ambos procesos. Los demás aminoácidos se mantuvieron sin cambios de concentración en la sardina descongelada en microondas, pero descendieron practicamente todos en la descongelación convencional.

Hay dos comentarios que hacer a estos resultados. De una parte, la imposibilidad de saber por separado los efectos de la congelación y descongelación, por la necesidad de descongelar el pescado para su análisis. De otra que estos datos sirven para saber la cantidad de cada aminoácido, que corresponde a un peso concreto de sardina. Sin embargo, los cambios en composición en macronutrientes, por los cuáles la sardina descongelada en frigorífico contiene menor porcentaje de proteína que la descongelada en microondas, podrían ocultar parte del daño producido en la proteína de la sardina descongelada en microondas.

Datos aún no publicados, obtenidos en nuestro laboratorio parecen demostrar que, aunque las pérdidas en aminoácidos tras la descongelación por microondas son algo mayores cuando los datos se expresan en proteína en vez de en alimento, sin embargo siguen siendo menores que los obtenidos en la sardina descongelada por refrigeración.

TABLA 2

Composición en aminoácidos de sardina fresca y sardina descongelada en frigorífico o en microondas (g/100 g alimento)

AMINOACIDO	FRESCA	D.Conv.	D.Micro.	ANOVA
Aspártico	1,83±0,01a	1,68±0,02b	1,86±0,00a	p<0,001
Treonina	0,94±0,00a	0,88±0,01b	0,95±0,01a	p<0,001
Serina	0,96±0,01	0,94±0,03	0,97±0,00	ns
Glutámico	2,34±0,01a	2,19±0,08b	2,37±0,02a	p<0,001
Prolina	1,70±0,00b	1,61±0,09b	1,88±0,01a	p<0,001
Glicina	1,61±0,02b	1,66±0,07b	1,77±0,00a	p<0,01
Alanina	1,64±0,02b	1,56±0,02c	1,69±0,01a	p<0,001
Cistina	0,25±0,01a	0,19±0,01b	0,20±0,00b	p<0,001
Valina	1,04±0,01a	1,00±0,01b	1,06±0,01a	p<0,001
Metionina	0,52±0,02a	0,42±0,03b	0,49±0,03a	p<0,001
Isoleucina	0,82±0,01a	0,78±0,01b	0,82±0,01a	p<0,001
Leucina	1,51±0,01a	1,35±0,02b	1,48±0,01a	p<0,001
Tirosina	0,45±0,01a	0,39±0,21b	0,45±0,00a	p<0,001
Fenilalanina	0,62±0,01a	0,57±0,01b	0,61±0,00a	p<0,001
Histidina	0,78±0,02a	0,66±0,01c	0,72±0,01b	p<0,001
Lisina	1,50±0,02a	1,35±0,10c	1,48±0,01b	p<0,001
Arginina	0,85±0,00a	0,79±0,02b	0,86±0,00a	p<0,001

Valores medios ± desviación estándar. En cada fila, diferencias significativas entre medias se indican con letras distintas.

A la vista de estos resultados, se puede deducir que la congelación y posterior descongelación de la sardina daña a su proteína, aunque no de una manera drástica, y entre las dos formas de descongelación estudiadas, parece resultar más idónea la descongelación en microondas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (Proyecto AII-88-0255) la financiación de este trabajo. Gracias al Instituto del Frío por la ayuda en los procesos de congelación y a Isabel Orvay por la confección del original.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) ÁLVAREZ PONTES, M.E.; VIEJO, J.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Y CASTRILLÓN, A.M. (1994). Fritura en aceite de oliva de filetes de sardina congelada. Influencia de diferentes métodos de descongelación sobre el contenido graso y la composición en ácidos grasos. *Grasas y Aceites*, **45** (3), 119-125.
- 2) A.O.A.C (1975). Official Methods of Analysis. 12ª ed. Washington: AOAC, 15-17.
- 3) BEAMONTE, A. y CASTRILLÓN, A.M. (1989). Variaciones en el contenido de triptófano en sardina, originadas por los procesos térmicos culinarios. Papel de la grasa. *Grasas y Aceites*, **40** (3), 194-198.
- 4) CASTRILLÓN, A.M.; NAVARRO, M.P. y VARELA, G. (1987). Efficacité protéique pour la corissance de la proteine de pates de sardines maintenues en congelation avec ou sans additifs. *Medicine et Nutrition*, **23**, (1), 32-36.
- 5) GALL, K.L., OTWELL, W.S., KOBURGER, M. y APPELDORF, F. (1983). Effects of four cooking methods on the proximate, mineral and fatty acid composition of fish fillets. *J. Food Sci.*, **48**, 1068-1074.
- 6) GARCÍA ARIAS, M.T. (1989). *Influencia del modo de cocción y tiempo de esterilización y almacenamiento en el valor nutritivo de conservas de atún blanco*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- 7) IWASAKI, M. y HARADA, R. (1985). Proximate and aminoacid composition of the ore and muscle of selected marine species. *J. Food Sci.*, **50**, 1585-1587.
- 8) MARUF, F.W., LEDWARD, D.A., NEALE, R.J. y PONETER, R.G. (1990). Chemical and nutritional quality of Indonesian dried-salted mackerel (Rastrelliger Kanagurta). *Int. J. Food Sci. Tech.*, **25**, 66-67.
- 9) MOREIRAS, O., CARBAJAL, A. y CABRERA, M.L. (1992). *La composición de los alimentos*. EUDEMA (Edición de la Universidad Complutense, S.A.). Madrid.
- 10) NAVARRO, M.P., CASTRILLÓN, A.M. y VARELA, G. (1987). Effect of frozen storage on protein quality of sardines. *Int. J. Food Science and Technology*, **27**, 77-80.
- 11) SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (1987). Prevención con dieta para una vida longeva. Relevancia del consumo de pescado. *Rev. Clin. Esp.*, **180**, 43-47.
- 12) SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., HIGON, E., CAVA, F. y VIEJO, J.M. (1991a). Acceptability of diets containing olive oil fried sardines (sardina pilchardus) in the prevention of dietary hypercholesterolemia in rats. *J. Sci. Food Agric.*, **56**, 115-165.
- 13) SEET, S.T. y DUANE BROWN, W. (1993). Nutritional quality of raw, precooked and canned Albacora tuna (Thunnus alalunga). *J. Food Science*, **48**, 288-289.
- 14) WATERS, M.E. (1988). Chemical composition and frozen storage stability of weak fish. *Mar. Fish Rev.*, **50**, (2), 27-33.