

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

Efecto del pH en el agua de lavado y de la presencia de un agente reductor en la aptitud gelificante y capacidad de retención de agua del músculo de pescado congelado (*Tilapia nilotica*)  
Aplicación de geles de surimi

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

GERARDO LOPEZ ECHEVARRIA

No Adq H53 911

No. Título \_\_\_\_\_

Clas. 664. 94

2 86 41 c

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

"Solo aquel que sueña despierto, y se hace acompañar del que todo lo puede, logra ver realizados sus sueños; porque no deja que el tiempo los apage".

# INDICE GENERAL

Página

<b>INDICE DE FIGURAS...</b>	<b>i</b>
<b>INDICE DE CUADROS..</b>	<b>ii</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISION DE LITERATURA.</b>	<b>4</b>
<b>2.1. ORGANIZACION ESTRUCTURAL DE LAS PROTEINAS</b>	<b>4</b>
2.1.1. Estructura primaria.	6
2.1.2. Estructura secundaria.	7
2.1.3. Estructura terciaria.	7
2.1.4. Estructura cuaternaria.	9
<b>2.2. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEINAS.</b>	<b>9</b>
2.2.1. Proteínas contráctiles.	11
2.2.1.1. Miosina, Actina, Actomiosina.	14
2.2.2. Componentes solubles de la célula muscular.	16
2.2.3. Mecanismo de contracción del músculo esquelético.	17
2.2.4. Relajación.	17
2.2.5. Efecto de los cambios <i>posmortem</i> sobre la calidad de la carne	19
2.2.6. Solubilidad..	20
2.2.7. Aptitud gelificante..	23
2.2.7.1. Tratamientos térmicos para la obtención de geles de pescado.	25
a) Suwari..	26
b) Modori.	27
c) Kamaboko.	29
2.2.7.2. Desnaturalización térmica.	34
2.2.7.3. Agregación ordenada.	34
2.2.8. Capacidad de retención de agua.	38

	Página
<b>3. HIPOTESIS.</b> . . . . .	40
<b>4. OBJETIVOS..</b> . . . . .	40
4.1. Objetivos generales.. . . . .	40
4.2. Objetivos específicos. . . . .	41
<b>5. METAS.</b> . . . . .	41
<b>6. MATERIAL Y METODOS.</b> . . . . .	42
<b>6.1. MATERIALES.</b> . . . . .	42
6.1.1. Materia prima . . . . .	42
<b>6.2. METODOS.</b> . . . . .	42
6.2.1. Obtención de la pasta de surimi. . . . .	42
6.2.2. Medición del pH de la pasta de surimi. . . . .	44
6.2.3. Determinación de humedad. . . . .	44
6.2.4. Determinación de color de la pasta de surimi . . . . .	44
6.2.5. Solubilidad de la pasta de surimi. . . . .	45
6.2.6. Determinación del contenido de proteína de soluciones de surimi por el método de Lowry. . . . .	45
6.2.7. Estudio del patrón electroforético de las pastas de surimi. . . . .	46
6.2.8. Análisis calorimétrico de las pastas de surimi. . . . .	47
6.2.9. Obtención del gel de surimi a través del tratamiento térmico. . . . .	47
6.2.10. Análisis del perfil de textura (APT).. . . . .	48
6.2.11. Capacidad de retención de agua de los geles de surimi (CRA). . . . .	49
<b>7. DISEÑO EXPERIMENTAL.</b> . . . . .	50
7.1. Primera etapa. Selección del tratamiento térmico de la pasta de surimi.. . . . .	50
7.2. Segunda etapa. Selección del método de lavado en la obtención de la pasta de surimi	50

7.3. Tercera etapa. Efecto del pH del agua de lavado y de la presencia de un agente reductor en la aptitud gelificante y capacidad de retención de agua (CRA) del gel de surimi a partir de músculo de pescado fresco y congelado . . . . .	51
7.4. ANALISIS ESTADISTICO. . . . .	52
<b>8. RESULTADOS . . . . .</b>	<b>53</b>
8.1. Selección del tratamiento térmico de la pasta de surimi. . . . .	53
8.2. Selección del método de lavado. . . . .	54
8.2.1. Efecto sobre los atributos de color. . . . .	57
8.2.2. Solubilidad del extracto proteico. . . . .	60
8.2.3. Electroforesis. . . . .	62
8.2.4. Calorimetría diferencial de barrido. . . . .	67
8.2.5. Análisis del perfil de textura . . . . .	71
8.2.6. Capacidad de retención de agua de los geles de surimi. . . . .	72
8.3. Efecto del pH del agua de lavado y de la presencia de un agente reductor en la aptitud gelificante y CRA del gel de surimi obtenido a partir de pescado fresco y congelado. . . . .	73
8.3.1. Solubilidad de las pastas de surimi. . . . .	74
8.3.2. Análisis del perfil de textura. . . . .	74
8.3.3. Capacidad de retención de agua de los geles de surimi. . . . .	79
8.3.4. Electroforesis. . . . .	82
8.4. Discusiones. . . . .	82
<b>9. CONCLUSIONES. . . . .</b>	<b>85</b>
<b>10. BIBLIOGRAFIA. . . . .</b>	<b>88</b>

## INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.	Representación esquemática de la disolución de las proteínas miofibrilares en una solución salina (Niwa, 1985).. . . . . 3
Figura 2.	Efecto de la congelación y almacenamiento en el deterioro de la fuerza de gel en abadejo de Alaska (Noguchi, 1970).. . . . . 4
Figura 3.	Cambio de solubilidad de actomiosina de carpa que presenta con varios solventes, almacenada a -20 °C (Tsuchiya et al.,1980).. . . . . 5
Figura 4.	Estructura primaria de una cadena polipeptídica (Fennema, 1982).. . . . . 7
Figura 5.	Estructura de hélice alfa y beta de las proteínas (Fennema, 1982).. . . . . 8
Figura 6.	Enlaces que estabilizan las estructuras secundaria y terciaria de las proteínas (Badui, 1994).. . . . . 8
Figura 7.	Sección transversal del músculo, que muestra la distribución del tejido conjuntivo en epimisio, perimisio y endomisio y su relación con las fibras musculares y los haces de fibras. (Fennema, 1982)... . . . . 13
Figura 8.	Corte de una fibra muscular, que muestra la membrana externa y sus invaginaciones (Sistema T que se cruzan horizontalmente y se reúnen con dos sacos terminales del retículo sarcoplasmático longitudinal en la triada). También se indican las estrías cruzadas repetidas (Fennema, 1982).. . . . . 13
Figura 9.	Representación esquemática de una molécula de miosina, mostrando su cabeza globular y tallo alargado así como los puntos de fragmentación enzimática (Anglemier y Montgomery, 1976)... . . . . 15
Figura 10.	Representación esquemática de las etapas de contracción de un sarcómero, con indicación de los filamentos gruesos y delgados unidos a la línea Z (Fennema, 1982).. . . . . 18

Figura 11.	Termogramas (por calorimetría diferencial de barrido), de surimi de roncador del Atlántico, mostrando el efecto del almacenamiento en refrigeración a 4 °C. Sin la adición de sal y adicionando el 3 % de sal (Wu et al., 1985a).. . . . .	23
Figura 12.	Diagramas de fuerza de tensión, de geles de roncador blanco (Makinodan et al., 1985).. . . . .	30
Figura 13.	Estudio electroforético en gel de poliacrilamida-SDS (7 % y 10%) de geles de roncador blanco (Makinodan et al., 1985)... . . . .	30
Figura 14.	Micrografías de la superficie de tres muestras de gel de surimi de abadejo de Alaska preparados con diferentes tratamientos térmicos (Montejano et al., 1984).. . . . .	33
Figura 15.	Ilustración esquemática de la desnaturalización de una molécula proteínica (Hultin, 1986).. . . . .	35
Figura 16.	Cambios fisicoquímicos en geles de actomiosina, incubados a 30 y 40 °C durante 90 minutos (Lanier et al., 1982).. . . . .	37
Figura 17.	Etapas implicadas en la gelificación térmica (Adaptado de Anglemier y Montgomery, 1976; Suzuki, 1981; Niwa, 1985).. . . . .	39
Figura 18.	Diagrama del proceso de Elaboración de surimi.. . . .	43
Figura 19.	Curva típica del Análisis del Perfil de Textura (Szczesniack, 1962)... . . . .	49
Figura 20.	Efecto del % de compresión sobre el análisis de perfil de textura de geles de surimi a partir de pescado fresco ( <i>T. nilotica</i> ).. . . .	55
Figura 21.	Efecto del tratamiento térmico en las propiedades texturales del gel de surimi a partir de pescado fresco ( <i>T. nilotica</i> ).. . . .	56
Figura 22.	Efecto del pH del agua de lavado sobre el brillo y el color rojo de pastas de surimi obtenidas a partir del músculo de pescado fresco y congelado ( <i>T. nilotica</i> ) . . . . .	58
Figura 23.	Efecto del pH del agua de lavado en la solubilidad de la proteína miofibrilar de <i>T. nilotica</i> a partir de pescado fresco y congelado . . . . .	61

Figura 24 A. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7 % de pastas de surimi a partir de los diferentes tratamientos de lavado empleando pescado fresco y solubilizadas en agua.. . . . .	63
Figura 24 B. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7 % de pastas de surimi a partir de los diferentes tratamientos de lavado empleando pescado fresco y solubilizadas en Tris-HCl.. . . . .	64
Figura 24 C. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7 % de pastas de surimi a partir de diferentes tratamientos de lavado empleando pescado congelado y solubilizadas en Tris-HCl.. . . . .	65
Figura 25 A. Calorimetría diferencial de pastas de surimi elaboradas por diferentes tratamientos de lavado empleando pescado fresco.. . . . .	69
Figura 25 B. Calorimetría diferencial de pastas de surimi elaboradas por diferentes tratamientos de lavado empleando pescado congelado.. . . . .	69
Figura 26. Efecto del pH del agua de lavado sobre las propiedades texturales de geles de surimi fabricados a partir de pescado fresco ( <i>T. nilotica</i> ).. . . . .	72
Figura 27. Efecto del pH del agua de lavado sobre la capacidad de retención de agua de geles de surimi, elaborados a partir de pescado fresco ( <i>T. nilotica</i> ).. . . . .	73
Figura 28. Cambios en la solubilidad de pastas de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado a partir de pescado fresco y congelado.. . . . .	75
Figura 29 A. Cambios en la dureza y cohesividad para geles de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado, a partir de pescado fresco y congelado... . . . .	76
Figura 29 B. Cambios en la módulo inicial y resortividad de geles de surimi continuación de la gráfica anterior.. . . . .	77
Figura 29 C. Cambios en la gomosidad y masticabilidad de geles de surimi continuación de la gráfica anterior.. . . . .	78

Figura 30. Cambios en la capacidad de retención de agua de geles de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado para músculo de pescado fresco y congelado.. . . . . 80

Figura 31. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7% de pastas de surimi, a partir de dos tratamientos de lavado con y sin eritorbato de sodio (0.2 % m/v) respectivamente, empleando pescado fresco y congelado... . . . . . 83

## INDICE DE CUADROS

### Cuadro

	Página
1. Correlación entre el por ciento de compresión y los parámetros del APT.. . . . .	56
2. Análisis estadístico de las temperaturas de transición para surimi.. . . . .	70

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El potencial pesquero con el que cuenta nuestro país es muy amplio, tanto en sus costas territoriales como en sus mantos de agua dulce. El consumo y producción de pescado, en particular de especies de agua dulce, como son: mojarra tilapia y carpa, ha aumentado considerablemente. De ambas especies, la mojarra presenta mejores características en cuanto a velocidad de reproducción y adaptación a los diferentes climas de nuestro país.

Sin embargo, aunque existe un aumento en el consumo y producción, éste es considerablemente bajo, tanto como producto en fresco como del industrializado. Dentro de las causas que influyen esta situación, se encuentra la vida de anaquel que presentan estos animales, los cuáles, deben ser conservados en hielo si se desea preservar sus atributos texturales y propiedades funcionales

Una alternativa viable para incrementar en México el consumo humano directo de pescado, estimado en 8.55 Kg. *per capita* en 1989 (SEPESCA, 1991), es la introducción de la tecnología japonesa de elaboración de "surimi", la cuál, abre para México la posibilidad de aprovechar al máximo el potencial pesquero con el que éste cuenta, ya que permite utilizar especies de bajo valor comercial, a condición de que presenten buena aptitud gelificante y buena vida de almacenamiento.

El término japonés surimi, significa literalmente "carne desmenuzada", Es un concentrado de proteína miofibrilar de carne de pescado, obtenido de la eliminación de la fracción hidrosoluble muscular, a través de lavados con agua fría, y que es adicionado con crioprotectores para permitirle una buena vida de almacenamiento, en congelación (Ramírez, 1995).

En el Estado de Querétaro, la oferta de pescado de agua dulce es pequeña (40 % del total consumido), en especial la tilapia, el bagre y la carpa ya que son los pescados que más consume y conoce la gente, además de que está acostumbrada a consumir con mayor frecuencia el pescado de agua salada. Por tanto, la oferta de distribuidores y vendedores es mayor para productos de agua salada (60 % del total consumido). Este hecho no permite aumentar la siembra que se hace del recurso, por parte de los centros piscícolas, como es el caso del centro acuacultor de Conca (Estado de Querétaro). Donde hasta ahora la producción anual es de dos millones de crías como informa el Departamento de Fomento Agropecuario. Dentro de las especies que se siembran son

la mojarra y carpa (Solís, 1994, comunicación personal).

Otro hecho que se suscita a raíz del escaso consumo de productos de agua dulce, son las escasas cooperativas que existen para la explotación del recurso y, por tanto, que en ellas no sea viable sembrar mayor cantidad de pescado, como el caso de la presa Constitución Qro. Los objetivos del presente trabajo, permitirán el uso de pescado congelado para la elaboración de surimi, así el poco volumen que se llega a explotar por parte de las cooperativas, se pueda congelar a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  y posibilitar su uso posterior, ya que se estudiarán técnicas que permitan recuperar sus atributos de calidad funcional (Ramírez, 1993).

En el presente trabajo se hace una revisión de las hipótesis planteadas en la literatura, que exponen las causas relacionadas con el daño por congelación en el pescado para utilizarlo en la elaboración de surimi; debido al daño que sufren las proteínas miofibrilares durante el almacenamiento en congelación. Los trabajos presentados a este respecto son los de Simpsom, et al., (1993), con "*Merluccius productus*" congelado.

El objetivo de muchas técnicas de procesamientos de los alimentos se cifra en retardar o evitar los cambios perjudiciales que puedan producirse en los productos alimenticios.

Los procedimientos utilizados para evitar los cambios provocados por los microorganismos o reacciones fisicoquímicas son : eliminación de agua, eliminación de otros componentes activos, como oxígeno o glucosa; uso de aditivos químicos, disminución de la temperatura, aporte de energía y envasado. La mayor parte de las operaciones de elaboración de alimentos consisten en combinaciones de dos o más de estas técnicas fundamentales. Sin embargo, es frecuente que alcanzar la meta deseada reporte otras consecuencias desagradables. Esto es especialmente cierto cuando el principal fin de la técnica de procesamiento es reducir la población microbiana (Fennema, 1993).

Con referencia a lo anterior, la congelación del músculo de pescado, deteriora: a) solubilidad que se presenta cuando al extracto proteico se le incorpora una sal, comúnmente cloruro de sodio, siendo la solubilidad un desplazamiento de las interacciones entre los grupos carboxilos ( $\text{COO}^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_3^+$ ) de las proteínas, por parte de los cationes ( $\text{Na}^+$ ) y aniones ( $\text{Cl}^-$ ) de dicha sal (Fig. 1), (Niwa, 1985; Niwa, 1982); b) la capacidad de formación del gel, la fase proteica puede formar una red de macromoléculas, en la que la fase continua de agua queda

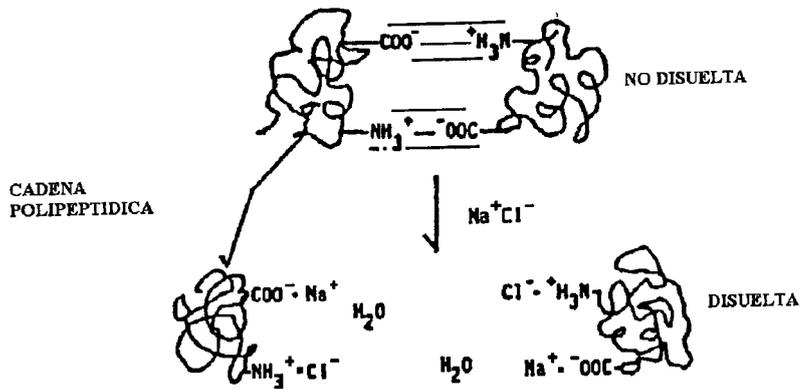


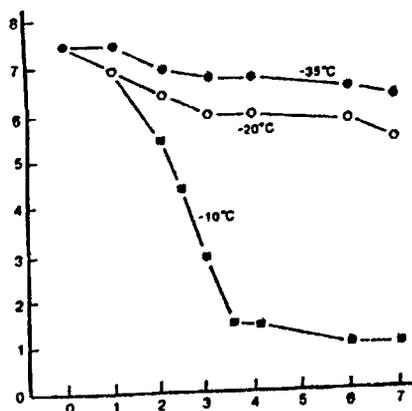
Figura 1. Representación esquemática de la disolución de las proteínas miofibrilares en una solución salina (Niwa, 1985).

atrapada (Badui, 1982), c) la fuerza del gel (Siegel y Schmidt, 1979), la cual depende de que la red de macromoléculas exhiba un cierto grado de ordenamiento (Park et al., 1990).

Cabe esperar, que posterior a un proceso de congelación las propiedades marcadas enunciadas se ven modificadas de la siguiente forma: la solubilidad se ve disminuida afectando con ello la distribución de las macromoléculas y su capacidad de formación de gel se ve modificada, provocando con ello que el agua atrapada sea menor ya que las macromoléculas se distribuyen heterogéneamente dentro del gel, que por ende, se encuentra mal estructurado.

La estructura y propiedades del gel, están determinadas por la cinética que presentan los mecanismos de: disociación, hinchamiento, solubilización, desnaturalización y agregación (Park et al., 1990). Dichas características se ven fuertemente afectadas por el almacenamiento en congelación (Fig. 2), el cuál sin embargo, permite preservar al pescado durante un período de tiempo prolongado (semanas o meses). Es la aptitud gelificante, la propiedad funcional mas importante, cuando se desea utilizar este recurso en la elaboración del surimi. Además se considera la capacidad de retención de agua, solubilidad (Fig. 3), y aptitud gelificante como las

FUERZA DE  
GEL (esca-  
la organo -  
léptica).



TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (meses)

Figura 2. Efecto de la congelación y almacenamiento en el deterioro de la fuerza de gel de abadejo de Alaska (Noguchi, 1970)

propiedades funcionales más importantes del músculo de pescado, conforme a las cuales se determina la calidad y el precio comercial (Lee, 1984). A fin de comprender mejor los conceptos básicos, que dan fundamento a las teorías para explicar el deterioro de las propiedades funcionales de las proteínas musculares, a continuación se cita una revisión de estos aspectos sobre el comportamiento de las proteínas.

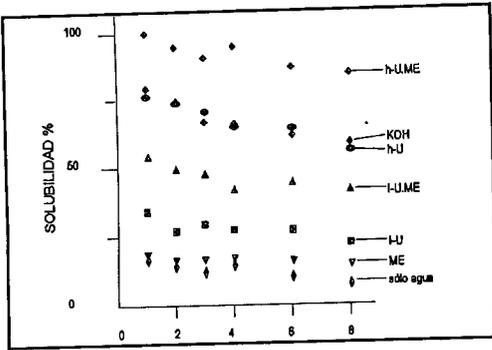
## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. ORGANIZACION ESTRUCTURAL DE LAS PROTEINAS

Debido a su escasez y a la importancia que tienen como nutrimento, las proteínas se han convertido actualmente en el principal foco de atención de la mayoría de los tecnólogos de alimentos en el mundo; Estas macromoléculas son el resultado de la polimerización, mediante enlaces peptídicos (reacción entre el grupo amino de un aminoácido con el grupo ácido de otro, con liberación de una molécula de agua), de los aminoácidos; por esta razón, todas sus

A

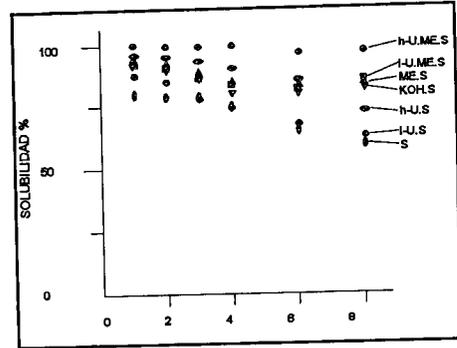
ALMACENADO EN 0.05 M KCl



ALMACENAMIENTO (semanas)

C

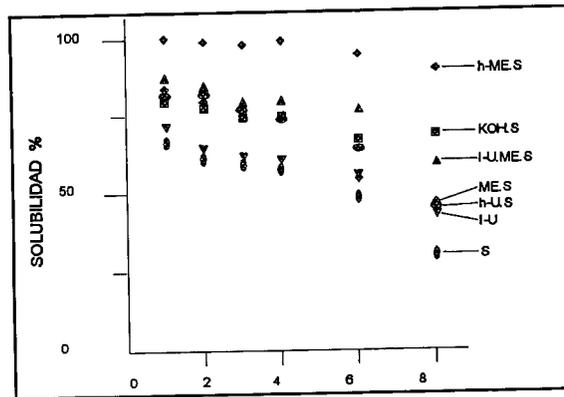
ALMACENADO EN 0.6 M KCl



ALMACENAMIENTO (semanas)

B

ALMACENAMIENTO EN 0.05 M KCl



ALMACENAMIENTO (semanas)

Figura 3. Cambio de solubilidad de actomiosina de carpa almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  y en distintos medios solubilizantes 0.05 M KCl A) y B) y 0.6 M KCl C), Símbolos que indican el componente o componentes del solvente: s, 0.6 M KCl; ME, 0.5 M metamerceptoetanol; I-U, 1.5 M urea; h-U, 8 M urea; KOH, 0.2 M KOH (Tsuchiya et al., 1980).

propiedades nutritivas y sus características físicas y químicas dependen completamente del tipo, de la concentración y de la secuencia de unión de los monómeros constituyentes. Dos proteínas podrían estar integradas por aminoácidos iguales y en concentraciones semejantes, pero si el orden en que se encuentran éstos es diferente, los polímeros muestran propiedades muy distintas.

Existen diversas maneras de clasificar los aminoácidos, que constituyen la unidad básica de las proteínas todas ellas basadas en la naturaleza química y las propiedades de su grupo R. ( $\text{R-CH(NH}_2\text{)COOH}$  fórmula general). Cada radical tiene características definidas y diferentes que se reflejan en las del aminoácido, como puede ser la solubilidad, la reactividad, la ionización, la polaridad, etc. En base a esto, dichos compuestos se han dividido en hidrófilos e hidrófobos de acuerdo con su solubilidad en agua; en ácidos, básicos y neutros conforme a su ionización, y en indispensables y no indispensables, según la necesidad que tiene el hombre de ellos y su capacidad para sintetizarlos, por tanto deben ser adquiridos a través de la dieta. Las funciones químicas ionizables más importantes son el carboxilo, el amino, la amida, el guanidino (de la arginina) y el imidazol (de la histidina).

Antes de discutir las estructuras de las proteínas es necesario hacer una aclaración con respecto al uso de los términos configuración y conformación. el vocablo configuración significa el ordenamiento espacial de los grupos sustituyentes en los esteroisómeros, de tal forma que estas estructuras no pueden interconvertirse sin la ruptura de enlaces covalentes. El término conformación se refiere a la ordenación espacial de los grupos sustituyentes que son libres de adoptar varias posiciones sin la ruptura de enlaces, lo que se debe a su rotación alrededor de los enlaces simples de la molécula (Badui, 1982).

### 2.1.1. Estructura primaria

Está determinada por la forma secuencial y ordenada en que se encuentran distribuidos los aminoácidos a lo largo de la cadena de proteína y es una propiedad altamente reproducible controlada genéticamente y única para cada fracción proteica (Badui, 1982; Anglemier y Montgomery, 1976).

Muchas de las propiedades y características de las proteínas dependen de la secuencia y el tipo de aminoácidos que contengan, como el hecho de que la presencia de una gran cantidad de



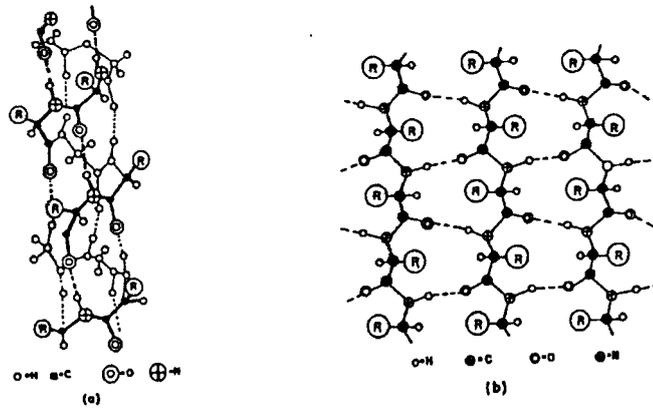


Figura 5. (a) Estructura de hélice  $\alpha$  de las proteínas, (b) esquema de la estructura en lámina plegada ( $\beta$ ), con disposición paralela (Fennema, 1982).

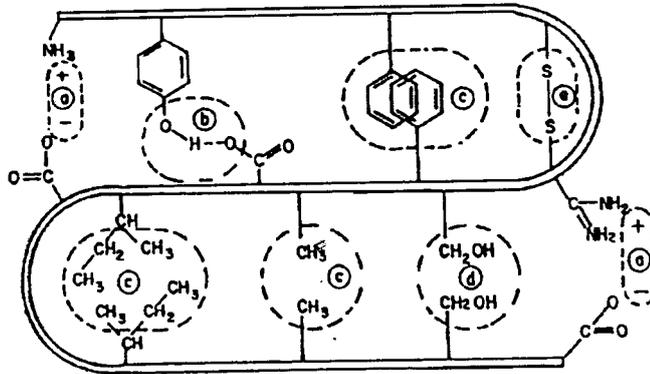


Figura 6. Enlaces que estabilizan las estructuras secundaria y terciaria de las proteínas: (a) interacción electrostática; (b) puente de hidrógeno; (c) interacción hidrófoba; (d) interacción dipolo-dipolo y (e) por enlace de disulfuro (Badui, 1994).

R de los diferentes aminoácidos, desempeñan un papel muy importante, ya que el grado de estructura terciaria que la proteína adquiere dependerá de su naturaleza, de su tamaño y de los efectos estéricos que ejerza (Fig. 6).

#### 2.1.4. Estructura cuaternaria

No necesariamente existe en todos los polipéptidos y se refiere a la asociación de dos o más cadenas de proteínas a través de uniones covalentes y no covalentes. Esta estructura pone de manifiesto la forma física en que se disponen en el espacio las cadenas individuales polipeptídicas de una proteína, que está compuesta por más de una cadena. La mayor parte de las proteínas con pesos moleculares elevados ya sean fibrosas o globulares, contienen dos o más fracciones de polipéptidos.

Los mecanismos de ligado que mantienen unidas las cadenas proteicas, en general son los mismos involucrados en la estructura terciaria, con la posible excepción de que los enlaces disulfuro (S-S) no participan en el mantenimiento de la estructura cuaternaria de las proteínas.

## 2.2. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEINAS

El término funcionalidad de un ingrediente o constituyente de un alimento se define como cualquier propiedad, distinta de las nutritivas, que condicione su utilidad en los mismos. La mayor parte de las propiedades funcionales afectan las características sensoriales de los alimentos (especialmente a la textura) aunque también pueden jugar un papel importante en su comportamiento físico, o en el de sus ingredientes durante su preparación, procesado o almacenamiento.

Las propiedades funcionales de las proteínas son aquellas propiedades fisicoquímicas que les permiten contribuir a que los alimentos exhiban características funcionalmente deseables. En un sólo alimento, suelen ser evidentes varias propiedades funcionales atribuidas a las proteínas. Una propiedad funcional en términos generales se basa en diferentes propiedades fisicoquímicas que se afectan por los sistemas alimentarios, como anteriormente se había mencionado, a la vez que juegan un papel importante en la calidad del producto final. La funcionalidad es usualmente

descrita en términos de hidratación, propiedades de superficie, ligado, solubilidad de proteínas y gelificación, como ejemplos más específicas de propiedades funcionales. Los geles en particular exhiben: la hidratación, la desnaturalización y la agregación.

Aunque muchos investigadores en el campo de las Ciencias de los Alimentos persigan explicar físicamente el comportamiento funcional ó la funcionalidad, los conocimientos actuales y la complejidad de los diversos sistemas alimenticios no permiten entender cómo una determinada estructura proteica condiciona la estructura final de un alimento. Es por ésto que a través de recientes estudios que amplíen la evidencia de propiedades funcionales de una cantidad de proteína miofibrilar de diferentes músculos o tipos de fibras; se ayude al entendimiento de la bioquímica y funcionalidad diferente que presentan los alimentos como consecuencia de los diferentes procesos alimentarios (Xiong, 1994).

Dado que la predicción de las propiedades funcionales de una proteína, a partir de sus características estructurales, resulta con frecuencia errónea, se hace necesaria su determinación experimental (Fennema, 1982).

Existen varios métodos de clasificación de las proteínas, pero los principales están basados en la composición, la forma, la solubilidad y la función biológica de estos biopolímeros. A causa de la diversidad de funciones, las proteínas se pueden clasificar arbitrariamente en tres grupos fundamentales: proteínas estructurales, proteínas con actividad biológica y proteínas alimentarias.

Las *proteínas estructurales* ( queratina, colágeno, elastina, etc.), se encuentran en todos los tejidos: músculos, huesos, piel, órganos internos, membranas celulares y organelos intracelulares. Su funcionalidad guarda una estrecha relación con su estructura fibrosa.

Las *proteínas* dotadas de *actividad biológica* cumplen un papel activo en todos los procesos biológicos. Las proteínas más importantes de este grupo son las enzimas, catalizadores muy específicos, de los que se han identificado más de 2000. También son proteínas biológicamente activas las *hormonas* que regulan las reacciones metabólicas, las *proteínas contráctiles*, las de función transportadora y las de almacenamiento.

Las *proteínas alimentarias* no representan un grupo especial, porque la mayor parte de las proteínas estructural y biológicamente activas antes descritas son proteínas de los alimentos. Las proteínas alimentarias son simplemente aquellas que resultan digeribles, no tóxicas, y

organolépticamente aceptables para los seres humanos.

La aptitud de las proteínas musculares para retener agua es una propiedad importante que repercute en el sabor, textura y color de la carne fresca, y también en la calidad del producto después de someter la carne a distintos procesos tecnológicos. Cuando se preparan emulsiones cárnicas en gran cantidad, la disposición de las proteínas para conseguir la emulsión de los lípidos posee extraordinario interés. Las proteínas solubles en agua (sarcoplasma) o en soluciones salinas (miofibrillas) tienen mayores efectos emulsificantes o estabilizadores que los de las proteínas del estroma. En la preparación de estas emulsiones cárnicas, las proteínas del músculo se solubilizan con la ayuda de sal, con la cual se colocan en la interfase agua-aceite y estabilizan la emulsión.

### 2.2.1. Proteínas contráctiles

En general, se entiende por carne a los tejidos animales que pueden emplearse como alimento, comúnmente los músculos que recubren al esqueleto. Las carnes de vacuno, ovino y porcino son las de mayor consumo; se las llama carnes rojas, en contraposición a la denominación de carne blanca, que se reserva a la de pollo. La coloración se debe, en principio, a la presencia de mioglobina, pigmento respiratorio.

Los músculos del esqueleto en los costados representan la parte comestible de los peces. A pesar de que los músculos son relativamente similares para las distintas especies animales, existe un número muy superior de especies de peces comestibles en comparación con la de mamíferos utilizados en alimentación.

La fracción comestible de los peces representa aproximadamente el 40-60% oscilando el contenido proteico de la muestra para las especies más comunes entre el 10% para la caballa hasta un 21% para la sardina del Atlántico, aunque se citan algunos casos concretos que presentan valores más elevados.

Los músculos de los peces tienen muchas semejanzas con los de los mamíferos en cuanto a su estructura y función, aunque sus proteínas no tienen la estabilidad de las de mamíferos. Las proteínas del pescado pueden alterarse (degradación, desnaturalización, coagulación) durante la manipulación del producto. Aunque esta inestabilidad se debe fundamentalmente a la naturaleza de la miosina, no todas las proteínas de origen marino que contienen miosina presentan el mismo

grado de inestabilidad. Estas variaciones se imputan a la temperatura corporal de la especie considerada y así, la miosina que procede de especies con sangre caliente es más estable, mientras que la de los peces, con sangre fría, y que habitan en zonas de aguas frías bacalao, por ejemplo, es más inestable (Fennema, 1982).

Los datos de que se dispone sobre las proteínas de crustáceos y moluscos son escasos e incompletos. Las conchas representan una elevada proporción del peso total y, en realidad, la parte comestible de los crustáceos es pequeña, ya que oscila entre un 40 y 47%; la de los moluscos, entre un 11% para las ostras y un 30% para los mejillones.

Los concentrados de proteínas de pescado se han trabajado mucho para conseguir mayor aprovechamiento de algunas especies de peces que generalmente no los come el hombre como tales, o tienen poco valor comercial o culinario. Para ello se han propuesto algunos tratamientos que consisten fundamentalmente en pulverizar el pescado, extracción con disolventes orgánicos (alcohol isopropílico o cloruro de etileno seguido de alcohol isopropílico), operación que consigue la simultánea eliminación de lípidos y agua, dejando así un residuo rico en proteínas, que después se somete a trituración y desecación con el fin de obtener el tamaño de partícula deseado. Se logra entonces un polvo o concentrado parduzco, inodoro e insípido, que contiene, aproximadamente, un 75% de proteínas o incluso valores superiores, menos del 10% de humedad, el 0,5% de lípidos y un 10-15% de materia mineral.

El músculo esquelético está compuesto por células largas, estrechas, polinucleares (fibras) con una longitud que va de pocos a varios centímetros y un diámetro de 10 a 100  $\mu\text{m}$ . Las fibras están ordenadas paralelamente para formar haces y los grupos de haces constituyen un músculo. Rodea al músculo una densa vaina de tejido conjuntivo, a la que se le da el nombre de epimisio (Fig. 7).

En la Fig. 8 se representa, en forma de diagrama una fibra muscular. Se considera que, por lo general, la superficie de ésta, el "sarcolema", está formada por 3 capas: una red más externa de fibrillas de colágeno, una capa media o amorfa y una más interna, membrana plasmática.

Cada fibra muscular contiene muchas fibrillas más pequeñas ó miofibrillas que constituyen el aparato contráctil. Las miofibrillas están rodeadas por el sarcoplasma y alguno de los elementos

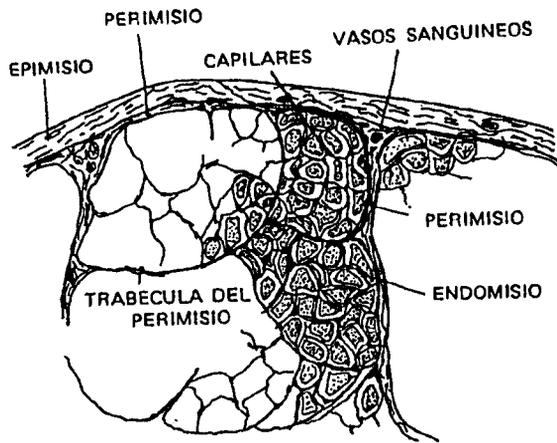


Figura 7. Sección transversal del músculo, que muestra la distribución del tejido conjuntivo en epimisio, perimisio y endomisio y su relación con las fibras musculares y los haces de fibras. También se indica la posición típica de los vasos sanguíneos (Fennema, 1982).

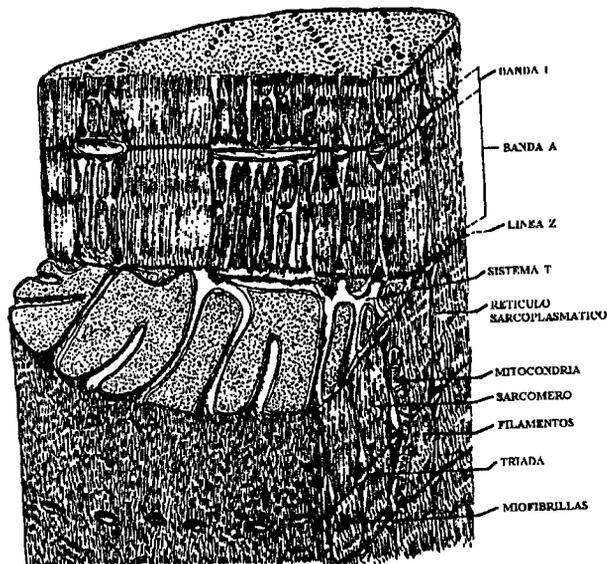


Figura 8. Corte de una fibra muscular, que muestra la membrana externa y sus invaginaciones (sistema T que se cruzan horizontalmente y se reúnen con dos sacos terminales del retículo sarcoplásmico longitudinal en la triada. También se indican las estrías cruzadas repetidas (Fennema, 1982).

indicados, tales como mitocondrias, el sistema T y el retículo sarcoplasmático. El aspecto estriado característico del músculo esquelético se debe a la ordenación específica y repetida de las proteínas en las miofibrillas. Las bandas oscuras de fibrillas son anisótropas o birrefringentes cuando se observan con la luz polarizada. El músculo estriado de otros vertebrados, así como de invertebrados, tiene prácticamente la misma estructura que la indicada para el músculo de los mamíferos.

Las fibras del músculo liso no muestran las estrias características del músculo voluntario o esquelético. Se utilizan como alimento ciertos órganos que contienen músculo liso como, por ejemplo, las mollejas de ave y el tejido intestinal.

El tejido del corazón se emplea directamente como alimento o se incorpora a la elaboración de embutidos. La estructura miofibrilar del músculo cardíaco es semejante a la de los músculos estriados del esqueleto, pero las fibras cardíacas contienen mayor número de mitocondrias que las esqueléticas. Así mismo, la ordenación de las fibras en el músculo cardíaco es algo menos regular que la observada en el esquelético.

#### 2.2.1.1. Miosina, Actina y actomiosina

##### -Miosina

La proteína de los filamentos gruesos es la miosina (Fig.9). La miosina contiene dos cadenas polipeptídicas idénticas y gran parte de la estructura de cada una de ellas es  $\alpha$ -helicoidal. La molécula tiene una cabeza globular, responsable de su actividad enzimática (ATPasa) y de su capacidad de reaccionar con la actina. La miosina representa del 50 al 60 % de las proteínas miofibrilares o contráctiles. Cada filamento grueso contiene alrededor de 400 moléculas de miosina. Cuando éstas reaccionan entre sí se polarizan, uniéndose cabeza-cola en dos direcciones. Sin duda alguna, esta polaridad permite que ocurra la contracción. La miosina se extrae del músculo con una solución salina (fuerza iónica aprox. 0.6 M de NaCl), de pH ligeramente alcalino (7.5-8) (Fennema, 1982).

##### -Actina

La proteína que más abunda en los filamentos delgados es la actina, que contiene del 15

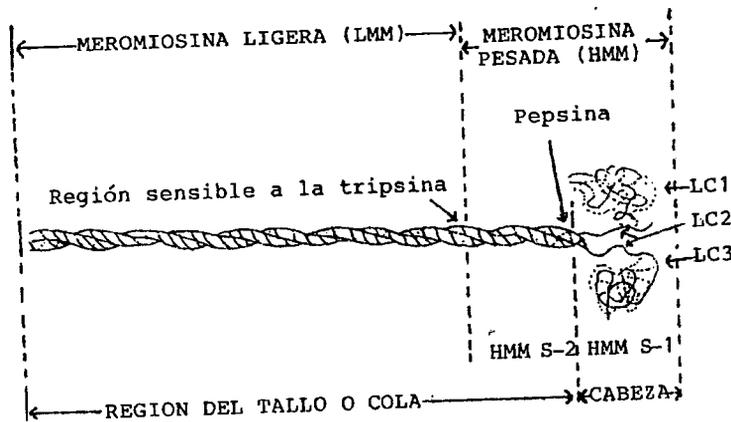


Figura 9. Representación esquemática de la molécula de miosina, mostrando su cabeza globular y tallo alargado así como los puntos de fragmentación enzimática (Anglemier y Montgomery, 1976).

al 30 % de proteína miofibrilar del músculo. Está mucho más fuertemente unida a la estructura del músculo que la miosina. La extracción de la actina se efectúa mediante la exposición prolongada del polvo muscular (obtenido por extracción acetónica) a una solución acuosa de ATP.

#### -Actomiosina

Cuando se mezcla *in vitro* la actina purificada y la miosina, se forma un complejo, la actomiosina. El complejo actomiosina se disocia en presencia de ATP o ADP y iones magnesio, este complejo es el que involucra presumiblemente el proceso de contracción en el músculo.

#### -Otras proteínas contractiles

Desde el punto de vista de la bioquímica del músculo lo son extremadamente importantes, dentro de las cuales se encuentran la tropomiosina, troponina, actininas, entre otras. Sin embargo, su contenido en la carne es mínimo, y no juegan un papel importante con respecto al procesamiento de alimentos (Suzuki, 1981).

### 2.2.2. Componentes solubles de la célula muscular

Las proteínas solubles de la célula muscular constituyen una fracción importante de las proteínas de la célula, del 25 al 30 % de la proteína total. La mayor parte de estas proteínas solubles son enzimas, principalmente glucolíticas, y la mioglobina principalmente. Entre los demás componentes solubles del sarcoplasma los hay que contienen nitrógeno, como los aminoácidos y los nucleótidos, algunos hidratos de carbono solubles, ácidos como el láctico, principal producto de la glucólisis, cofactores enzimáticos e iones inorgánicos.

Los componentes insolubles de la célula muscular comprenden a las proteínas contráctiles de los sistemas de membrana; gránulos de glucógeno y gotitas de grasa. Parte de la fracción insoluble de la carne está formada por estos elementos, pero la mayor proporción corresponde a las proteínas del tejido conjuntivo.

El colágeno constituye la fracción mayoritaria del tejido conjuntivo. Este componente es importante porque contribuye, de manera significativa, a la dureza. Asimismo, el producto parcialmente desnaturalizado del colágeno, la gelatina, es un ingrediente útil en muchos productos alimenticios, ya que sirve de base para postres tipo gel dependientes de la temperatura. El colágeno abunda en tendones, piel, huesos, sistema vascular de los animales y vainas de tejido conjuntivo que rodean el músculo.

Si se calienta el colágeno a temperatura superior a la crítica (45-50 °C), se hidrolizan algunos enlaces intermoleculares, algunos intramoleculares y unos pocos de la cadena péptida principal.

Esto se manifiesta en la transformación de la estructura de triple filamento en una forma más amorfa, conocida con el nombre de gelatina. Cabe diferenciar tres etapas principales en la transformación del colágeno en gelatina. Primera, eliminación de los componentes que no contienen colágeno (piel y huesos), seguida de la transformación de colágeno en gelatina por calentamiento en presencia de agua y, por último, recuperación de la gelatina en su forma final. Las propiedades moleculares de la gelatina dependen del número de enlaces escindidos en el colágeno inicial (Fennema, 1982).

### 2.2.3. Mecanismo de la contracción del músculo esquelético

El músculo se estimula por un impulso nervioso eléctrico, responsable de que la membrana de la célula muscular pierda la polaridad. El sistema tubular transversal del músculo parece ser una extensión de la membrana celular y, por tanto, su papel es transmitir el estímulo (despolarización) al interior de la célula muscular, de manera que toda la célula pueda reaccionar como una unidad.

El proceso de contracción está controlado por la cantidad de iones calcio libres que se liberan en el sarcoplasma. Se facilita la regulación de la actividad de ATPasa por el calcio a través del sistema de relajación, que consta de tropomiosina, troponina A (factor sensible al calcio) y la troponina B (inhibidor de la ATPasa de las miofibrillas estimulada por el magnesio).

Por lo general, la teoría mayor aceptación en la literatura es la de Hanson y Huxley, quienes indicaron que cuando el músculo se contrae, los filamentos delgados y gruesos se deslizan unos sobre los otros (Fig. 10).

### 2.2.4. Relajación

La relajación ocurre cuando se eliminan los iones calcio del sarcoplasma. Esto se produce mediante un transporte activo o por retención del calcio del retículo sarcoplasmático. Se activa el sistema actomiosina ATPasa cuando la concentración del calcio en el sarcoplasma aumenta aprox. de  $10^{-8}$  M a  $10^{-5}$  M. Cuando la concentración de iones calcio es inferior a  $10^{-5}$  M, la miofibrillas pierden nuevamente su capacidad para hidrolizar el ATP.

El funcionamiento del músculo, tejido muy especializado, es un ejemplo clásico de la transformación de la energía bioquímica en mecánica en los sistemas vivos. El músculo necesita un aporte elevado de energía para que el aparato contráctil funcione rápidamente. Esta energía se obtiene rápidamente del ATP, compuesto altamente energético. El fosfato de creatina transfiere en seguida su fosfato de mucha energía al ADP, de manera que no disminuya demasiado el contenido de ATP durante la actividad. La enzima creatina quinasa y adenilato quinasa, transforman a su vez ADP en ATP para el sistema contráctil.

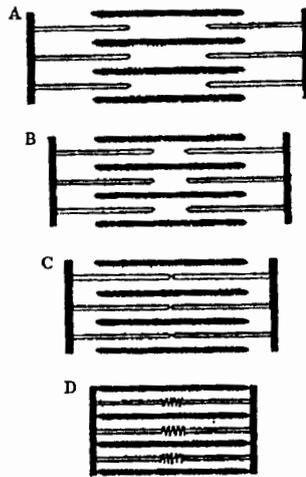


Figura 10. Etapas de la contracción de un sarcómero, con indicación de los filamentos gruesos (negros) y los delgados (blancos) unidos a las líneas Z. Si se considera que B es una representación esquemática de un sarcómero del músculo en reposo, A representa la de un músculo alargado; C y D, las del músculo en diversos grados de contracción. Las líneas quebradas de los filamentos delgados en D representan aquéllas porciones de los mismos que se superponen entre sí (Fennema, 1982).

El sistema mitocondrial necesita oxígeno y en algunos casos, cuando el músculo está sometido a grandes esfuerzos, no basta con el oxígeno disponible para mantener la función mitocondrial. Puede que entonces predomine el sistema glucolítico anaerobio.

Los sistemas animales están más organizados que los vegetales y los procesos vitales de los animales se basan principalmente en un sistema circulatorio muy desarrollado. Después de la muerte cesa totalmente la circulación y ello origina importantes cambios en el tejido muscular que se presenta rápidamente.

La célula muscular *postmortem* procura sostener una elevada carga energética. Al cabo de poco tiempo después de una gran actividad enzimática, provocada por la pérdida de capacidad de secuestro calcio, en el retículo sarcoplasmático, deja de funcionar el sistema mitocondrial en casi todas las células de la superficie pues se agota rápidamente el oxígeno interno. Consumido el fosfato de creatina, lo que ocurre razonablemente rápido, prosigue la glucólisis anaerobia para regenerar algo de ATP y se acumula el producto final, ácido láctico. Dando como consecuencia

la rigidez muscular.

La disminución de pH que acompaña a la glucólisis postmortem tiene un papel importante en la calidad de la carne. El pH final que se alcanza se denomina "pH último" y este valor tiene gran influencia en la textura de la carne, la capacidad para retener el agua, la resistencia a los microorganismos y el color, es por ésto, que en el control de la calidad de la carne son importantes tanto la velocidad de descenso del pH, como el pH último.

Como consecuencia del mal manejo dado al músculo, las reacciones de degradación del ATP a hipoxantina se aceleran. Donde en las cuales, el ATP se transforma primero en ADP y luego en AMP, mediante una reacción de desproporcionamiento. El AMP se desamina en IMP, reforzador del sabor. No obstante, el IMP puede degradarse a inosina y, finalmente a hipoxantina. Esta tiene un gusto amargo y se ha sugerido que es la causa de los olores desagradables del pescado almacenado.

#### 2.2.5. Efecto de los cambios *postmortem* sobre la calidad de la carne:

Si por acción de las lipasas o fosfolipasas se producen ácidos grasos durante la fase postmortem de almacenamiento de la carne, estos, pueden interaccionar con las proteínas contráctiles y desnaturalizarlas. El fenómeno más amplio que afecta a la textura de la carne es la interacción de la actina y la miosina después de agotarse el ATP y el ADP. Junto con esta interacción se va incrementando la dureza o rigidez del músculo, por lo que, la carne se madura (12-16 hrs entre 2-6 °C) para superar parcialmente este efecto. La disolución y desintegración de la línea Z (Fig. 8) está relacionada con un aumento en el ablandamiento de la carne durante la maduración *postmortem*.

Un dato de especial importancia en el desarrollo de la dureza de la carne es el estado del sarcómero cuando se forma actomiosina, es decir, el grado de superposición de los filamentos gruesos y delgados. Si se separa el músculo del esqueleto en estado de pre-rigor, es susceptible de rápida contracción. Se ha establecido, además, una correlación muy positiva entre la longitud del sarcómero y el grado de rigidez del músculo. Evidentemente, el corte del músculo en el pre-rigor elimina las limitaciones físicas a la contracción y el músculo puede experimentar gran acortamiento, algunas veces superior al 60-70 % de su longitud en reposo. El resultado de todo

esto es un músculo altamente quebrantado, blando y con muy poca capacidad de retener agua.

El color del músculo se ve afectado principalmente por el pH, que controla el estado físico de las miofibrillas y, por consiguiente, la reflexión de la luz por el músculo. Además, el pH influye sobre el funcionamiento de las mitocondrias y su capacidad para competir con la mioglobina por el oxígeno, y esto también puede interesar los sistemas reductores de mioglobina del músculo. Si estos se inactivan a un pH desfavorable, cabe esperar más rápida oxidación de la oximioglobina roja brillante a metamioglobina parda.

Los cambios que ocurren *postmortem* en la carne repercuten fundamentalmente en el color y en la textura y poco sobre el valor nutritivo. La única posible excepción a esto se da cuando el músculo pierde grandes cantidades de líquido por ejemplo, durante la descongelación

Los factores *antemortem* que afectan los cambios *postmortem* comprenden los esfuerzos musculares durante y después de la captura agotan el glucógeno y, en general, es deseable minimizarlos tanto como sea posible. Estas situaciones de esfuerzo comprenden el ejercicio, el ayuno, las bajas temperaturas y el miedo. No todos los animales reaccionan del mismo modo o con la misma intensidad a cualquiera de estos esfuerzos.

Por lo general es aconsejable alcanzar un pH último moderadamente bajo, puesto que mejora la resistencia al deterioro microbiano y, en el caso de carnes rojas, proporciona mejor color. Así, el pH último se ha de alcanzar lentamente, es decir, la glucólisis debe ser lenta y completa.

#### 2.2.6. Solubilidad

Las proteínas en un medio acuoso pueden interaccionar con el solvente, para formar una solución verdadera, una solución coloidal o una suspensión estable de partículas insolubles (Lorient, 1986).

La solubilidad de las proteínas está determinada por tres factores principales:

- 1) Su grado de hidratación.
- 2) Su densidad y distribución de cargas a lo largo de la cadena.
- 3) La presencia de compuestos no proteínicos, como fosfatos, lípidos o carbohidratos, que pueden tener o no, un efecto estabilizante.

Los dos primeros factores son intrínsecos y dependen de la secuencia de aminoácidos (estructura primaria), la relación de aminoácidos hidrófobos-hidrófilos y la longitud de la cadena (Badui, 1982).

Las proteínas son electrólitos de alto peso molecular y de un gran orden estructural, y por lo tanto, son muy susceptibles a cambios profundos en su solubilidad cuando se altera alguno de los 3 factores mencionados. Se puede obtener la máxima solubilidad o la insolubilización proteica, regulando la fuerza iónica, el pH, las propiedades dieléctricas del disolvente y la temperatura, teniendo en cuenta siempre, que la solubilidad de las proteínas es la expresión en forma conjunta de los distintos factores y que éstos no se pueden aislar fácilmente uno de otro (Anglemier y Montgomery, 1976; Badui, 1982).

Las sales neutras permiten la solubilización de las proteínas miofibrilares, y esto está muy relacionado con la fuerza iónica que desarrollan, la cuál depende tanto de la concentración, como del número de cargas eléctricas provenientes de los cationes y aniones aportados por la sal. Dentro de un cierto intervalo de bajas concentraciones, las sales incrementan la solubilidad, fenómeno que recibe el nombre de solubilización por salado (Badui, 1982).

La sal tiene doble efecto sobre la carne: solubilizar la proteína miofibrilar y extraerla. Ambos efectos están fuertemente relacionados con la calidad del gel a obtener. (Cheng et al., 1979; Siegel y Schmidt, 1979; Whiting, 1987). Esto se demuestra por el hecho de que las proteínas hidrosolubles del músculo, presentan mala propiedad de gelificación (Macfarlane et al., 1977). También, porque la proteína muscular desnaturalizada y agregada, no puede ser empleada para la gelificación. por su mala solubilidad y extractabilidad; es por ello que músculos cocidos, deshidratados (seco-salado) no gelifican. En el caso del pescado, al someterlo a congelación, se inducen agregaciones proteínicas que disminuyen su solubilidad y extractabilidad, afectando su capacidad de gelificación. (Okada et al., 1973; Cheng et al., 1979).

En la elaboración de productos cárnicos, se acostumbra incorporar de 2 a 3% de cloruro de sodio, en base al peso de la carne, en condiciones de pH de 6-7. Esto permite obtener una pasta viscosa, a través de un mezclado homogéneo que generalmente se realiza en una máquina cortadora. La incorporación de concentraciones de sal más altas, impartiría un fuerte sabor salado, sin aportar un beneficio adicional a la solubilización proteínica. Por otra parte, el empleo de

concentraciones menores, afectaría negativamente la solubilidad (Shimizu, 1985). A este respecto, Ishirioshi et al. (1979), estudiando el efecto que ejerce la concentración de la sal, en la solubilización de la miosina, encontraron que en concentraciones de 0.1 a 0.4 M y pH 6.0, la solubilidad incrementó fuertemente en forma lineal; sin embargo, en el rango de 0.4 a 1.0 M, no se presentó un incremento en la solubilidad .

Niwa en 1985, obtuvo resultados similares, al estudiar las propiedades funcionales de pasta de pescado, encontrando que una mala dispersión proteica durante el picado de la carne, proporciona geles poco elásticos.

Otra comparación interesante, es la proporcionada por Niwa en 1992, donde el estudio con microfotografía electrónica mostró la diferencia de adicionar sal a la pasta de pescado, moliéndola durante 25 minutos; respecto a aquélla, a la cuál no se le adicionó sal, antes de ser molida el mismo tiempo, y que muestra miofibrillas aún intactas.

Se considera que la sal actúa rompiendo los enlaces electrostáticos intermoleculares, que se presentan entre grupos ácidos y básicos de los aminoácidos (presentan carga positiva y negativa respectivamente, en pH 7). En conjunto, éstos grupos representan un 40% de los aminoácidos de la miosina. Dentro de este tipo de interacciones, los puentes salinos que se forman entre grupos adyacentes carboxilos ( $\text{COO}^-$ ) y amino ( $\text{NH}_3^+$ ), son los más importantes, por requerirse una mayor energía para romperlos. Al adicionar una sal neutra, como el cloruro de sodio, los cationes ( $\text{Na}^+$ ) y aniones ( $\text{Cl}^-$ ), de dicha sal, ya disociados en el agua del alimento, se asocian a los grupos cargados de la proteína (Fig. 1), desplazando las interacciones entre proteínas, lo que induce una mayor solubilización o dispersión. Este mecanismo provoca al parecer, cambios estructurales, ya que se modifican las temperaturas de transición térmica de las proteínas (Fig. 11), determinadas mediante calorimetría diferencial de barrido (Niwa, 1985; Niwa, 1992).

Otros factores a considerar para obtener una buena gelificación, son: la concentración proteínica, ya que si ésta es baja las proteínas tienden a coagular y no a gelificar (Burgarella et al., 1985; Wu et al., 1985a), y las condiciones en las que el animal haya pasado el rigor mortis. En general, se obtienen mejores geles de músculos en pre-rigor, que en pos-rigor. No recomendándose procesar, músculos en rigor mortis. (Sonu, 1986; Park et al., 1990).

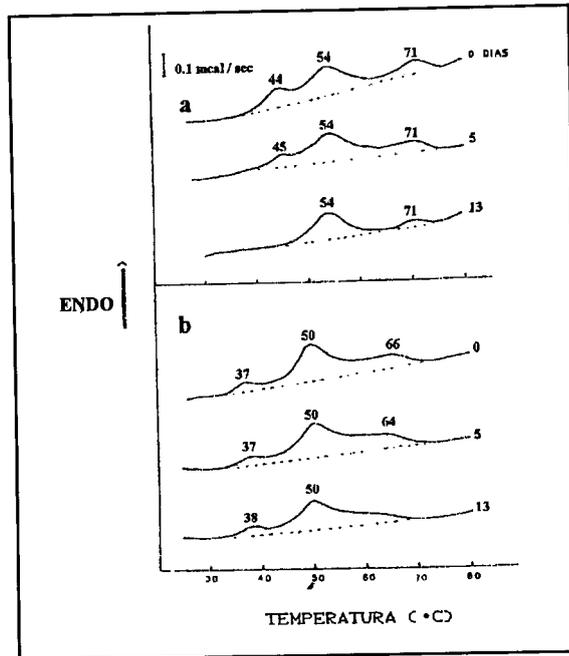


Figura 11. Termogramas (por calorimetría diferencial de barrido), de surimi de roncadador del Atlántico, mostrando el efecto del almacenamiento en refrigeración a 4 °C. (a) Sin la adición de sal (NaCl) y, (b) adicionando 3 % de sal (Wu et al., 1985a).

### 2.2.7. Aptitud gelificante

El término gelificación, se refiere al cambio del estado líquido o pastoso, a un estado sólido viscoelástico (Lanier and Hamann, 1983). Las características estructurales de los geles inducidos térmicamente, son típicas de los materiales semi-sólidos, los cuáles poseen diferentes grados de rigidez, elasticidad, plasticidad y fragilidad (Kinsella, 1979; Montejano et al., 1984).

Los geles son sistemas formados por una red continua de macromoléculas, interconectadas y entrelazadas en una estructura tridimensional, en la que la fase continua de agua queda atrapada. Se pueden concebir como un estado, en el que las macromoléculas coloidales se orientan, formando fibrillas, que al interactuar entre ellas, constituyen un cuerpo básico o "esqueleto", el cuál sirve de soporte para contener el agua que las rodea. Los principales geles que encontramos en alimentos están compuestos por distintos polisacáridos y proteínas, que gelifican con diferente

grado de elasticidad y rigidez, por lo tanto, se emplean de acuerdo a las necesidades requeridas. (Badui, 1982).

Cuando una dispersión proteica es calentada, puede formarse un gel. El mecanismo de gelificación, la estructura del gel y las propiedades del mismo son altamente dependientes de la naturaleza y concentración del coloide, la concentración de sales, el pH y la temperatura del sistema. (Hermansson, 1979; Schmidt et al., 1981; Hultin, 1986)

Los mecanismos involucrados en la formación del gel, están determinados por el balance entre las fuerzas que se presentan en las interacciones coloide-solvente y coloide-coloide. Para una mayor comprensión de la gelificación proteica, es conveniente definir los mecanismos que participan en la interacción coloide-coloide. De acuerdo con Hermansson (1979):

**Asociación.** Se refiere a cambios a nivel molecular, tales como interacciones monómero = dímero, equilibrio de subunidades, etc. Estas interacciones están caracterizadas por enlaces débiles en sitios de ligado específico. Contrario a la "asociación", los términos de "agregación", "floculación" y "coagulación", se refieren a interacciones proteína-proteína no específicas, con la subsecuente formación de complejos de alto peso molecular.

**Agregación.** Es un término general que se emplea como vocablo colectivo, para indicar interacciones proteína-proteína.

**Floculación.** Es un fenómeno completamente coloidal, donde la interacción entre moléculas de proteína, está determinada por el balance entre repulsiones electrostáticas y fuerzas de atracción de Van der Waals.

**Coagulación.** Se usa para definir agregaciones al azar, las cuales incluyen desnaturalización de moléculas proteínicas.

**Gelificación.** Es una agregación ordenada de moléculas proteínicas, que involucra la formación de una red continua, la cual exhibe un cierto grado de ordenamiento. La estructura y las propiedades del gel, están determinadas por la cinética que presentan los mecanismos de: disociación, hinchamiento, solubilización, desnaturalización y agregación.

Los aspectos bioquímicos y reológicos, que se encuentran implicados en la gelificación de las proteínas musculares, han sido ampliamente estudiados en años recientes, sin embargo, la química de este proceso no ha sido comprendida en su totalidad (Park et al., 1990).

La gelificación de las proteínas miofibrilares implica tres etapas importantes:

- 1) Solubilización de las proteínas con sales neutras. Denominadas así por obtenerse de la neutralización de un ácido fuerte con una base fuerte, generalmente se emplea cloruro de sodio la cual se obtiene de la neutralización del ácido y la base.
- 2) Desnaturalización térmica de las proteínas, para inducir una fuerte interacción molecular.
- 3) Agregación ordenada de las moléculas proteínicas, para formar la red tridimensional, que permite el atrapamiento de agua y le confiere las características reológicas al producto.

#### 2.2.7.1. Tatamientos térmicos para la obtención de geles de pescado

Las proteínas miofibrilares de pescado, tienen una respuesta a la gelificación térmica diferente, a la proteína proveniente de aves y mamíferos (Suzuki, 1981).

Los geles de pescado más importantes tecnológicamente son los que provienen del surimi, y se denominan genéricamente kamaboko, según la terminología japonesa de donde dicho producto es originario. Este término se refiere al producto final de un proceso donde se contempla, lo siguiente: después de la captura, el pescado debe ser eviscerado, descabezado y almacenado en hielo lo más rápido posible, para evitar que sus enzimas proteolíticas deterioren la calidad de las proteínas miofibrilares, lo que afectaría su aptitud gelificante. Sin embargo, el período de almacenamiento en hielo no debe ser muy prolongado, ya que la frescura del pescado tiene una influencia decisiva en la capacidad de formación de gel del producto, y la pérdida de dicha capacidad, no puede ser recuperada con procesos posteriores (Sonu, 1986; Toyoda et al., 1992).

El pescado desmenuzado se somete a una serie de lavados con agua fría, acompañados con una eliminación de la misma; estas operaciones permiten extraer la fracción hidrosoluble del músculo. En dicha fracción se incluye sangre, proteínas hidrosolubles, pigmentos, enzimas y otras sustancias responsables del olor. También se extraen considerables cantidades de grasa y sales minerales. Todo esto, permite incrementar la concentración de las proteínas miofibrilares en el surimi crudo, las cuáles le confieren las propiedades únicas de gelificación que caracterizan a este alimento, así como su capacidad de retención de agua y de emulsificación (Lee, 1984; Okada, 1992).

El proceso de lavado no solo es importante para obtener un producto con buenos atributos organolépticos ( sin olor, sabor o color), y buena aptitud gelificante, también determina la vida de anaquel del surimi en congelación. En general, a mayor número de lavados, el surimi presenta mejor estabilidad durante el almacenamiento congelado (Matsumoto y Noguchi, 1992).

El pH del agua de lavado es importante, ya que no debe modificar el pH del producto final (Toyoda et al., 1992). A este respecto se reporta que utilizar un pH ácido (5.5) en el agua de lavado, reduce la cantidad de agua requerida en cada lavado (Pacheco et al., 1989). Una vez obtenido el surimi, el primer paso para elaborar los geles es solubilizar las proteínas con 2 a 3 % de cloruro de sodio. Posteriormente, a través de un proceso de calentamiento, se inducirá la transformación irreversible sol-gel. Las características texturales de los geles que se obtienen por este método, dependen en alto grado de la temperatura de cocción que se utilice y el tiempo que dure el proceso térmico. Si la gelificación es inducida a 40°C o menos, se obtiene un gel elástico y poco cohesivo, al cual se le denomina "suwari". Someter el gel a temperaturas cercanas a los 60 °C, inducirá daños en su textura; a este producto se le denomina "modori". Los geles obtenidos a temperaturas superiores a los 70 °C, presentan buena cohesividad y elasticidad, esta última característica es altamente dependiente de la especie (Suzuki, 1981).

#### a ) Suwari

El término japonés "suwari", es traducido al inglés como "setting", por lo que en el presente trabajo se denominará "asentamiento a baja temperatura".

El asentamiento de la proteína, es en sí, un fenómeno de gelificación a bajas temperaturas, las cuales pueden ir de 0 a 40 °C, con el tiempo de incubación variable. Este proceso induce la formación de geles translúcidos y elásticos, de textura lisa y continua y brillo superficial. (Lanier et al., 1982; Wu et al., 1985a y b; Lanier, 1986).

Este fenómeno se presenta en el músculo esquelético de pescados, debido al parecer, por ser animales de sangre fría, lo cual, induce cambios en las propiedades bioquímicas de sus proteínas miofibrilares, reflejándose ésto, en propiedades fisicoquímicas distintas entre los músculos de las de aves y de los mamíferos durante su procesamiento; destacándose entre ellas, su mayor inestabilidad térmica. Sin embargo, también es altamente dependiente de la especie,

variando para cada una la temperatura óptima de obtención y las propiedades texturales del gel obtenido. (Roussel y Cheftel, 1990; Kamath et al., 1992; Stone y Stanley, 1992).

Antiguamente, al asentamiento se le consideraba como un inconveniente, ya que las pastas cárnicas solubilizadas no pueden ser refrigeradas porque gelifican, lo que impide su posterior enmoldado o embutido. En la actualidad, este fenómeno es inducido intencionalmente por los fabricantes de productos de surimi, ya que se ha comprobado, que los geles que se someten a un asentamiento y posteriormente a cocción a 90 °C presentan mejores atributos texturales, que aquéllos que se cuecen 90 °C. (Matsumoto y Noguchi, 1992).

Existen dos tipos de asentamiento: a bajas temperaturas y a altas temperaturas, sin embargo, no existe un acuerdo generalizado, que establezca los límites térmicos de cada uno de los tratamientos. A este respecto, Matsumoto y Noguchi (1992), sugieren los rangos de 5 a 32 °C y 32 a 43 °C respectivamente. Ambos procesos tienen aplicación en la elaboración de productos de surimi, sin embargo, al parecer su formación implica fenómenos distintos, en función de la temperatura. (Kim et al., 1986; Lanier, 1986).

Se considera que entre los mejores geles de pescado se encuentran los provenientes de abadejo de Alaska, por su elasticidad y fuerza de gel (Scott et al. 1988).

## b) Modori

Cuando la pasta de surimi es incubada a 60 °C se obtiene un gel muy quebradizo, al cual se le denomina "modori" (retorno) por que el gel regresa a su estado no elástico. Puesto que la calidad de gel de pescado (kamaboko), depende en gran medida de su elasticidad, la obtención de este tipo de gel disminuye el valor comercial del producto, (Makinodan et al., 1985).

El mecanismo que induce la formación del fenómeno modori, no ha sido descifrado totalmente, considerándose actualmente tres probables causas (Niwa, 1992):

- 1) La coagulación térmica de las proteínas
- 2) La inducción del fenómeno por parte de proteínas con carácter no enzimático
- 3) La presencia de una proteasa alcalina.

Se piensa que la incubación de la proteína miofibrilar de pescado a 60 °C, la induce a coagular en lugar de gelificar, debido a que en esta temperatura, se obtiene el máximo nivel de

interacciones hidrofóbicas, lo cual puede provocar, que la red tridimensional que estructura al gel sufra un encogimiento adquiriendo una forma más heterogénea y provoca la liberación de agua. Esta teoría se apoya, en el hecho de que el modori puede ser suprimido por la adición de azúcares, los cuales inhiben la formación de interacciones hidrofóbicas. Además, porque este fenómeno depende del comportamiento térmico de la miosina o de la cabeza de la miosina en cada especie de pescado. ( Niwa, 1992).

Iwata et al.(1977) al fraccionar músculo de carpa, aislaron dos proteínas que no mostraron actividad enzimática, pero que fueron capaces de inducirle fenómeno modori. Su peso molecular fue de 44,000 y 50,000 Daltons respectivamente, siendo la de menos peso molecular la que indujo una mayor pérdida de capacidad de retención de agua en geles de surimi de carpa, incubado a 60 °C por 90 min.. Sin embargo, el mecanismo de acción de estas proteínas aún es desconocido.

La presencia de una proteasa alcalina se detectó inicialmente en músculo de rata (1960), posteriormente en ratones (1963), humanos (1972), y puercos (1973), mostrando actividad proteolítica en todos los casos a 37 °C. Sin embargo, se ha detectado en peces una proteasa alcalina diferente, que actúa por encima de los de los 55 °C y que ocasiona un efecto deteriorativo en los geles de pescado. La presencia de esta proteasa alcalina, ha sido confirmada por varios investigadores. (Makinodan e Ikeda, 1977).

La actividad de la proteasa varía entre especies de pescado, lo cuál explica porqué, la susceptibilidad al modori depende también de la especie (Matsumoto y Noguchi, 1992). Esta enzima presenta actividad óptima a 60 °C y pH = 8, en barracuda café, carpa, pez lagarto y roncador amarillo. Puede ser activada por cisteína y 2-mercaptoetanol, pero desactivada por ácido 4-cloromercuriclorobenzioco (PCMB), ácido etilendiaminotetracético (EDTA), ácido etilén-glicol-bis-N,N' tetracético (EGTA), N-etil maleimida (NEM), N-bromosuccinimida (NBS), 2-metil-1,4-naftoquinona (K3) y urea. Además, al precalentar la pasta de surimi a 80 °C, antes de someterla a incubación a 60°C, se inhibió el fenómeno modori, aparentemente por inactivación térmica de la enzima. También puede ser inhibida por la adición de antipina, inhibidor de proteasa de papa, inhibidor de tripsina ovomucoide, clara de huevo en polvo, lactoalbúmina y plasma sanguíneo hidrolizado de res (Lanier et al., 1981; Hamann et al., 1990; Niwa, 1992).

Al incubar el gel de surimi a 62 °C, se induce una pérdida de la textura, la cuál incrementa

en relación al tiempo de exposición (Fig. 12 ), siendo menor a 62 °C/1 hr, que a 62 °C/2 hr. Esto coincide con una degradación de la cadena pesada de miosina, detectada por electroforesis (Fig. 13), que es función del tiempo de incubación. Encontrándose que, el gel calentado a 90 °C, presenta la banda correspondiente a la cadena pesada de miosina, misma que tiende a desaparecer en el gel calentado a 62 °C/1 Hr y no se aprecia en el gel obtenido a 62 °C/2Hr. En base a estos resultados, Makinodan et al. (1985), sugieren que el fenómeno modori podría ser inducido por la degradación enzimática de la cadena pesada de miosina. Mencionando, que sus resultados concuerdan con los obtenidos por Cheng et al. (1979), quiénes reportaron la degradación de la cadena pesada de miosina en geles cárnicos, preparados a partir de roncador del Atlántico, calentados a 70 °C.

Si bien, existen varias enzimas proteolíticas en el músculo de pescado, no todas son capaces de actuar eficazmente en las condiciones que se induce el modori, es decir a pH neutro o alcalino y temperatura cercana a los 60 °C. Makinodan et al. (1985), encontraron que de 4 proteasas detectadas en músculo de roncador blanco, sólo la proteasa alcalina fué capaz de actuar en dichas condiciones. En tanto que la proteasa neutral, la calpaína y la catepsina D, requieren de condiciones menos adversas, ya sea de pH o temperatura.

### c) Kamaboko

La pasta de surimi ya solubilizada con 2 a 3% de sal, al ser sometida a calentamiento rápido por encima de los 70 °C, permitirá la obtención de un gel, el cuál, recibe el nombre genérico de Kamaboko; sin embargo, dependiendo del tipo de procesamiento térmico, o la forma que se le dé, recibirá un nombre específico. Por ejemplo: hampem si es hervido, tempura o satsuma age si es frito, chikuwa si es hervido en forma tubular o detemaki si es enrollado (Suzuki, 1981).

El mecanismo de gelificación del surimi, inducido al someter la pasta a 90 °C, es similar al descrito anteriormente en forma generalizada para productos cárnicos. No obstante, el gel de pescado a obtener, presentará diferentes atributos texturales, dependiendo principalmente de la especie, e influyendo también la frescura, método de captura, estación del año, y tamaño. En general, de especies de músculo blancos se obtienen buenos geles, mientras que los peces grasos

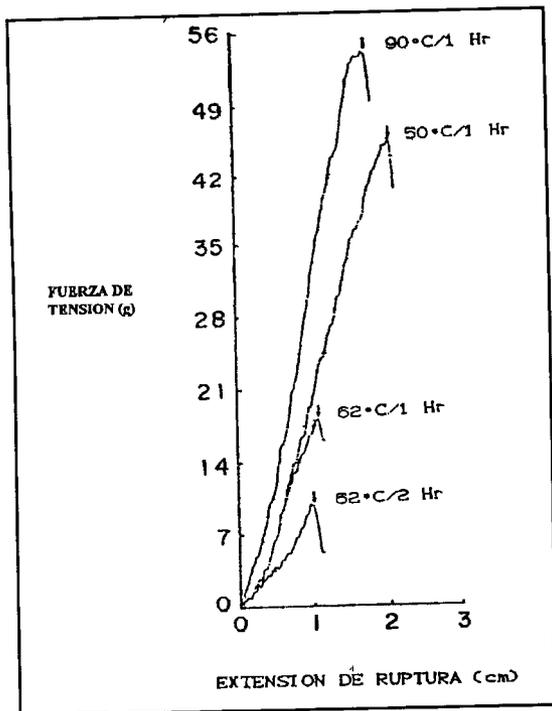
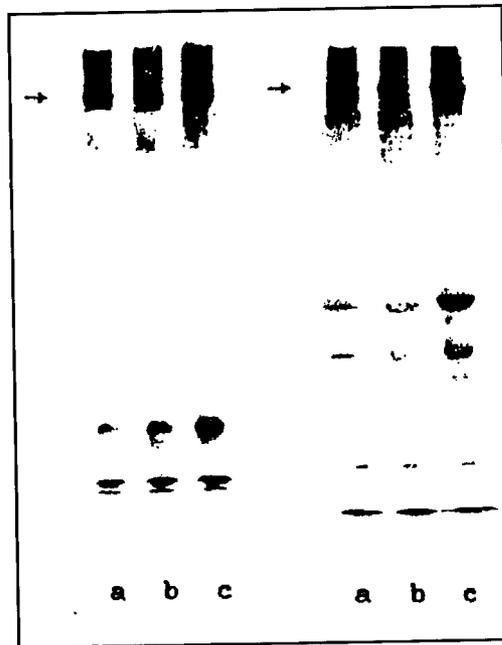


Figura 12. Diagramas de fuerza de tensión, de geles de roncadador blanco. Las flechas indican el punto de ruptura. Las curvas muestran los resultados a 90 °C /1 hr., 50 °C/1 hr., 62 °C/1 hr. y 62 °C/2 hrs. respectivamente, iniciando por la curva superior (Makinodan et al., 1985).

Figura 13. Estudio electroforético en gel de poliacrilamida-SDS de geles de pescado (roncadador blanco). Se empleó 7.5 % (izquierda) y 10 % (derecha) de poliacrilamida. Las letras a, b y c indican que el gel de pescado fue sometido a un tratamiento de 62 °C/1 hr, 62 °C/2 hrs. y 90 °C/1hr respectivamente. Las flechas indican la localización de las cadenas pesadas de meromiosina (Makinodan et al., 1985)



y las especies cartilaginosas proporcionan geles no tan buenos. Al parecer esta diferencia, es ocasionada por una distinta capacidad de formación de enlaces cruzados de la cadena pesada de miosina (Chan et al., 1992a).

La importancia de la cadena pesada de miosina (Fig. 9) en la estabilidad del gel, radica en su alto contenido de grupos sulfhidrilos (-SH), contenidos más de 26 de los aproximadamente 40 grupos SH presentes en esta proteína. Los cuáles tienden a formar enlaces disulfuro desde los 40 °C, pero su formación se incrementa a medida que la temperatura alcanza los 80 °C. (Roussel y Cheftel, 1990; Niwa, 1992; Stone y Stanley, 1992). Esto puede explicar, porqué las cabezas de miosina, tienden a agregar desde los 40 °C, cuando se gelifica esta proteína sola, alcanzando la máxima interacción a partir de los 50 °C, con una mayor participación de los fragmentos HMM-S1. (Taguchi et al., 1987; Yamamoto, 1990; Sharp y Offer, 1992).

Al parecer, las cabezas de miosina permiten la gelificación mediante enlaces cabeza-cabeza, pero las colas de miosina integran la red estructural mediante su asociación, la cuál se cree que inicia a partir de los 50 °C, después de que se ha desdoblado su estructura helicoidal, incrementándose la exposición de sus radicales hidrofóbicos (Taguchi et al., 1987; Chan et al., 1992b; Sharp y Offer, 1992). Esto concuerda con lo dicho por Niwa (1992), quien indica que por encima de los 60 °C, se obtiene la máxima interacción hidrofóbica. Así mismo, con los resultados de Chan et al. (1992b), quienes encontraron empleando la técnica de dicroísmo circular, que a 65 °C se presentó el máximo desdoblamiento de la fracción helicoidal de la miosina de pescado en solución (0.05mg/ml), coincidiendo con la máxima exposición de grupos hidrofóbicos, alcanzada desde los 55 °C, y que fue determinada por el método de ligado de ANS (ácido sulfónico 8-anilina-1-naftaleno).

La participación de la actina F, no ha sido aún determinada específicamente. En suspensiones de proteínas miofibrilares, que fueron inducidas a agregar térmicamente a 40 °C, se observa que la actina y otras proteínas de bajo peso molecular, sólo participaron en el proceso de polimerización a través de interacciones hidrofóbicas, una vez que la mitad de las moléculas pesadas de miosina habían interactuado. Además, la adición de actina F, a geles de miosina gelificados a 40 °C, indujo muy poca variación en la elasticidad de gel, por lo que se piensa, que aunque esta proteína interacciona con la miosina, no juega un papel importante en la formación

de la red estructural. (Stone y Stanley, 1992).

Niwa et al (1989), propusieron que durante el calentamiento a 40 °C, de soluciones de actomiosina de especies de fácil asentamiento (forman geles elásticos a bajas temperaturas), las cadenas pesadas de miosina se disociaron de la actina, troponina y tropomiosina y de las cadenas ligeras, agregando rápidamente para formar el asentamiento proteico o "suwari". Al continuar calentando a 40 °C, observaron que la actina y la tropomiosina se reasociaron, pero no determinaron la naturaleza de esa interacción.

En tratamientos térmicos a 80 °C, se ha encontrado que la elasticidad del gel disminuye al incrementar el contenido de actina-F, por lo que se supone que esta proteína, participa aportando viscosidad al sistema. (Stone y Stanley, 1992).

En geles de Kamaboko, se ha observado un fenómeno interesante: si la masa cárnica se somete a un tratamiento térmico a bajas temperaturas (asentamiento), que van de 0 a 40 °C por tiempos variables, y posteriormente se induce su gelificación a 90 °C, se obtienen mejores atributos texturales, que cuando se realiza la gelificación directamente a 90 °C (Kamath et al., 1992). Este hecho se conoce desde hace tiempo y se considera que es debido a que el asentamiento permite una asociación ordenada, la cuál, durante la gelificación genera una estructura más uniforme (Lanier et al., 1982). Esto concuerda con los resultados de Hermansson (1979), quien encontró, al trabajar con geles de soya y suero, que cuando se permite a la proteína desdoblarse antes de agregar, se obtiene un mejor grado de ordenamiento, lo que favorece la formación de una malla estructural fina y un gel más elástico. En tanto, que con tratamientos térmicos drásticos, que inducen una simultánea desnaturalización y agregación proteínica, se obtiene una estructura irregular, característica de una coagulación o agregación desordenada.

Un trabajo interesante a este respecto, es el desarrollado por Montejano et al. (1984). Estos autores utilizaron la microscopía electrónica, para estudiar las diferencias estructurales de geles de surimi, sometidos a tratamientos de 90 °C por 15 minutos, 40 °C por 1 hora y un gel obtenido aplicando ambos tratamientos (40 °C/1 Hr y 90 °C/15 min.). Encontrando que la muestra calentada directamente a 90 °C, presentó una malla uniforme y muy densa (Fig. 14). El gel obtenido a 40 °C, presentó grandes conglomerados, que aparentemente están menos entrelazados

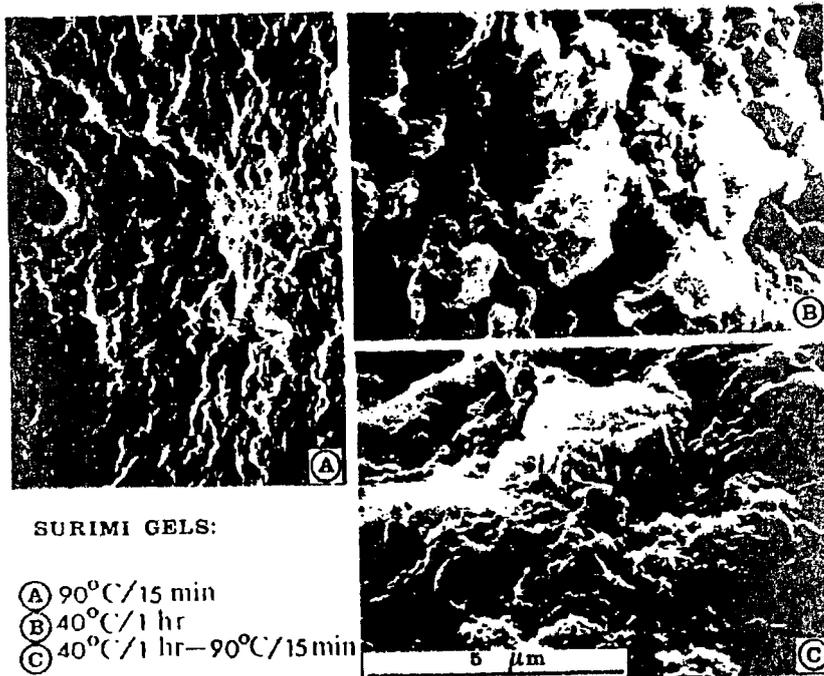


Figura 14. Micrografías de la superficie de 3 muestras de gel de surimi de abadejo de Alaska, preparados con diferentes tratamientos térmicos: A) 90 °C/15 min., B) 40 °C/1 hr., C) 40 °C/1 hr. y 90 °C/15 min.. Ampliación = 7.500 X (Montejano et al., 1984).

que las pequeñas partículas estructurales del gel anterior, lo que podría explicar la poca fuerza de la estructura. Presentó también orificios más grandes en los que se piensa, se encuentra capturada agua y son responsables de la propiedad de deformidad del gel. La muestra obtenida utilizando ambos procesos, mostró algunos de los conglomerados formados en el gel obtenido a 40 °C, pero la matriz proteínica tuvo un mayor entrecruzamiento que en dicho gel y presentó espacios intersticiales más pequeños. Además, este gel se caracterizó, por tener los valores más altos de fuerza y deformabilidad.

### 2.2.7.2 Desnaturalización térmica

Una vez solubilizada la proteína, puede inducirse térmicamente, la transición irreversible del estado sol al estado gel, que involucra cambios conformacionales de la proteína (Yasui et al., 1979; Wicker et al., 1986).

Durante esta etapa, se presenta un fenómeno reconocido como primordial en la formación de un gel: la exposición de grupos reactivos (Fig. 15), lo que facilitará la formación de los enlaces intermoleculares que estructuran al gel. (Karmas y DiMarco, 1970). Este cambio, se debe al rompimiento de los enlaces electrostáticos y puentes de hidrógeno que estabilizan la estructura proteínica. Ambos tipos de interacciones son destruidos durante el calentamiento (Niwa, 1992).

### 2.2.7.3. Agregación ordenada

La transición térmica sol-gel, involucra la formación de una estructura tridimensional, estabilizada fuertemente por interacciones moleculares. (Schmidt et al., 1981; Bernal et al., 1987).

En la gelificación de la proteína muscular, participan los siguientes tipos de enlaces intermoleculares (Niwa, 1992):

- 1) Interacciones electrostáticas entre aminoácidos con carga iónica.
- 2) Puentes de hidrógeno.
- 3) Interacciones hidrofóbicas entre radicales apolares.
- 4) Enlaces disulfuro, formados a partir de grupos sulfhidrilos provenientes de cisteínas.
- 5) Enlaces covalentes no disulfuro, inducidos al parecer sólo en geles de pescado por la enzima transglutaminasa.

Las interacciones electrostáticas y los puentes de hidrógeno, son térmicamente inestables, por lo que se estima que su participación en la formación de la red tridimensional, durante el calentamiento, es mínima. Sin embargo, tienen un papel primordial durante el posterior enfriamiento, confirmando tanto fuerza de gel, como capacidad de retención de agua. (Niwa, 1992).

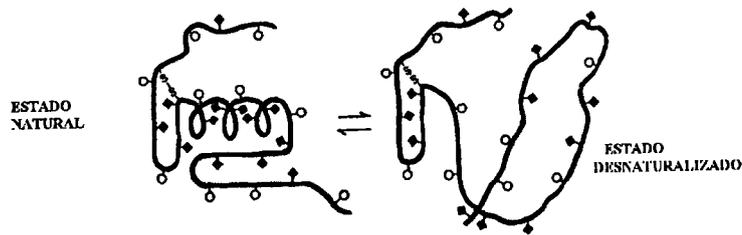


Figura 15. Ilustración esquemática de la desnaturalización de una molécula proteínica. Los círculos abiertos representan las terminaciones iónicas y polares. Los cuadros representan las terminaciones hidrofóbicas. Estas últimas están en la parte interna de la molécula en estado nativo pero son expuestas en mayor o menor grado, durante la desnaturalización térmica (Hultin, 1986).

Contrario a los enlaces electrostáticos y puentes de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro son termoestables (presentan estabilidad durante el calentamiento), por lo que se consideran responsables de la formación de la red proteínica que estructura al gel. (Niwa, 1985; Bernal et al., 1987; Niwa, 1992)

Se estima que la miosina está compuesta en un 25 % por aminoácidos hidrófobos, como alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, triptófano y fenilalanina. Los radicales de dichos aminoácidos, generalmente se encuentran hacia la parte interna de la proteína, evitando el contacto con el agua (Niwa, 1992). Durante la solubilización de la proteína y su posterior desnaturalización térmica, estos grupos quedan expuestos hacia el exterior en mayor o menor grado, dependiendo del grado de desnaturalización inducida, incrementando la inestabilidad del sistema, por lo que tenderán a interactuar entre sí. (Nakai, 1983; Roussel y Cheftel, 1990; Niwa, 1992).

El trabajo de Chan et al. (1992b), permite apreciar la relación existente entre el desdoblamiento de la hélice alfa de la miosina de pescado, inducido térmicamente y el incremento de la hidrofobicidad. Estos autores, empleando la técnica de dicroísmo circular, encontraron que soluciones de miosina (0,05 mg/ml), de tres especies de pescado (bacalao, arenque y merluza plateada), presentaron una disminución en su contenido de estructura secundaria hélice alfa desde los 25 °C, perdiendo más del 50% de dicha estructura al llegar a los 40 °C, y el total de ella a los

65 °C. Por otra parte, encontraron que la hidrofobicidad superficial (determinada por el método de ligado de ANS, ácido sulfónico 8-anilina-1-naftaleno), incrementó más del 60% al llegar a 40 °C, y alcanzó el máximo nivel a los 55 °C. Sin embargo, aunque los tres tipos de miosina comenzaron a agregar desde los 20 °C, alcanzando su máximo nivel a los 60 °C, el grado de agregación dependió de la especie, disminuyendo en intensidad en el siguiente orden: bacalao, merluza plateada y arenque. Por lo que el incremento en la hidrofobicidad superficial, no es el único mecanismo que permite la agregación proteínica.

A través de diferentes trabajos de investigación, se ha logrado comprobar la participación de los enlaces disulfuro, en la gelificación de las proteínas miofibrilares, formadas por la oxidación de radicales cisteína.

Okada et al. (1973), encontraron que la elasticidad de geles de pescado (Kamaboko), era mayor al disminuir el número de grupos sulfhidrilos libres en el producto, por la adición de bromato de potasio, el cuál es un agente oxidante que favorece la formación de enlaces disulfuro.

Lanier et al. (1982), incubaron geles de actomiosina (10% de proteína p/v), a 40 °C durante 90 minutos. Encontrando que durante los primeros 15 minutos, el gel presentó un 30% del incremento total en la dureza (N/g; Instron). Coincidiendo con la pérdida total de grupos sulfhidrilos (-SH), actividad de ATPasa y solubilidad. En tanto que a 30 °C, a los 90 minutos de incubación, estos parámetros se modificaron en menos de un 20% de su valor inicial (Fig. 16).

Rausel y Cheftel (1990), encontraron que la incorporación de bajas concentraciones de agentes reductores, como mercaptoetanol, ditiotreitól y cisteína, mejoraron la textura de geles incubados a 37 °C por 30 minutos, y cocidos posteriormente a 90 °C por 50 minutos. A este respecto, Niwa (1992), señala que ésto puede deberse a que se favorece el rompimiento de enlaces intramoleculares, lo que permitiría un mayor desdoblamiento de la proteína y durante el calentamiento, participarían en la formación de enlaces intermoleculares. La adición de altas concentraciones provocó daños en la textura de los geles estudiados.

Recientemente se ha encontrado la posible participación de la enzima transglutaminasa, en la formación de enlaces covalentes no disulfuro, en geles de pescado sometidos a incubación a 25-40 °C, por tiempos variables. Esta enzima requiere de iones calcio para catalizar la transferencia de un grupo acilo. Generalmente el grupo  $\tau$ -carboxiamida de un radical de glutamina, es el

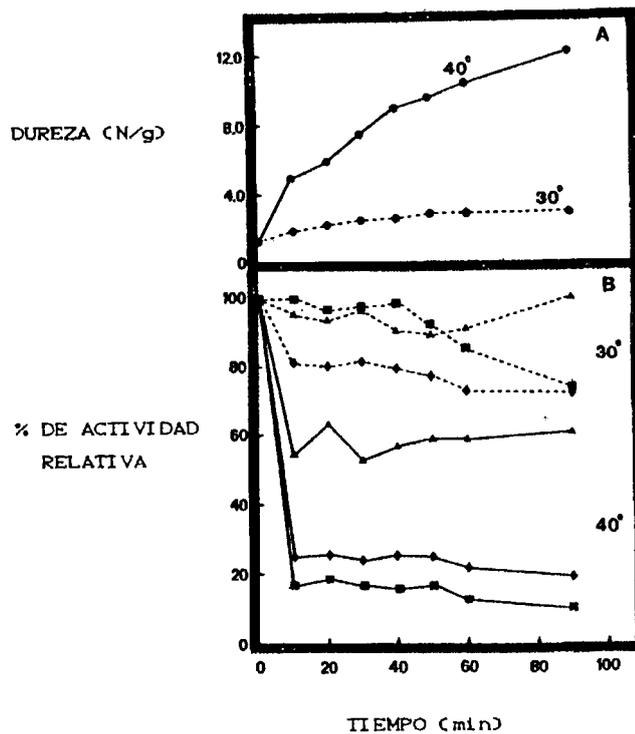


Figura 16. Cambios fisicoquímicos en geles de actomiosina, incubados a 30 y 40 °C durante 90 min.

(A) Cambios en valores de dureza determinados en Instron (Mod. 1130). Velocidad de cabezal de 100 mm/min y celda de compresión de 50 Kg. Las muestras contenían 2 % de sal y 78 % de humedad y medían 2,54 cm de longitud y 1.27 cm de diámetro.

(B) Porcentaje de cambios en :

▲-▲ Grupos sulfhidrilos.

■-■ Actividad de ATP-asa.

◆-◆ Solubilidad de proteína (0.6 N de cloruro de sodio).

Los puntos indicados son el promedio de 3 a 6 muestras (Lanier et al., 1982).

donador del acilo, que se transfiere a un reactivo nucleofílico, como lo es el grupo  $\epsilon$ -amino de la lisina o el agua. Formándose un nuevo enlace isopeptídico  $\epsilon$ -( $\tau$ -glutamil)-lisina, con la liberación de amonio. (Kamat et al., 1992)

Los pasos que integran la gelificación de la proteína miofibrilar, hasta aquí descritos, se esquematizan en la Fig. 17.

El mecanismo de gelificación, es semejante en todos los músculos de animales vertebrados. Sin embargo, en cada uno se presentan distintas transiciones térmicas. Esto es debido, a que cada

sistema muscular presenta cambios en las conformaciones de sus proteínas, a diferentes temperaturas y con un grado distinto de intensidad, lo que ocasiona que los geles obtenidos difieran en sus propiedades texturales. (Montejano et al., 1984)

#### 2.2.8. Capacidad de retención de agua (CRA)

El agua es el principal componente de todos los tejidos musculares. Se encuentra principalmente en el tejido magro; el tejido adiposo es pobre en agua (Price y Schweigert, 1976).

La capacidad de retención de agua (CRA), se define como la capacidad que tiene la carne de retener su agua, durante la aplicación de una fuerza externa, como puede ser, cortes, calentamiento, trituración y prensado.

La unión y alineación del agua con respecto a los grupos hidrofílicos de las cadenas de las proteínas (carboxilos, amino, amida e hidroxilo), las cuales se establecen por medio de los puentes de hidrógeno, generan una clasificación, con delimitaciones aún no muy definidas, y que son: agua ligada, inmovilizada y libre (Forrest et al., 1979).

Los factores que afectan la capacidad de retención de agua en las proteínas musculares se pueden deber a diversos factores como son: Tipo y la calidad de la carne, el pH, y la condición de la carne (por ejemplo: tiempo pos-mortem, estado fresco o congelado, etc.). Así también se ve involucrada la formulación, es decir, la relación carne y agua fría añadida, la relación del volumen de la matriz (carne + agua fría) y el volumen de grasa, la fuerza iónica y el uso de aditivos.

Otros factores que intervienen en la capacidad de retención de agua son:

-el tratamiento mecánico, esto incluye el orden de adición de los ingredientes, el tiempo de picado, la desintegración de las fibras cárnicas y miofibrillas, la temperatura de picado, y el grado de desintegración de la grasa (superficie interfacial).

-el tratamiento térmico, que puede ser por ahumado, pasteurización, esterilización o combinación de métodos.

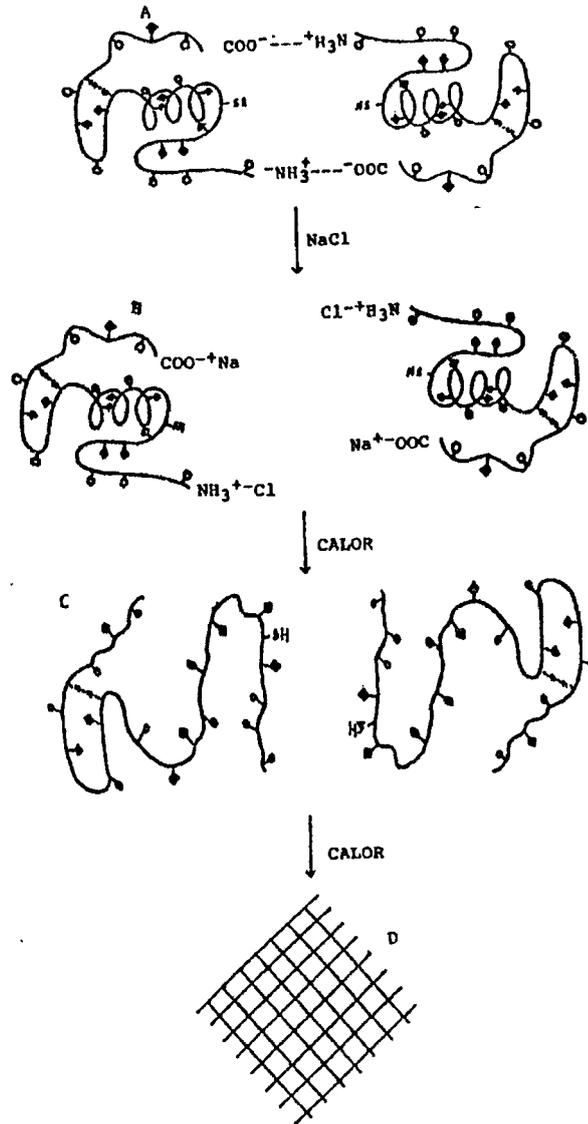


Figura 17. Etapas implicadas en la gelificación térmica.

A. Proteínas unidas mediante enlaces electrostáticos. Los radicales hidrofílicos (o) tienden a estar hacia el exterior y los hidrofóbicos ( ) hacia el interior.

B. Los iones de la sal sustituyen los enlaces electrostáticos, permitiendo solubilizar las proteínas.

C. El calentamiento induce cambios conformacionales, con exposición de grupos reactivos.

D. Se forma la red tridimensional que estructura el gel, mediante interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro.

(Adaptado de Anglemier y Montgomery, 1976; Suzuki, 1981; Niwa, 1985).

### **3. HIPOTESIS**

En base al hecho de que la proteína miofibrilar de pescado, desnatura y agrega durante el almacenamiento en congelación, afectándose negativamente sus propiedades funcionales, tales como solubilidad, capacidad de retención de agua y capacidad de formación de gel, se plantean las siguientes hipótesis.

3.1. El empleo de pH alcalino (10), durante el proceso de lavado del surimi obtenido de músculo de pescado congelado, incrementará la solubilidad, capacidad de retención de agua y capacidad de gelificación de las proteínas miofibrilares.

3.2. La presencia de un agente reductor en el agua de lavado, permite recuperar las propiedades de solubilidad, capacidad de retención de agua y capacidad de gelificación de las proteínas miofibrilares de músculo de pescado congelado.

### **4 OBJETIVOS.**

#### **4.1. OBJETIVOS GENERALES.**

Estudiar los cambios de las propiedades funcionales que presenta el músculo de mojarra tilapia (*Tilapia nilotica*), durante su almacenamiento en congelación a -20 °C, durante 30 días.

Determinar la posibilidad de revertir los cambios en la pérdida de aptitud gelificante que sufren las proteínas miofibrilares durante su almacenamiento en congelación, mediante el lavado a pH alcalino y la presencia de un agente reductor en el agua de lavado.

## **4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

Establecer el efecto que tiene el lavado del músculo fresco con agua a pH alcalino (10), sobre la solubilidad, capacidad de retención de agua, capacidad de gelificación, atributos de color y temperatura de transición (Tmax) de las proteínas miofibrilares de pescado.

Establecer el efecto que tiene el lavado del músculo congelado de pescado con pH alcalino (10), sobre las propiedades funcionales descritas anteriormente, comparando su comportamiento con el de músculo fresco.

Determinar el efecto que tiene la incorporación de un agente reductor al agua de lavado en la reversión del daño provocado por la congelación del músculo de pescado a -20 °C durante 30 días, midiendo los cambios en la solubilidad, capacidad de retención de agua y capacidad de gelificación.

## **5 METAS.**

Generar conocimiento sobre la posibilidad de revertir el deterioro de las propiedades funcionales de la proteína miofibrilar de pescado, que se presenta por almacenar en congelación el músculo de pescado fresco.

Obtener información sobre la posible utilización de una especie nacional (Mojarra tilapia), que se siembra y se cultiva en el Estado de Querétaro, y que aún no se explota comercialmente; la cuál pudiera ser procesada como surimi.

## 6. MATERIAL Y METODOS

### 6.1. MATERIALES

6.1.1. Materia prima: Mojarra tilapia (*Tilapia nilotica*) capturada de la presa Colón ubicada en el municipio de Querétaro del mismo nombre. El pescado fresco se eviscera, descabeza y almacena en hielo durante 12-16 hrs, para el paso del **rigor mortis**.

### 6.2. METODOS

#### 6.2.1. Obtención de la pasta de surimi

El procedimiento seguido se muestra en la Fig. 18.

1. Una vez obtenido el pescado (*T. nilotica*) se procedió a descabezarlo, descamarlo y a lavarlo.
2. Primeramente se descamó el total de los pescados, en segundo lugar se descabezó y se le quitó la cola y por último se lavó procurando que fueran eliminadas todas las vísceras.
3. Una vez realizadas todas las operaciones anteriores se procedió a enhielar el pescado, en capas, (una de hielo y una de pescado) hasta el paso del rigor de 12 a 16 hrs. (2-4 °C) (Sonu, 1986; Toyoda et al., 1992).
4. Una vez pasado el rigor mortis se procedió a filetear y se retiró la piel del filete.
5. Para lo descrito anteriormente se mantuvo una temperatura inferior a 10 °C, lo cual se obtuvo manteniendo en hielo el pescado en cada operación (Toyoda et al., 1992).
6. En la molienda del filete se utilizó un molino de carne (NIETO) con un cedazo de 8 mm.. La operación del molido de la carne se hizo dos veces (Modificación al método de Okada (1992)).
7. Para obtener el surimi se pesó la carne molida para obtener la relación de agua de lavado que fué de 1kg:3L (Lee, 1986). El lavado se realizó en tres ocasiones con eliminación de agua en forma manual utilizando una tela de manta de cielo que permitió la eliminación máxima de la misma. Cada ciclo de lavado se realizó en forma manual con un tiempo de agitación (10 min.) y un tiempo de reposo (10 min.) realizándose la operación con una pala, con posterior eliminación del agua, (Modificación de Suzuki, 1991; Lee, 1986; Sonu, 1986). La temperatura del agua de lavado fué inferior a 10 °C durante el proceso (Toyoda et al., 1992).
8. Para el presente estudio el pH elevado de 10.0 se modificó, en el segundo y tercer ciclo de

lavado durante el tiempo de agitación con posterior ajuste al pH requerido en el tiempo de reposo (7, 6 ó 5 según el tratamiento). En todos los tratamientos el primer ciclo se realizaba a pH=7.

9. El ajuste del pH se realiza con NaOH (solución 0.5 M) o HCl (solución 0.5 M) según se requiera y utilizando un potenciómetro calibrado en el rango y temperatura de trabajo.

10. El surimi obtenido del tratamiento control, fue constante e igual a 7, tanto para el lavado como el reposo y tuvo una consistencia blanca, libre de aroma y de sabor fuerte a pescado.

PESCADO FRESCO O CONGELADO (30 DIAS, -20°C)  
DESCABEZADO, EVISCERADO Y LAVADO  
PESCADO DESMENUZADO (MOLIDO)  
LAVADO CON AGUA FRIA ( 10°C)  
(3 veces)  
ELIMINACION DEL AGUA DE LAVADO  
SURIMI CRUDO  
SOLUBILIZACION CON SAL  
(2.5% w/w NaCl)  
TRATAMIENTO TERMICO  
GEL DE SURIMI  
ANALISIS

Figura 18. Diagrama de proceso de la elaboración de surimi.

### 6.2.2. Medición del pH de la pasta de surimi

1. La medición del pH en la pasta de surimi se realizó por dos maneras:

a) directamente, introduciendo el electrodo previamente calibrado y tomando la lectura indicada por el potenciómetro. Se hizo un poco de presión del surimi contra el electrodo, con el fin de obtener una lectura adecuada.

b) colocando una cantidad del mismo en agua desionizada a 10 °C. se agitó suavemente con el fin de homogenizar, se introdujo el electrodo en la suspensión y se tomó la lectura de pH (Egan et al., 1987).

### 6.2.3. Determinación de humedad

La determinación de humedad, tanto de las pastas de surimi, como de los geles procesados de cada una de ellas, obtenido por los diferentes tratamientos de lavado, se efectuó acorde con el método estándar de la AOAC (1990), de secado por estufa a 100 °C durante un período de 18 hrs. o hasta obtener una lectura de peso constante.

### 6.2.4. Determinación de color de pasta de surimi

Físicamente, el color es una característica de la luz, la cual es medida en términos de intensidad (energía radiante) y longitud de onda. El fenómeno de color la energía radiante que percibe el ser humano en forma consciente a través de sensaciones visuales las cuales surgen de la estimaciones de la retina del ojo. La percepción de color a través de un instrumento es limitada a la fuente de iluminación, la cual, emite longitudes de onda no visibles al ojo humano. Es claro entonces, la necesidad de estándares de iluminación, los cuales vienen a ser establecidos por la International Commission of Illumination. Esto es:

Iluminante A. Lámpara incandescente (2854 °K); Iluminante B. Luz de medio día (5000 °K); Iluminante C . luz del norte (6800 °K). La luz puede ser reflejada, transmitida, absorbida o refractada por el objeto radiado.

Cuando prácticamente toda la energía radiante en el espectro visible es reflejada de un cuerpo o superficie opaca, el objeto aparece como blanco. Si la luz es parcialmente absorbida, entonces el objeto aparece como gris, Si la luz es prácticamente absorbida por completo, entonces

el objeto es de color negro (Kramer and Twigg, 1970).

En la determinación de color se empleó un espectrofotómetro CM-2002 (Minolta Camera Co., LTD. JAPAN).

#### 6.2.5. Solubilidad de la pasta de surimi

1. Se colocaron 2.5 g. de surimi en 25 mL agua desionizada, solución reguladora de pH, etc., las cuales se encontraban a temperatura inferior a 10 °C, se procedió a homogenizar la suspensión en tubos de centrifuga de 60 mL.
2. Con el fin de tener una homogenización lo más completa posible ésta se hace por medio del ultra turrax T25 a una velocidad de 9,500 rpm (López et al., 1995).
3. Una vez que se homogenizó el contenido de los tubos, estos se centrifugaron bajo refrigeración (10,000 rpm/ 15 min. a 2 °C).
4. Se analizó el contenido de proteína del sobrenadante por el método de Lowry. La cantidad de proteína soluble se expresó en mg de proteína/mL de sobrenadante (fracción que contiene la proteína soluble)

#### 6.2.6. Determinación del contenido de proteína de soluciones de surimi por el método de Lowry

El color azul producido por el método de Lowry es el resultado de la reacción de  $\text{Cu}^{2+}$  con los enlaces peptídicos de las proteínas y la reducción del ácido fosfomolibdico por los residuos de tirosina y triptófano. El color es predominante desde el inicio de la reacción, y depende grandemente del contenido de tirosina y triptófano que contiene la proteína y es variable de una proteína a otra. Este método tuvo ventaja sobre los métodos existentes, ya que es alrededor de 100 veces más sensible que el método de Biuret.

**Reactivo A.** Disolver 20 g de NaOH en 800 mL de agua destilada y añadir 100 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , finalmente aforar a 1,000 mL.

**Reactivo B.** Disolver 5 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 500 mL de agua destilada.

**Reactivo C.** Disolver 5 g de tartrato de K en 500 mL de agua (Laemli, 1970).

1. Se mezclaron 15 mL de reactivo A, 750  $\mu\text{L}$  de reactivo B y 750  $\mu\text{L}$  de reactivo C.
2. Se mezclaron 300  $\mu\text{L}$  de la solución proteica (0.2 mg/mL aproximada) a analizar, como se

describió en el apartado de solubilidad de la pasta de surimi, con 300  $\mu$ L de la mezcla de reactivos A, B y C.

3. Se agitaron los tubos vigorosamente dejándolos reposar 15 min. a temperatura ambiente.
4. Se mezclaron 5 ml de reactivo folin-fenol en 50 mL de agua destilada en un matraz E.M. y se agitó fuertemente.
5. Al cabo de los 15 min. se adicionó a los tubos 1 mL del reactivo de folin-fenol. Agitando rápida, fuerte y brevemente cada tubo antes de proseguir.
6. Los tubos se dejaron reposar 45 min., al cabo de los cuáles se leyó su absorbancia en el espectrofotómetro a 540 nm. de longitud de onda y con los parámetros de la mejor correlación conforme a la curva de calibración ( $P_0 = -0.024$ ,  $P_1 = 0.6203$  y  $P_2 = 0.0000$ ), la cual nos da directamente los mg de proteína por mL de solución.

#### 6.2.7. Estudio del patrón electroforético de las pastas de surimi

1. Empleando el sobrenadante resultante del paso 3 del punto 6.2.6. se mezclaron 300  $\mu$ L de solución reguladora para muestra ( SDS desnaturalizante) y 300  $\mu$ L del sobrenadante.
2. Las muestras se disociaron mediante calentamiento a Baño María durante 3 minutos.
3. Las electroforesis se llevó a cabo en geles de poliacrilamida al 7 % con una corriente de 30 mA por gel, llavándose a fin cuando el marcador de bromofenol alcanzó la parte baja del gel.

Para la fabricación de los geles de poliacrilamida se empleó la técnica propuesta por Laemli (1970), los cuales fueron preparados a partir de una solución de reserva, conteniendo 30 % en peso de acrilamida y 0.8 % en peso de N, N'-bis-metilacrilamida. Los cuales contenían 0.35 M de solución de Tris-HCl (pH= 8.8) y 0.1 % de Dodecil sulfato de sodio (SDS). Los geles fueron polimerizados químicamente por la adición de 0.025%, en base al volumen, empleando tetrametiletiléndiamina (TEMED) y persulfato de amonio como catalizador e iniciador de la reacción. La solución reguladora para muestra contiene 2 % de SDS, 5% de 2-mercaptoetanol, 62.5 mM de Tris-HCl (pH= 6.8) y 0.001 % de azul de bromofenol como colorante. Las proteínas fueron fijadas en el gel con 50 % de ácido tricloroacético, teñidas por solución de azul brillante de Coomassie de reciente preparación en 50 % de ácido tricloroacético, y se destiñeron por difusión, mediante lavados repetidos en ácido acético al 7 %

#### 6.2.8. Análisis calorimétrico de las pastas de surimi

Para el análisis calorimétrico se emplearon las pastas de surimi recién procesadas, provenientes de diferentes tratamientos de lavado a partir de pescado fresco y congelado (30 días).

Las muestras de surimi de cada uno de los diferentes tratamientos fueron pesadas (10-15 mg) en celdas especiales de aluminio, utilizando una microbalanza (Perkin-Elmer AD-4 Autobalance). Las muestras ya pesadas se analizaron empleando un calorímetro Perkin-Elmer DSC-7, empleando un barrido de análisis calorimétrico de 10 °C a 100 °C a una velocidad de 10 °C / minuto.

De el análisis realizado para cada uno de los diferentes termogramas se obtuvo la  $T_{máx}$  de temperatura y los valores de energía de transición para los picos correspondientes a miosina y actina principalmente.

#### 6.2.9. Obtención del gel de surimi a través del tratamiento térmico

1. Una vez obtenido el surimi a partir del pescado fresco ó congelado y tras haberle determinado la humedad (la cual se encuentra alrededor del 81 %), ésta se ajustó a un 85 %.
2. Se determinó el peso para calcular la cantidad de NaCl para tener el 2.5 % de sal en base al peso de la carne que tuvo un 85 % de humedad constante independiente del tipo de tratamiento (control, pH ó agente reductor)
3. Se colocó la carne en la cortadora adicionando lentamente la sal. En este paso se obtuvo la solubilización de la carne, que adquirió una consistencia pegajosa en su totalidad (Shimizu, 1985).
4. El proceso se realizó a una temperatura inferior a 10 °C, ésto se logra enfriando los componentes de la cortadora y procurando no prolongar mucho el tiempo de operación en el momento de solubilizar.
5. Una vez obtenida la pasta se introdujo manualmente en los tubos metálicos diseñados para la fabricación homogénea de los geles durante el cocimiento (2.54 cm de diámetro por 10 cm. de largo), los cuáles se encontraban recubiertos de un poco de aceite en su interior. El llenado se hizo en un solo paso y de una forma rápida para evitar el calentamiento de la pasta. Los tubos una vez tapados se enjuagaron y se sometieron al proceso térmico (40 °C por 30 min./90 °C por 30 min.) conocido como suwari-kamaboko previamente seleccionado.

6. Finalizando el proceso térmico los tubos se enfriaron bruscamente en hielo, permaneciendo a temperatura inferior a 10 °C durante un período de 16-18 hrs. para su maduración.

7. Para el desmoldado se empleó un émbolo plástico para sacar los geles contenidos en ellos y proceder a un análisis posterior.

#### 6.2.10. Análisis del perfil de textura

La determinación de los parámetros texturales que caracterizan a un alimento (dureza, cohesividad, adhesividad, resortividad, elasticidad, etc.) ha llevado a desarrollar un instrumento de medición el cual proporcione una respuesta lo más objetiva posible (Texturómetro). Este, sin embargo, no reemplaza por completo la evaluación sensorial hecha por un panel entrenado, sin embargo, el empleo de este instrumento proporciona una reproducibilidad de las pruebas, donde las respuestas obtenidas no poseen la variable de la experiencia individual de cada panelista.

Uno de los instrumentos empleados para la determinación de las propiedades texturales, y que precede al instrumento actual, es el llamado tenderómetro desarrollado por Proctor et al. (1956), en donde, se pretendía asemejar lo más posible una cavidad bucal adaptada, para la medición de los parámetros, con sensores de presión e instrumentos fotográficos, durante el proceso de masticación. El instrumento evoluciona y se desarrolla el llamado texturómetro, el cual, relaciona los diferentes parámetros obteniendo una serie de respuestas relacionadas de manera significativa con la definición de textura según Szczesniak (1962), conocido como análisis de perfil de textura APT.

De los geles obtenidos a partir del proceso térmico, una vez desmoldados se procedió a cortar el cilindro obtenido en cilindros más pequeños (2.54 cm. de diámetro por 3 cm. de largo), los cuales se temperaron al ambiente (20°C) en un recipiente tapado, con el fin de evitar la pérdida de humedad de los geles, para su posterior análisis.

Las probetas se colocaron en un analizador de textura (TA-HD), el cual se había calibrado conforme al manual de operación, los parámetros utilizados en las pruebas de análisis con 50 % de compresión de la muestra (porcentaje tomado de un análisis previo de compresiones de los cuales el más conveniente fue 50 %), con una sonda de 5 cm. de diámetro, la cual poseía una velocidad de pre-prueba de 1 mm/s, 2 mm/s durante la prueba y 1 mm/s para la pos-prueba.

Una vez terminado el ciclo de prueba, el programa de análisis integrado al equipo permitió hacer el análisis de la curva generada en cada prueba (Fig. 19). Los parámetros que se tomaron, fueron: Dureza (Kilogramos), Cohesividad (adimensional), Masticabilidad (adimensional), Gomosidad (adimensional) (Pacheco et al., 1989), Módulo inicial, ó Módulo de elasticidad (dinas/cm<sup>2</sup>), Resortividad (adimensional), Altura (cm).

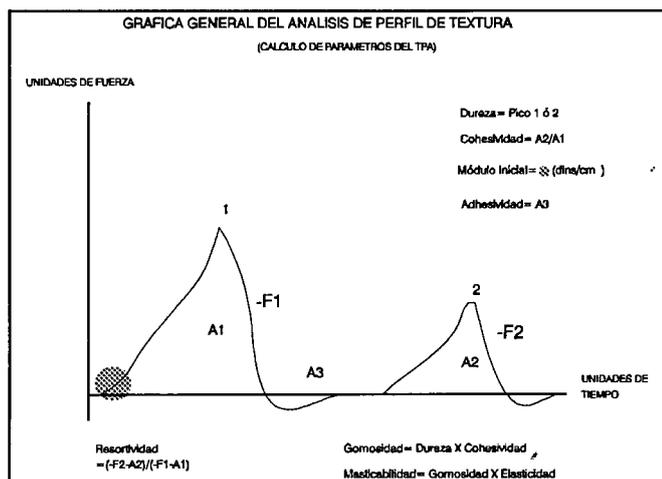


Figura 19. Curva típica del Análisis del Perfil de Textura (APT) (Szczesniak , 1962).

### 6.2.11. Capacidad de retención de agua de los geles de surimi (CRA)

1. A los geles de surimi obtenidos se les dejó en un recipiente cerrado para evitar la pérdida de humedad, se hicieron cortes representativos de los geles a lo largo del mismo, de tal forma que se obtuvieron pequeñas rodajas de 4-5 mm. de grosor por 2.54 cm. de diámetro.
2. Procurando la menor pérdida de humedad se pesan mitades de rodajas en papel filtro previamente tarado y se registraron los pesos iniciales de cada gel.
3. Posterior al registro de peso, los geles envueltos fueron introducidos en los tubos de la centrífuga refrigerada (10,000 x g / 15 min. a 4 °C).
4. Pasado el tiempo de centrifugación se registró el peso perdido por cada gel por diferencia.
5. La capacidad de retención de agua (CRA) se expresó como: a) gramos de agua perdida por gramos de masa inicial, b) gramos de agua retenida por gramo de masa seca ó sólidos totales y c) gramos de agua retenida por gramo de proteína (estimada por Kjendhal).

## 7. DISEÑO EXPERIMENTAL

### 7.1. Primera etapa. Selección del tratamiento térmico de la pasta de surimi

Se estableció el efecto del tratamiento térmico sobre la aptitud gelificante y la capacidad de retención de agua. Se determinó si esta especie presenta los fenómenos denominados modori y suwari. Los tiempos y temperaturas se determinaron en el centro del gel. Los tratamientos térmicos empleados fueron:

- 1) suwari-kamaboko: 40 °C - 30 min. y 90 °C -15 min.
- 2) modori: 60 °C - 1 hr.
- 3) kamaboko: 90 °C - 15 min.

### 7.2. Segunda etapa. Selección del método de lavado en la obtención de la pasta de surimi

Se determinó el efecto del pH final del agua de lavado sobre las propiedades de gelificación y capacidad de retención de agua (CRA) de los geles de pescado y solubilidad del extracto proteico (SEP) del surimi obtenido de cada uno de los tratamientos de pH que se mencionan a continuación.

Se estudiaron los siguientes métodos de lavado y cada uno de ellos determinó la SEP.

TRATAMIENTO 1. Los 3 lavados a pH = 7. Código (pH=7) CONTROL

TRATAMIENTO 2. 1<sup>er</sup> lavado pH = 7, 2<sup>o</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 7, 3<sup>er</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 7. Código (pH=10-7).

TRATAMIENTO 3. 1<sup>er</sup> lavado pH = 7, 2<sup>o</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 6, 3<sup>er</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 6. Código (pH=10-6).

TRATAMIENTO 4. 1<sup>er</sup> lavado pH = 7, 2<sup>o</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 5, 3<sup>er</sup> lavado pH = 10 y retorno a pH = 5. Código (pH=10-5).

Después de los lavados se procedió a obtener los geles de pescado según el procedimiento térmico combinando los procesos de suwari-kamaboko que se seleccionó de la parte A indicada en el párrafo anterior. De los geles resultantes de cada uno de estos cuatro tratamientos se determinó la CRA.

7.3. Tercera etapa. Efecto del pH del agua de lavado y de la presencia de un agente reductor en la aptitud gelificante y CRA del gel de surimi a partir de músculo de pescado fresco y congelado.

Una vez seleccionado el pH de lavado más adecuado para la elaboración del surimi se pasó a la tercera parte del trabajo experimental en la que se determinó, bajo el siguiente diseño experimental, el efecto de un agente reductor sobre las características del surimi fabricado a partir de pescado congelado.

Factores estudiados	Niveles estudiados	
Tiempo de congelación del pescado a -20 °C (días)	0	30
Agente reductor (eritorbato de sodio)	0	0.2 % m/v
pH del agua de lavado	7	(10-6)

Se realizaron al menos tres repeticiones de este diseño experimental.

Los geles de surimi "control", se obtuvieron a partir de pescado fresco (o días de congelación), sin eritorbato y con un pH de 7 en los tres lavados.

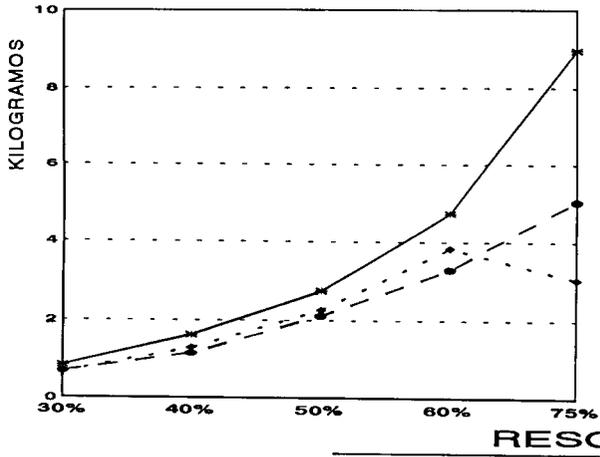
La temperatura de congelación se mantuvo constante e igual a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ . El tratamiento térmico empleado para la elaboración de todos los geles fue el seleccionado de la parte A (Suwari-Kamaboko).

## CONDICIONES GENERALES

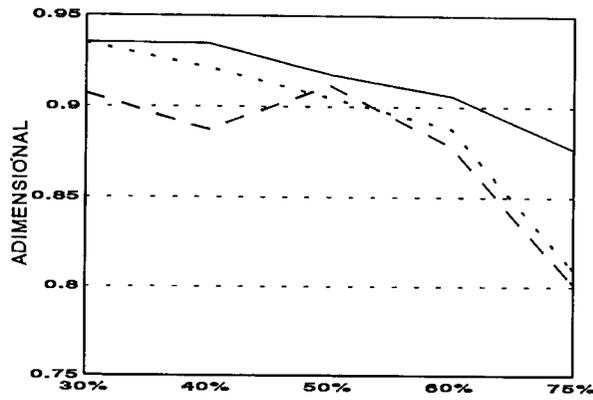
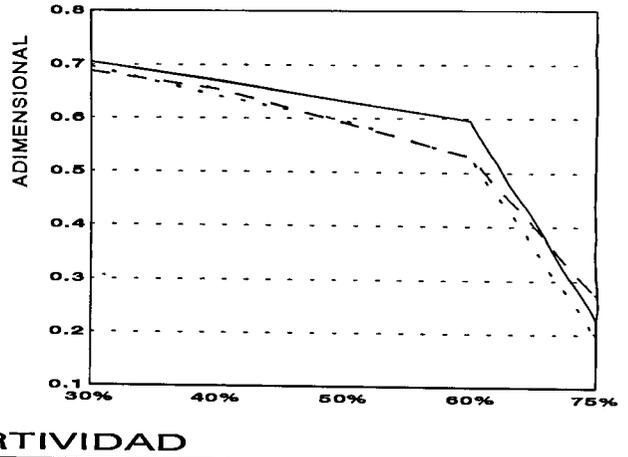
En base a la revisión bibliográfica y a resultados previos a este trabajo se establecieron las siguientes condiciones:

- Pescado fresco, 24 horas posmortem, almacenado en hielo, después de eviscerar, enjuagar y descabezar.
- Agua de lavado a pH = 7.0 ó 10.0 a 10°C, desionizada.
- Relación de agua: músculo (3L/1Kg).

**DUREZA**

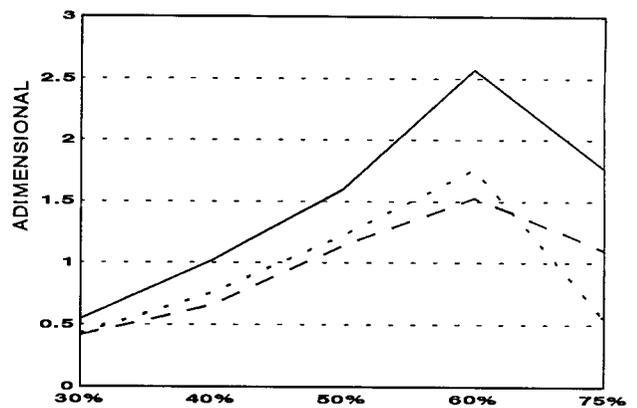
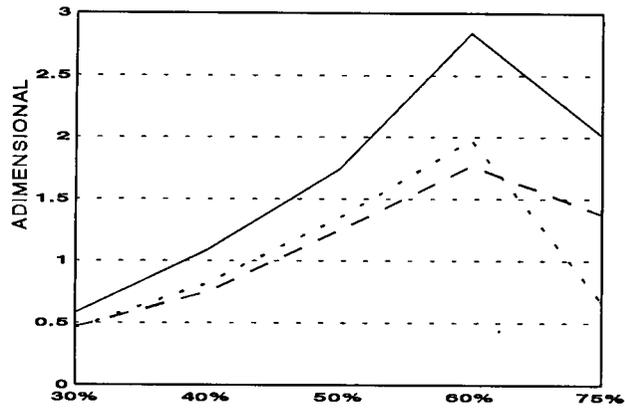


**COHESIVIDAD**



**GOMOSIDAD**

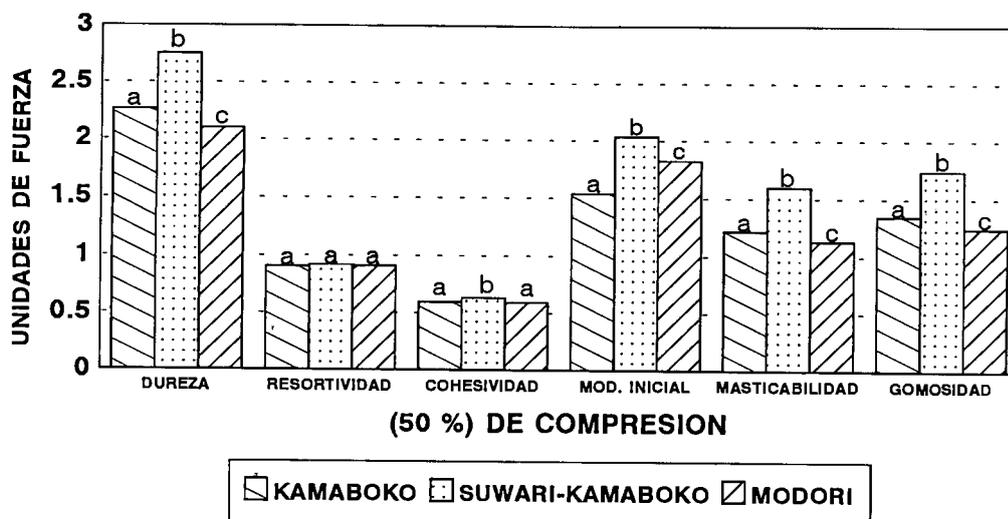
**MASTICABILIDAD**



-Suwari-kamaboko ....Kamaboko ---Modori.

Figura 20. Efecto del % de compresión sobre el Análisis de Perfil de Textura de geles de surimi a partir de pescado fresco (*T. nilotica*).

## ANALISIS DE PERFIL DE TEXTURA DIFERENTES TRATAMIENTOS TERMICOS



a,b,c. Letras distintas indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos térmicos. Módulo inicial  $\times 10^{-5}$ . Valores promedio de 2 experimentos con 6 repeticiones.

Figura 21. Efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades texturales del gel de surimi, a partir de pescado fresco (*T. nilotica*).

Cuadro 1. Correlación entre el por ciento de compresión (30-60%) y los parámetros del análisis de perfil de textura para cada tratamiento térmico

Parámetro	KAMABOKO		SUWARI-KAMABOKO		MODORI	
	R <sup>2</sup>	P	R <sup>2</sup>	P	R <sup>2</sup>	P
Dureza	0.8759	0.0001	0.9289	0	0.9381	0
Cohesiv.	0.9588	0	0.9674	0	0.9240	0
Resortiv.	0.4974	0	0.2537	0	0	0.0041
Gomo.	0.8941	0.002	0.9418	0	0.9582	0
Mastic.	0.8871	0.0097	0.9447	0	0.9374	0

en pH alcalino, incrementa la extracción de los compuestos que dan la pigmentación al músculo, principalmente hemoglobina y mioglobina.

En geles de pescado, se ha encontrado, que el empleo de pH alcalino, permite la solubilización de las pastas cárnicas durante la etapa de cortado, sin la necesidad de incorporar NaCl al 2-3%, que es requisito indispensable para formar un buen gel bajo condiciones normales de proceso.

En esta etapa, el objetivo fue determinar el efecto de lavar la carne de pescado con pH alcalino, para determinar la posibilidad de resolubilizar la proteína miofibrilar, estableciendo el efecto sobre músculo fresco y músculo congelado.

La carne de pescado molida, se sometió a un proceso de lavado alcalino (pH 10); para establecer el efecto que este método tiene sobre las proteínas miofibrilares. Sin embargo, bajo estas condiciones, la pasta cárnica solubilizó casi completamente, lo que provocó que durante la eliminación del agua de lavado, se perdiera hasta un 50% de la proteína miofibrilar. Por ello fue necesario reajustar el pH antes de eliminar el agua de lavado, por lo que se ajustó nuevamente el pH del homogeneizado (agua de lavado-músculo solubilizado), antes de extraer el agua. Se escogieron tres pH finales 7, 6 y 5. Como control, se lavó un músculo con agua ajustada a pH 7.0.

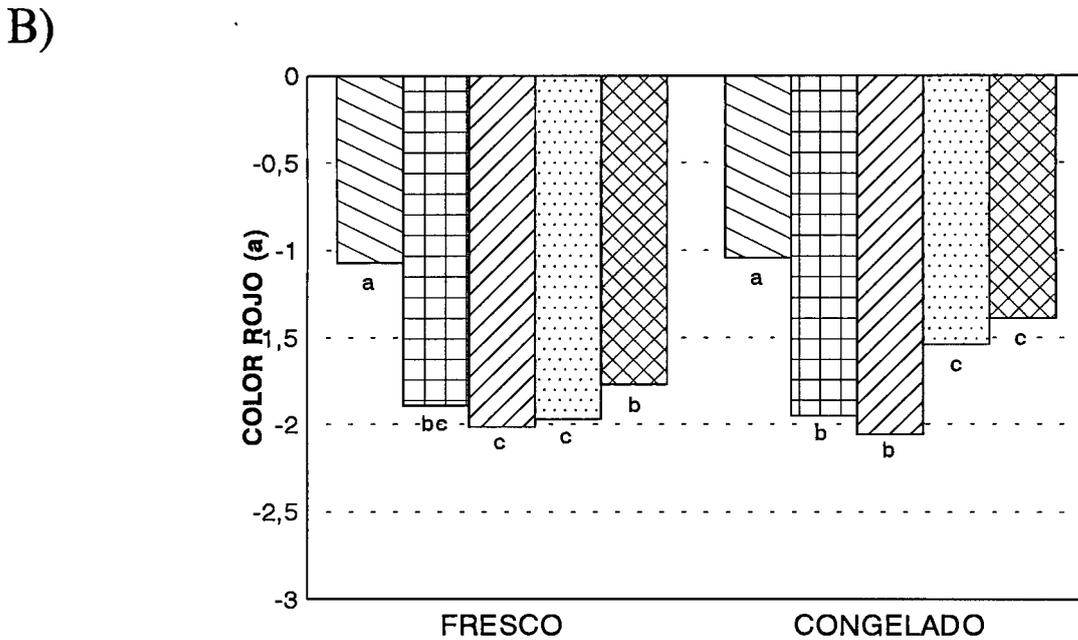
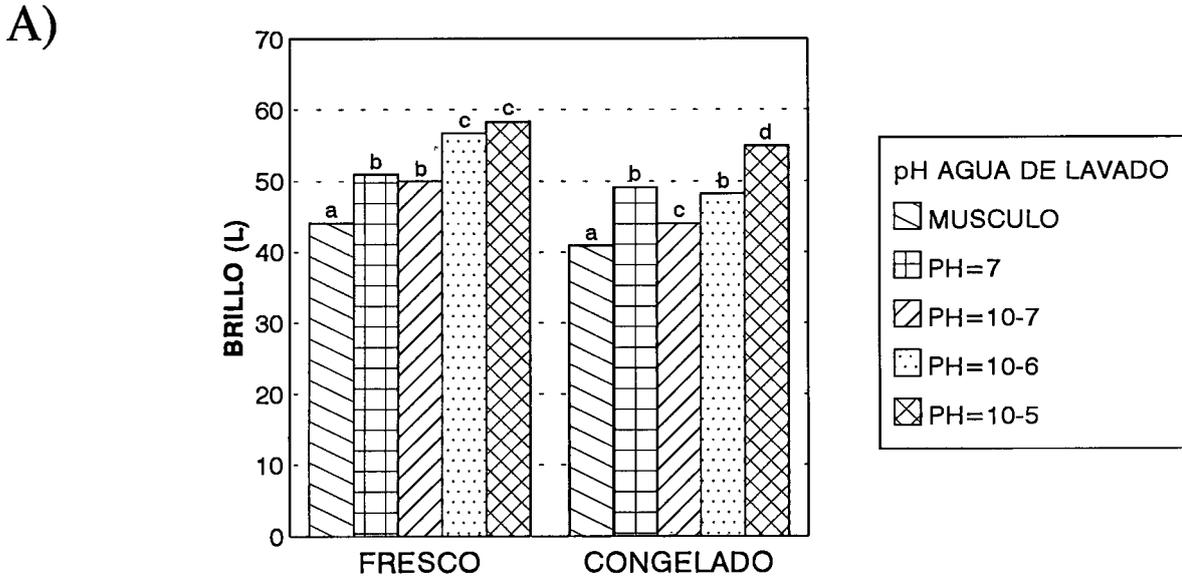
Se determinaron cambios en atributos de color, las propiedades de solubilidad, patrón electroforético, estabilidad proteica (DSC), capacidad de retención de agua y textura del gel.

### **8.2.1. EFECTO SOBRE LOS ATRIBUTOS DE COLOR**

En la Fig. 22 se observan los resultados del análisis de color tanto para el músculo como para las pastas de surimi de *Tilapia nilotica* obtenido de diferentes tratamientos de lavado adistintos valores de pH a partir de pescado fresco o de pescado congelado.

Los parámetros de color medidos fueron: la coordenada L que corresponde al brillo y la coordenada de color a que indica las tonalidades de rojo.

# COLOR



a, b, c, y d representan diferencia significativa  $P < 0.05$

Figura 22. Efecto del pH del agua de lavado sobre el brillo (A) y el color rojo (B) de pastas de surimi obtenidas a partir de músculo de pescado fresco y congelado (*T. nilotica*).

Para los diferentes tratamientos de lavado se observó que los diferentes valores del brillo son menores para el surimi elaborado a partir de pescado congelado que para los obtenidos con el surimi elaborado a partir del pescado fresco (Fig. 22-A).

En músculo fresco no existió diferencia ( $P < 0.05$ ), entre la pasta lavada control y la pasta lavada con  $\text{pH}=10-7$ , pero ambas mostraron más brillo que el músculo no lavado. Los tratamientos  $\text{pH}=10-6$  y  $\text{pH}=10-5$ , mostraron los valores mas altos de brillo, sin que existiera diferencia entre ellos ( $P < 0.05$ ).

En músculo congelado, todos los tratamientos mejoraron el brillo de la pasta lavada, con respecto al músculo sin lavar. Los resultados obtenidos fueron: músculo  $< \text{pH}=10-7 < \text{pH}=7 = \text{pH}=10-6 < \text{pH}10-5$  ( $P < 0.05$ ). Como puede apreciarse, el tratamiento  $\text{pH}=10-5$ , provocó los valores más altos de brillo en pastas de músculo fresco y congelado.

La coordenada de color *a*, permite medir la eliminación de los pigmentos que dan el color a la carne, principalmente mioglobina y hemoglobina. En este parámetro un valor menos negativo (cerca de cero), indica una tonalidad mas rojiza, en tanto que un valor más negativo, indica una tonalidad menos rojiza. Es por ésto, que el músculo posee un valor menos negativo.

Todos los tratamientos de lavado, disminuyeron la tonalidad rojiza, con respecto al músculo no lavado, fresco o congelado, por lo que mostraron valores mas negativos (Fig. 22).

A este respecto, la eliminación del color rojo, fue similar para los tratamientos a  $\text{pH}=7$  y el de  $\text{pH}=10-7$ , tanto para el surimi elaborado a partir de músculo fresco, o del congelado por un mes. Con estos dos tratamientos de lavado, se alcanzaron los valores mas negativos de *a* (menor participación del color rojo), particularmente para el tratamiento a  $\text{pH}=10-7$ . Los valores finales fueron similares en músculo fresco o congelado.

El tratamiento con  $\text{pH}=10-5$ , fue el menos eficiente en músculo fresco, para extraer los pigmentos que dan la coloración rojiza, seguido del tratamiento  $\text{pH}=10-6$ . En músculo congelado, ambos tratamientos fueron igual de ineficientes, no encontrándose diferencia entre ambos tratamientos ( $P < 0.05$ ). Por otra parte, ambos tratamientos fueron menos eficientes extrayendo los compuestos de color en músculo congelado que en músculo fresco.

Aunque los tratamientos  $\text{pH}=10-5$  y  $\text{pH}=10-6$ , tendieron a dar mejores valores de brillo (*L*), no fueron eficientes extrayendo los compuestos que dan la coloración rojiza. El tratamiento

pH=10-7 mostró un eficiencia similar al tratamiento control (pH=7), en ambos tipos de músculo: fresco o congelado, respecto al brillo final del producto y la extracción de pigmentos del color.

### **8.2.2. SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO PROTEICO.**

La solubilidad de las proteínas miofibrilares, depende de la polaridad y la fuerza iónica del solvente. En general, estas proteínas requieren que el solvente sea agua, con una fuerza ionica superior ( $\mu$ ) 0.3, normalmente alcanzada con 0.15 M de cloruro de sodio o cloruro de potasio, aunque idealmente, se prefiere 0.6 M. Por otra parte, el almacenamiento en congelación induce la agregación de estas proteínas, lo cual se manifiesta cómo pérdida de la solubilidad.

En esta etapa, se estudió el efecto de los tratamientos de lavado con pH alcalino, en la solubilidad del surimi proveniente de músculo fresco y músculo congelado. Se estudiaron dos concentraciones distintas de cloruro de sodio: 0 M y 0.6 M. Así como, dos solventes diferentes: agua desionizada (pH 7.0), y solución reguladora de pH Tris-HCl 20 mM, pH 7.0.

Como era de esperarse, la solubilidad del surimi fue significativamente mayor en presencia de 0.6 M NaCl, para ambos músculos: fresco y congelado, independientemente del solvente agua o Tris-HCl (Figs. 23A y B). Esto debido principalmente a una mayor solubilización de la miosina, así cómo de otras proteínas miofibrilares (Figs. 24-A, 24-B y 24-C).

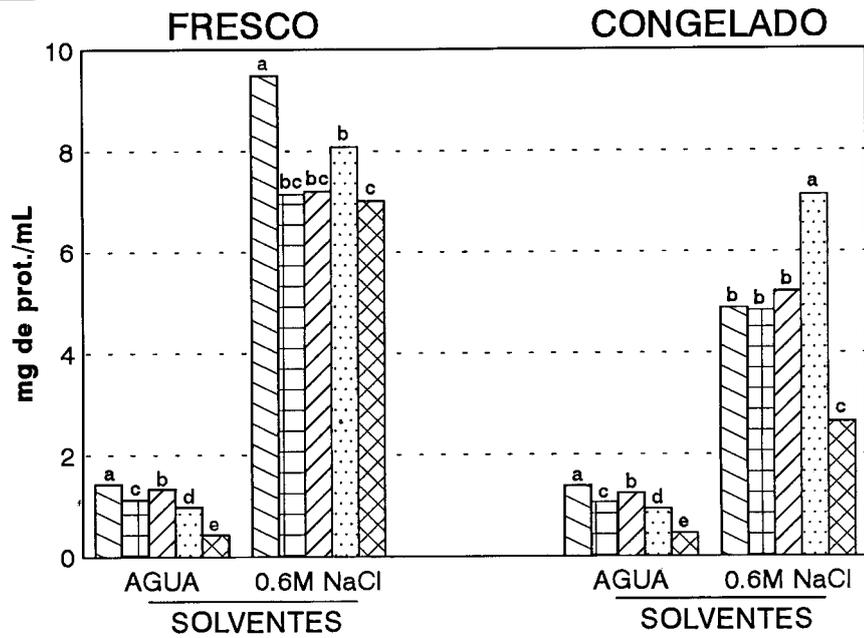
Por otra parte, la solubilidad de las muestras fue mayor al utilizar agua pH 7.0 (Figura 23 A), que al emplear Tris-HCl 20 mM, pH 7.0 como solvente (Fig. 23 B), independientemente del tipo de músculo: fresco o congelado; y de la fuerza ionica: 0 y 0.6 M NaCl. La presencia de Tris disminuyó la solubilidad hasta en un 50%.

La congelación del músculo provocó la insolubilización de las proteínas extraíbles con 0.6 M NaCl, independientemente del solvente utilizado, agua o Tris-HCl (Fig. 23A y B).

En el caso de las muestras solubilizadas en ausencia de sal (0 M NaCl), solo se encontró un efecto insolubilizante por efecto de la congelación entre las muestras conteniendo Tris-HCl. Manifestándose nuevamente el efecto insolubilizante del Tris, sobre las proteínas

# AGUA

A)



# TRIS-HCl

B)

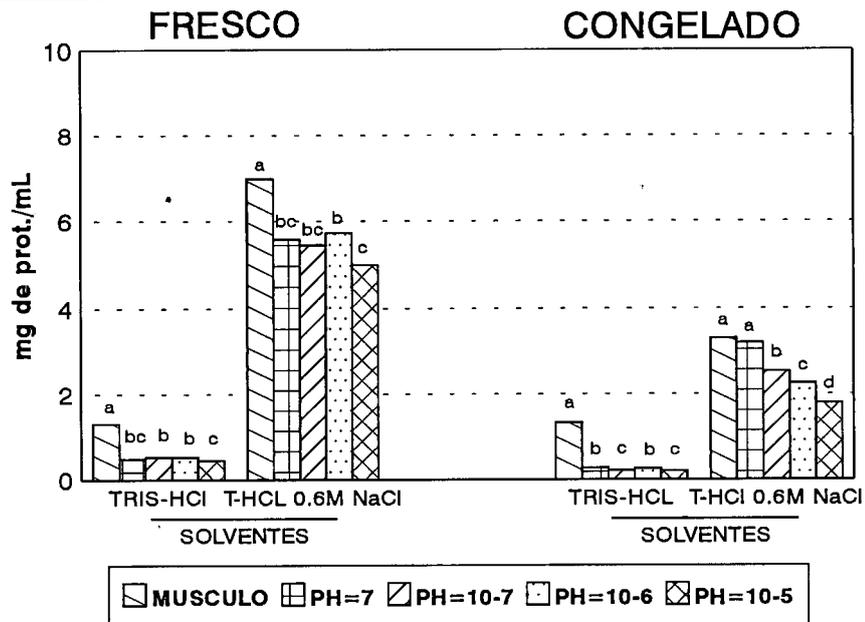


Figura 23. Efecto del pH del agua de lavado en la solubilidad de la proteína miofibrilar de *T. nilotica* a partir de pescado fresco y congelado. A) Solvente agua, B) Solvente Tris-HCl. 0 y 0.6 M de NaCl respectivamente.

a, b, c, d y e indican diferencia significativa entre tratamientos de pH ( $P < 0.05$ ) para un mismo tipo de solvente.

Valores promedio de dos experimentos con tres repeticiones.

miofibrilares.

Los tratamientos de lavado con pH alcalino, mostraron diferente comportamiento de acuerdo con el tipo de solvente y la fuerza iónica con que se determinó la solubilidad.

En general, fue de particular interés, que la solubilidad del surimi lavado con pH=10-6, para músculo congelado, fue significativamente mayor ( $P < 0.05$ ), comparado con los otros tratamientos de lavado, cuando se empleo como solvente agua con 0.6 M NaCl (Fig. 23 A).

Las muestras lavadas con pH=10-5, presentaron los valores más bajos de solubilidad.

No se encontró una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), entre los tratamientos pH=7 y pH=10-7, al emplear agua con 0.6 M NaCl como solvente, para músculo fresco y congelado. En Tris-HCl 0.6 M NaCl, para músculo congelado, la muestra lavada con pH=7 presentó mayor solubilidad que la muestra pH=10-7.

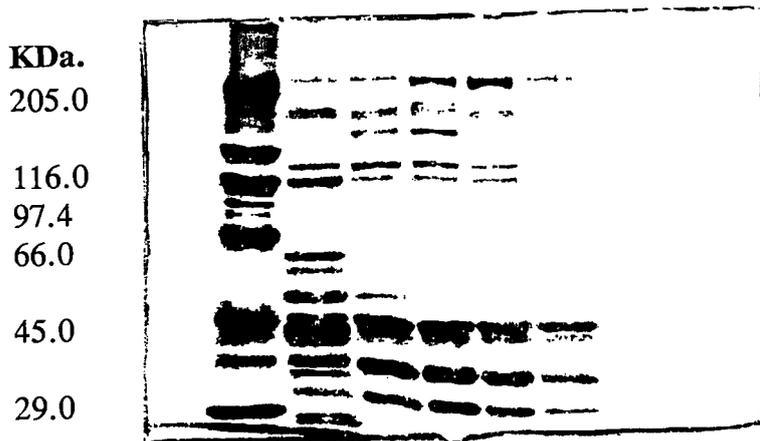
En general y con la excepción del músculo, la solubilidad en presencia de Tris-HCl para surimi de pescado congelado a 0.6 y 0 M de NaCl se redujo en un 50 % con respecto a la solubilidad del pescado fresco. Este perfil de solubilidad se mantuvo constante, para los diferentes valores de pH de los tratamientos de lavado.

### 8.2.3. ELECTROFORESIS.

Se analizó por electroforesis, el tipo de proteína solubilizada con agua desionizada (pH 7.0) y Tris-HCl, para músculo fresco y congelado, en función de la fuerza iónica: 0 y 0.6 M NaCl (Fig. 23 A y B). Los resultados obtenidos se muestran en las figs. 24-A, 24-B y 24-C.

La miosina presenta solubilidad en soluciones salinas, y se le considera insoluble en agua. Esto puede apreciarse en la Fig. 24-A, que representa el patrón electroforético del músculo de pescado fresco, sometido a los diferentes tratamientos de lavado. En el inciso A, que indica la muestra solubilizada en agua, se aprecia en el carril 2, correspondiente al músculo, que la miosina se encuentra casi ausente, en tanto que en el mismo carril, del inciso B, correspondiente al músculo solubilizado con 0.6 M NaCl, la banda de la miosina es una de las mas intensas,

A)



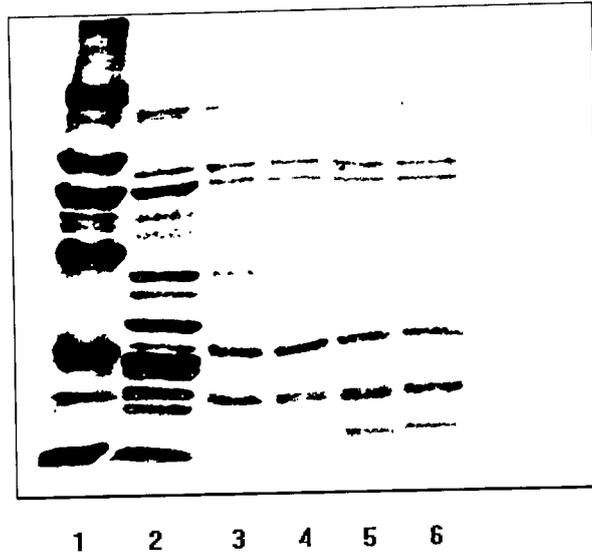
B)



Figura 24-A. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7% de pastas de surimi, a partir de los diferentes tratamientos de lavado, las cuales fueron disueltas en A) Agua y B) 0.6 M de NaCl, empleando para ello pescado fresco. Carril 1. Marcador de peso molecular, carril 2. Músculo nativo, carril 3. Tratamiento pH=7, carril 4. tratamiento pH=10-7, Carril 5. Tratamiento pH=10-6 y carril 6. Tratamiento pH=10-5.

A)

KDa.  
205,0  
116,0  
97,4  
66,0  
45,0  
29,0



B)

KDa.  
205.0  
116.0  
97.4  
66.0  
45.0  
29.0

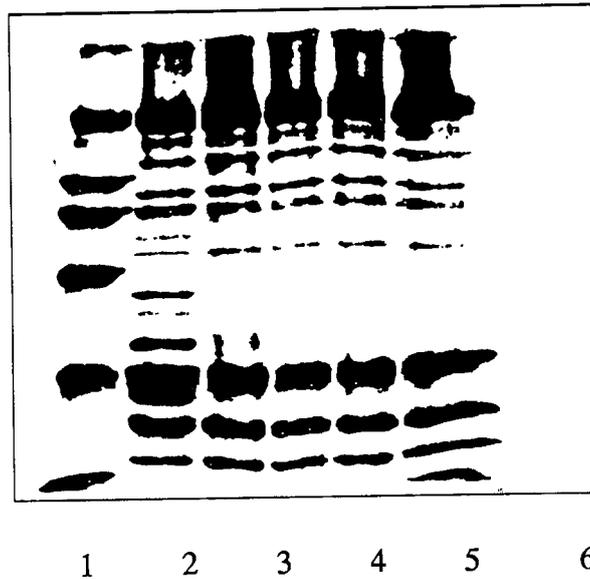
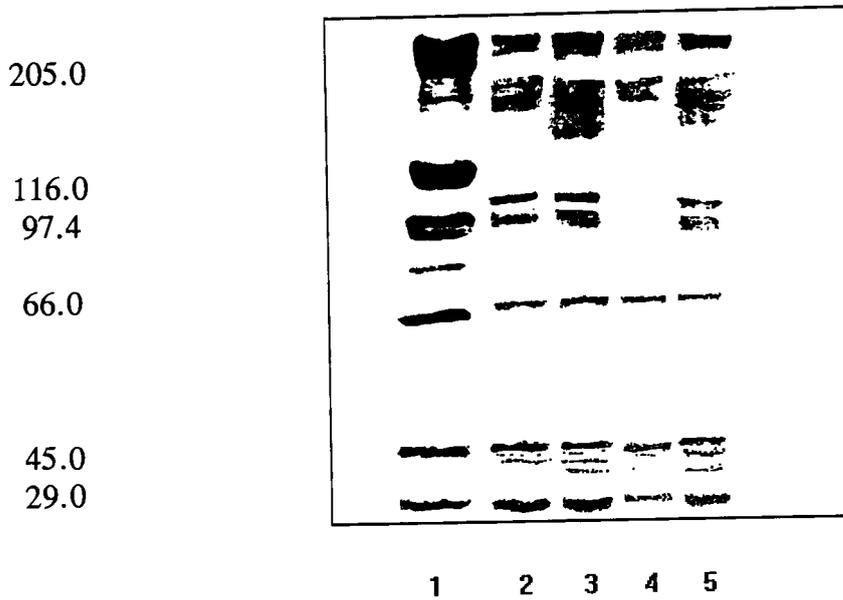


Figura 24-B. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7% de pastas de surimi, a partir de los diferentes tratamientos de lavado, las cuales fueron disueltas en A) Tris-HCl y B) Tris-HCl 0.6 M de NaCl, empleando para ello pescado fresco. Carril 1. Marcador de peso molecular, carril 2. Músculo nativo, carril 3. Tratamiento pH=7, carril 4. tratamiento pH=10-7, carril 5. Tratamiento pH=10-6 y carril 6. Tratamiento pH=10-5.

A) KDa.



B) KDa.

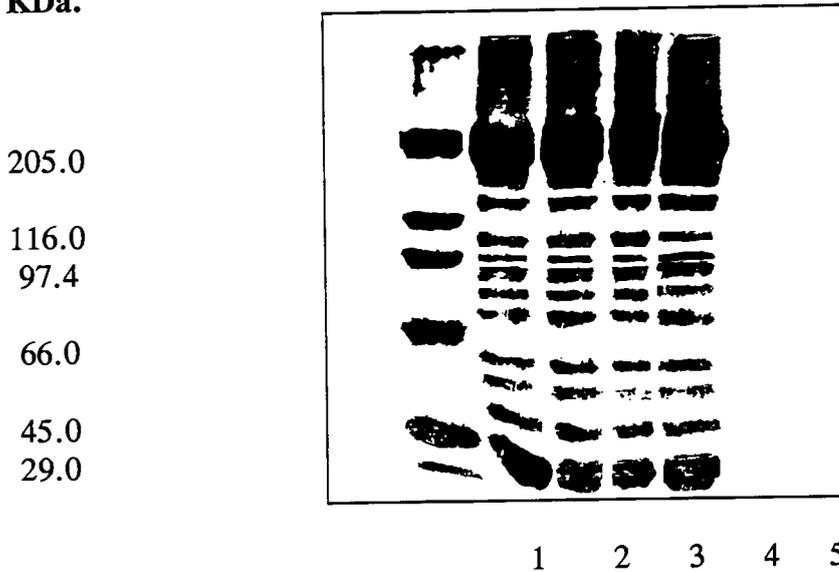


Figura 24-C. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7% de pastas de surimi, a partir de los diferentes tratamientos de lavado, las cuales fueron disueltas en A) Tris-HCl y B) Tris-HCl 0.6 M de NaCl, empleando para ello pescado congelado. Carril 1. Marcador de peso molecular, carril 2. Tratamiento pH=7, carril 3. tratamiento pH=10-7, Carril 4. Tratamiento pH=10-6 y carril 5. Tratamiento pH=10-5.

indicando su solubilidad. Este mismo comportamiento se aprecia para el músculo de pescado lavado con pH=7 (carril 3).

Los tratamientos pH=10-7 y pH=10-6, incrementaron la solubilidad de la miosina en agua (Fig. 24-A, inciso A, carriles 4 y 5 respectivamente). Esto sugiere que el lavado en pH alcalino (10), provoca una modificación estructural de la miosina (desnaturalización), lo que explicaría la modificación de su propiedad de solubilización. En pH 10-5, no se encontró este mismo comportamiento, pero coincide con una baja solubilidad proteica (Fig. 23A), por lo que aunque el tratamiento alcalino pudo haber incrementado la solubilidad de la miosina, el ajustar a pH 5 el agua de lavado, pudo ocasionar su insolubilización por agregación nuevamente.

El inciso B de la Fig. 24-A, muestra, como se esperaba, una gran solubilidad de las fracciones proteicas para cada uno de los tratamientos, así como del músculo, debido a la presencia de sal (0.6 M NaCl). Se puede ver que existe similitud en la solubilidad de las diferentes proteínas miofibrilares, en función del tipo y de intensidad de bandas proteicas presentes, independientemente del tratamiento de lavado al cuál se sometieron. En particular, se aprecia la aparición de la banda de miosina, bandas de actininas e incremento en la concentración de actina.

Como se mencionó anteriormente, la presencia de Tris provocó la pérdida de solubilidad en los extractos miofibrilares hasta en un 50% (Fig. 23A y B). Al estudiar el patrón electroforético de las proteínas solubilizadas en Tris-HCl, en ausencia de sal (Fig. 24-B, inciso A), se aprecia que la miosina no se encuentra presente, en los tratamientos pH=10-7 y pH=10-6, como lo estuvo en el caso de las muestras solubilizadas en agua (Fig. 24-A, inciso A). Esto pudiera ser indicativo de que la solubilidad de la miosina disminuye en presencia de Tris. Sin embargo, esto no es concluyente, ya que la actina también mostró una menor intensidad de banda (Fig. 24-B, inciso A). La ausencia de bandas de miosina, pudo deberse también, a la menor concentración de proteína soluble en la muestra, por lo que, no pudo detectarse su presencia por electroforésis. Esto último, se encuentra apoyado por el hecho, de que no se aprecia una diferencia visual en la intensidad de las bandas de miosina, para muestras solubilizada con Tris, en ausencia y presencia de 0.6 M NaCl (Figs. 24-A y 24-B, inciso B, respectivamente). Tampoco se aprecio diferencia entre tratamientos de lavados para muestras solubilizadas en Tris-HCl, 0.6 M NaCl.

La Fig. 24-C, muestra el comportamiento electroforético de los extractos solubilizados de

pastas de surimi obtenidas de músculo de pescado congelado, a partir de diferentes tratamientos de lavado. En la parte A de la Fig. 24-C, se muestra el patrón de electroforesis de las muestras solubilizadas con Tris-HCl en ausencia de NaCl. En los cuatro tratamientos se aprecia la presencia de miosina, misma que no estuvo presente en los geles de muestras frescas (Fig. 24-B, inciso A). Esta modificación de la solubilidad de la miosina, por efecto de la congelación, sugiere que este proceso provoca la desnaturalización de dicha proteína.

Las muestras solubilizadas con Tris-HCl, 0.6 M NaCl (Fig. 24-C, inciso B), muestran una alta solubilidad para la miosina y la actina, independientemente del tratamiento de lavado. Sin embargo, es de especial importancia, el que se aprecien nuevas bandas intermedias en la muestra lavada con pH=10-5 (carril 5), lo que parece sugerir la presencia de agregación o hidrólisis proteica.

Los resultados obtenidos en esta etapa, sugieren que el lavado a pH 10, induce la desnaturalización proteica de la miosina, lo cual se manifiesta como un cambio en su propiedad de solubilidad, volviéndose parcialmente soluble en agua. Sin embargo, esta propiedad se ve enmascarada, cuando el agua de lavado se ajusta a un pH final de 5, tratamiento que parece favorecer la agregación e hidrólisis proteica.

También se encontró evidencia, de que la congelación indujo un cambio en la solubilidad de la miosina de pescado, lo cual es indicativo de una desnaturalización proteica.

#### **8.2.4. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO.**

Este análisis permite determinar cambios en la estabilidad de las proteínas miofibrilares, ocasionados por los procesos de lavado a los que se sometió el músculo, así como por el almacenamiento en congelación. La desnaturalización proteica provoca una disminución de la temperatura máxima de transición ( $T_{max}$ ) y la agregación produce un incremento en dicha temperatura (Biliaderis, 1992).

Park y Lanier (1989), reportaron que para *Tilapia nilotica*, las  $T_{max}$  fueron de 58 °C para miosina y de 74 °C para actina.

En nuestro estudio se emplearon 10 a 15 mg de muestra, proveniente de las pastas lavadas y se analizaron empleando un incremento de temperatura de 10 °C/min, en un equipo DSC 7

Perkin Elmer.

En el músculo fresco en post-rigor (almacenados 24 horas a 4 °C), se observaron tres picos cuyas T<sub>max</sub> fueron 54, 65 y 73 °C para los picos 1, 2 y 3 respectivamente (Figura 25A). Dichas transiciones fueron de muy baja energía: 0.36 a 0.58 joule/g para miosina (54 °C) y de 0.008 a 0.07 joule/g para actina (73 °C).

El lavado con pH alcalino, modificó las T<sub>max</sub> de las proteínas, sin embargo, el valor final de las T<sub>max</sub>, dependió del pH final al que se ajustó la pasta de lavado (pH 7, 6 o 5) (Cuadro 2A).

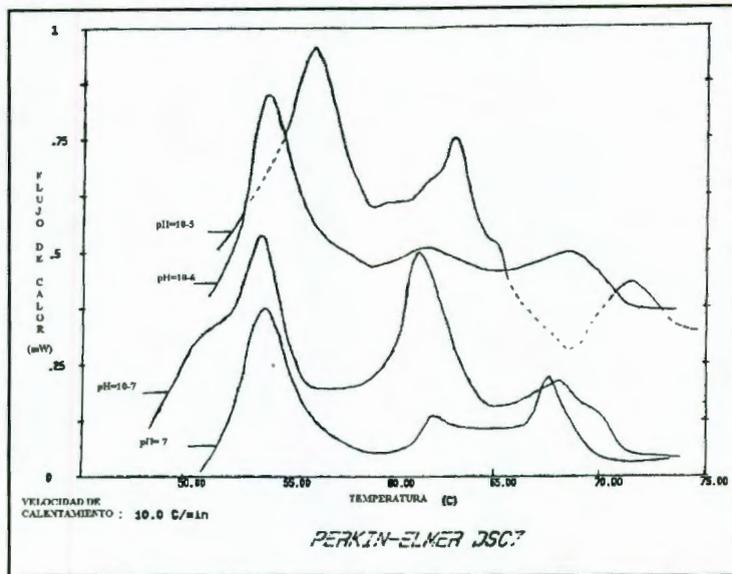
El tratamiento a pH=10-7, provocó la disminución de los picos 1 y 2 (correspondientes a la miosina), con respecto al tratamiento control (pH=7), lo que indica una desnaturalización de esta proteína. El pico 3, mostró un incremento en su T<sub>max</sub>, sugiriendo agregación proteica. El tratamiento pH=10-6, provocó un incremento en la T<sub>max</sub> de los picos 1 y 3, en tanto que el pico 2, mostró un valor mayor que el tratamiento pH=10-7, pero menor al tratamiento control (pH=7), lo que sugiere un estado de menor desnaturalización. El tratamiento pH=10-5, provocó el incremento de los valores de T<sub>max</sub> para los tres picos, indicando la presencia de agregación proteica, lo que coincide con la menor solubilidad observada para este tratamiento en la Fig. 23A y B.

Estudios en tallo y S-1, indican que el tallo desnaturaliza a 60 °C y S-1 a bajas temperaturas.

El músculo congelado (también en post-rigor), almacenado 30 días a -20 °C, presentó 4 picos, cuyas T<sub>max</sub> fueron 52, 59, 63 y 71 °C, para los picos 1, 2, 3, y 4 respectivamente (Fig. 25-B). Las transiciones observadas también fueron de baja energía: 0.1 a 0.45 joule/g para el pico 1 (52 °C), 0.030 a 0.09 joule/g para el pico 2 (59 °C),  $9 \times 10^{-5}$  a  $4 \times 10^{-2}$  joule/g para el pico 3 (63 °C) y de 0.08 a 0.21 joule/g para el pico 4 (71 °C).

Los valores de T<sub>max</sub> para músculo de pescado congelado fueron distintos con respecto a los valores obtenidos para músculo no congelado (Cuadro 2A y B) en donde se obtuvieron cuatro

A)



B)

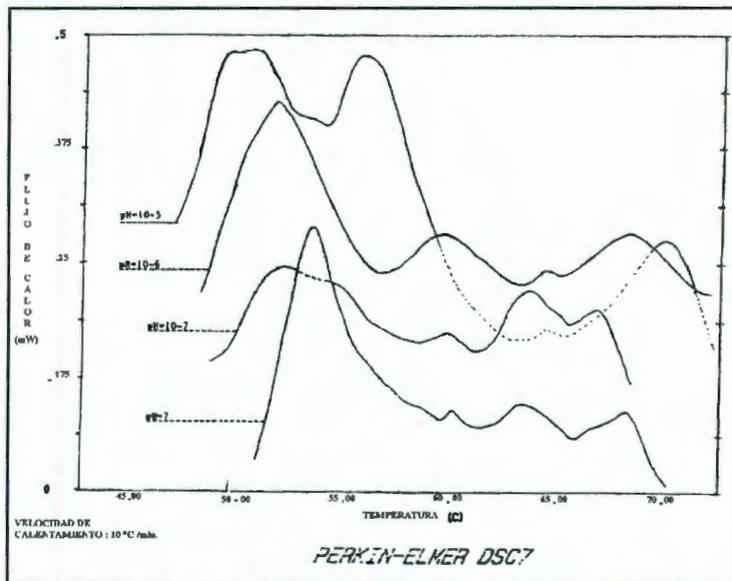


Figura 25. Calorimetría diferencial de pastas de surimi elaboradas por diferentes tratamientos de lavado a partir de pescado fresco A) y congelado B).

Cuadro 2. Análisis estadístico de las temperaturas de transición para surimi obtenido de diferentes tratamientos de lavado, tanto para pescado fresco como congelado (*T. nilotica*).

TEMPERATURAS MAXIMAS DE TRANSICION (°C)

A)				B)			
FRESCO				CONGELADO			
	1	2	3	1	2	3	4
pH=7	54.24 <sup>b</sup>	61.85 <sup>c</sup>	67.64 <sup>a</sup>	54.16 <sup>c</sup>	60.89 <sup>b</sup>	63.54 <sup>a</sup>	68.44 <sup>a</sup>
pH=107	54.16 <sup>a</sup>	61.57 <sup>a</sup>	67.76 <sup>b</sup>	52.17 <sup>b</sup>	60.87 <sup>b</sup>	64.21 <sup>a</sup>	67.08 <sup>ab</sup>
pH=106	54.86 <sup>d</sup>	61.71 <sup>b</sup>	68.82 <sup>c</sup>	52.26 <sup>b</sup>	59.54 <sup>b</sup>	64.40 <sup>a</sup>	69.03 <sup>bc</sup>
pH=105	56.38 <sup>c</sup>	63.09 <sup>d</sup>	71.58 <sup>d</sup>	50.57 <sup>a</sup>	56.96 <sup>a</sup>	64.87 <sup>a</sup>	70.45 <sup>c</sup>

a, b, c, d y e representan diferencia significativa  $P < 0.05$  entre tratamientos por columna.

temperaturas de transición. El pico 1 presentó valores menores en todos los tratamientos de lavado. El pico 2 del músculo fresco, pareció dividirse en dos transiciones diferentes en el músculo congelado, dando origen a los picos 3 y 4. El pico 2 de músculo congelado presentó valores de Tmax menores al valor de Tmax para el pico 2 del músculo fresco. En tanto que el pico 3 de músculo congelado, mostró un valor superior de Tmax, respecto a la Tmax del pico 2 del músculo fresco. Este comportamiento sugiere que la miosina de pescado presenta durante la congelación un fenómeno de desnaturalización y agregación proteica.

El pico 4 de músculo congelado, no mostró un comportamiento específico, respecto al músculo fresco: los tratamientos a pH=7 y pH=10-6, provocaron valores mas altos en el músculo congelado (agregación), en tanto que los tratamientos pH=10-7 y pH=10-5 provocaron valores mas bajos (desnaturalización).

Al analizar el efecto de los tratamientos de lavados, con respecto al tratamiento control (pH=7.0), para músculo congelado, se observó que el valor de Tmax del pico 1, disminuyó ( $P <$

0.05) por efecto de los tratamientos, obteniéndose el valor más bajo en  $\text{pH}=10-5$ . En el pico 2, sólo se modificó el valor de  $T_{\text{max}}$  a  $\text{pH}=10-5$ , obteniéndose un valor mucho menor. El pico 3 no varió por efecto del tratamiento de lavado ( $P < 0.05$ ). En el pico 4, no se encontró diferencia entre el tratamiento control y el de  $\text{pH}=10-7$ , pero a  $\text{pH} 10-6$  y  $\text{pH}=10-5$ , el valor de  $T_{\text{max}}$  fue superior, indicando la presencia de agregación proteica.

Los resultados obtenidos, muestran que la congelación modifica la estabilidad de la proteína miofibrilar de pescado, en este caso, de actina y de miosina. Además, que el tratamiento alcalino ( $\text{pH} 10$ ), favoreció la desnaturalización de las proteínas, sin embargo, la estabilidad de la proteína dependió del  $\text{pH}$  final del agua de lavado, siendo el  $\text{pH} 5$ , el que provocó una mayor agregación proteica.

#### **8.2.5. ANALISIS DEL PERFIL DE TEXTURA (APT).**

Se prepararon geles de músculo fresco, empleando el proceso de elaboración Suwari-Kamaboko. Los geles se analizaron con un 50% de compresión. Ambos parámetros seleccionados de acuerdo a los resultados obtenidos de la primer etapa (8.1.).

Los resultados del APT, mostrados en la Fig. 26, indicaron que los parámetros de módulo inicial, masticabilidad y gomosidad, dependieron del valor de dureza, ya que todos ellos mostraron un comportamiento similar. Por ello, se omitirá discutir acerca de dichos parámetros en esta sección.

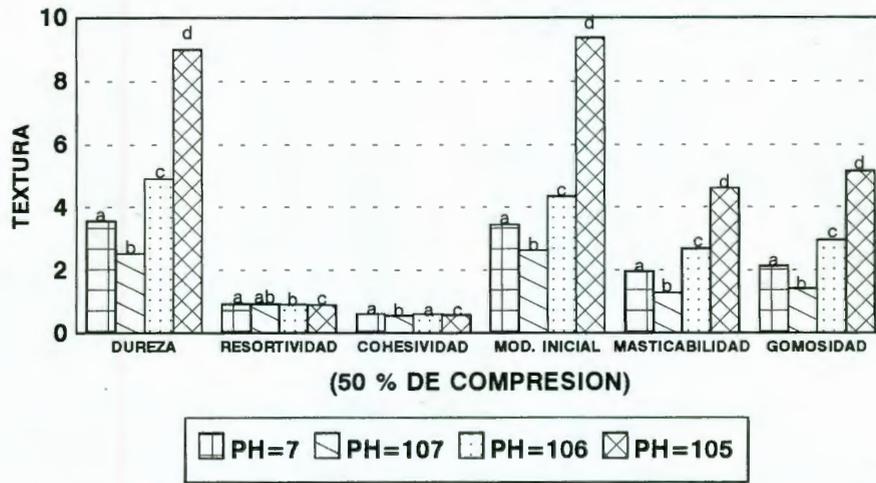
El tratamiento  $\text{pH}=10-7$ , proporcionó geles con valores más bajos de dureza y cohesividad respecto al tratamiento control ( $\text{pH}=7$ ), aunque la resortividad no se vio modificada ( $P < 0.05$ ).

El tratamiento a  $\text{pH}=10-6$ , incrementó la dureza de los geles, pero disminuyó la resortividad, en tanto que la cohesividad no mostró diferencia ( $P < 0.05$ ).

El tratamiento  $\text{pH}=10-5$ , provocó la formación de un gel más duro, menos cohesivo y con menor resortividad ( $P < 0.05$ ), que el gel obtenido con el tratamiento control.

Las respuestas de los geles en relación a su resortividad, disminuyó conforme el  $\text{pH}$  disminuyó. Los geles del tratamiento  $\text{pH}=7$  mostraron la mayor respuesta, seguido de  $\text{pH}=10-7$ ,  $10-6$  y  $10-5$ .

## ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA GELES DE SURIMI



a,b,c, y d representan diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) para un mismo parámetro de APT Módulo inicial ( $\times 10^{-5}$ ).  
Valores promedio de 2 experimentos con 10 repeticiones.

Figura 26. Efecto del pH del agua de lavado sobre las propiedades texturales de geles de surimi, fabricados a partir de pescado fresco (*T. nilotica*).

### 8.2.6. CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA) DE LOS GELES DE SURIMI.

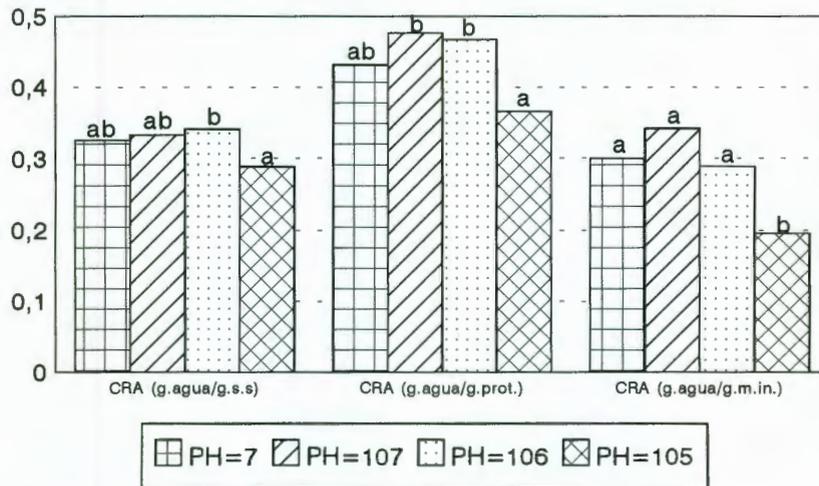
Se estimó la CRA de las muestras en tres formas distintas: dividiendo la cantidad de agua retenida por la muestra al aplicarle una fuerza de centrifugación de 10,000 X g durante 15 minutos a 4 °C, entre: a) la cantidad de sólidos secos; b) la cantidad de proteínas en la muestra (estimada por Kjeldhal); y c) los gramos de masa inicial. El emplear tres formas diferentes de expresar la CRA, permite mayor versatilidad de la prueba, sin que implique confusión en la información que se genera (Fig. 27).

Los resultados mostraron que los geles obtenidos del tratamiento pH=10-5, presentaron la menor CRA. En tanto que los tratamientos pH=10-7 y pH=10-6, tendieron a incrementar la CRA de los geles.

En esta etapa, se observó que el tratamiento pH=10-6, mejoró la solubilidad de la pasta lavada, cuando esta se determinó en agua con 0.6 M NaCl (Fig. 23A), provocando una mayor solubilidad de la miosina proveniente de músculo fresco (Fig. 24-A, inciso A) y de

# CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA)

GELES DE SURIMI DE PESCADO FRESCO



a, b dif. significativa ( $P < 0.05$ ).

cra. b/solidos ( $\times 10^{-1}$ ) y cra. b/prot. ( $\times 10^{-1}$ ).

Valores promedio de 2 experimentos con 3 repeticiones.

Figura 27. Efecto del pH del agua de lavado sobre la Capacidad de Retención de Agua de geles de surimi, elaborados a partir de pescado fresco (*T. nilotica*).

músculo congelado (Fig. 24-C, inciso A). Aunque este tratamiento provocó cambios en las  $T_{max}$  de la miosina y actina, de músculo fresco y congelado (Cuadro 2A y B), texturalmente permitió la obtención de un gel ligeramente mas duro que el tratamiento control ( $pH=7$ ), con la misma cohesividad, aunque con menor resortividad (Fig. 26) y con mayor CRA. En base a estos resultados, se seleccionó este tratamiento para realizar estudios sobre su efecto en las características texturales de geles obtenidos a partir de músculos de pescado congelado.

### 8.3. EFECTO DEL pH DEL AGUA DE LAVADO Y DE LA PRESENCIA DE UN AGENTE REDUCTOR EN LA APTITUD GELIFICANTE Y CRA DEL GEL DE SURIMI OBTENIDO A PARTIR DE PESCADO CONGELADO.

El empleo de un medio a pH alcalino, permite alejar a las proteínas del punto isoeléctrico, aumentando su solubilidad, ya que el medio desestabiliza las interacciones como: puentes de hidrógeno y electrostáticas, que se establecen entre las diferentes fracciones proteicas. Así mismo,

el empleo de agentes reductores presentes en el medio, permite reducir los enlaces disulfuro (S-S), para formar grupos sulfhidrilos (-SH + -SH), favoreciendo la solubilidad de las fracciones proteicas que habían agregado a través de este tipo de enlace. El objetivo de esta etapa fue estudiar el efecto que tiene el lavado de las pastas de surimi con pH alcalino (10), en presencia o ausencia de un agente reductor (eritorbato de sodio, 0.2% m/v). Se estudió el efecto sobre proteína miofibrilar de músculo fresco y músculo congelado. Como control se utilizó un lavado con agua desionizada ajustada a pH 7, en presencia o ausencia de 0.2% de eritorbato de sodio.

De estudios preliminares se seleccionó el tratamiento térmico para obtener Suwari-Kamaboko (40 °C por 30 minutos y 90 °C por 15 minutos). El tratamiento de lavado fue pH=10-6. En el análisis del perfil de textura (ATP), se empleó un 50% de compresión.

### **8.3.1. SOLUBILIDAD DE LAS PASTAS DE SURIMI.**

La solubilidad de las pastas de surimi obtenidas de músculo fresco, fue mayor que la solubilidad de las pastas de surimi provenientes de músculo congelado, independientemente del tratamiento de lavado (Fig. 28).

En músculo fresco, la solubilidad de las pastas lavadas, sólo se vió incrementada por efecto del pH alcalino, al combinar el tratamiento pH=10-6 con la adición de 0.2% de eritorbato de sodio. Los otros tres dos tratamientos, pH=10-6 (sin eritorbatos) y pH=7 con 0.2% de eritorbato de sodio, no incrementaron la solubilidad respecto al tratamiento control (pH=7).

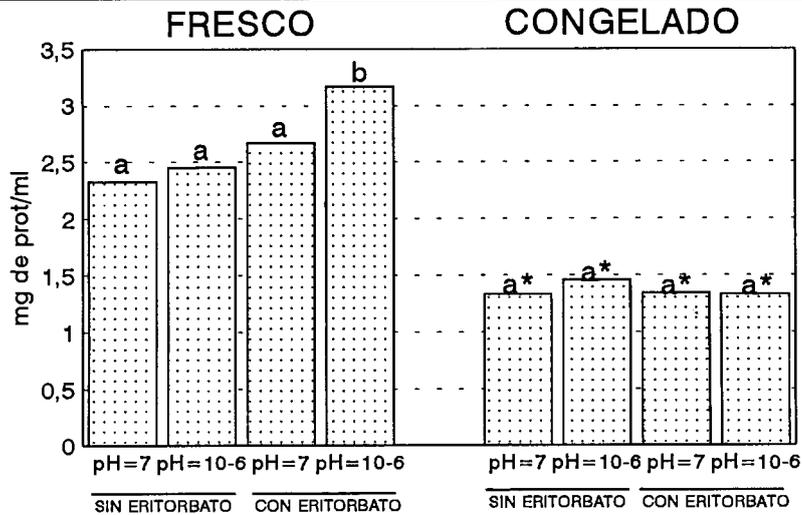
En músculo congelado, la solubilidad no varió por efecto de los tratamientos de lavado.

Los resultados de solubilidad para el tratamiento 10-6 con eritorbato de sodio muestran que es factible elevar esta propiedad funcional para el surimi obtenido a partir de pescado fresco.

### **8.3.2. ANALISIS DEL PERFIL DE TEXTURA (APT).**

Los resultados obtenidos del APT, mostraron que los parámetros de módulo inicial, gomosidad y masticabilidad, estuvieron relacionados o dependieron del parámetro de dureza (Fig. 29-A, 29-B y 29-C), por lo que no se discutirá acerca de dichos parámetros.

# SOLUBILIDAD DEL SURIMI



Medio solubilizante T-HCl 0.6 M de NaCl.

a y b representan diferencia significativa  $P < 0.05$  entre tratamientos.

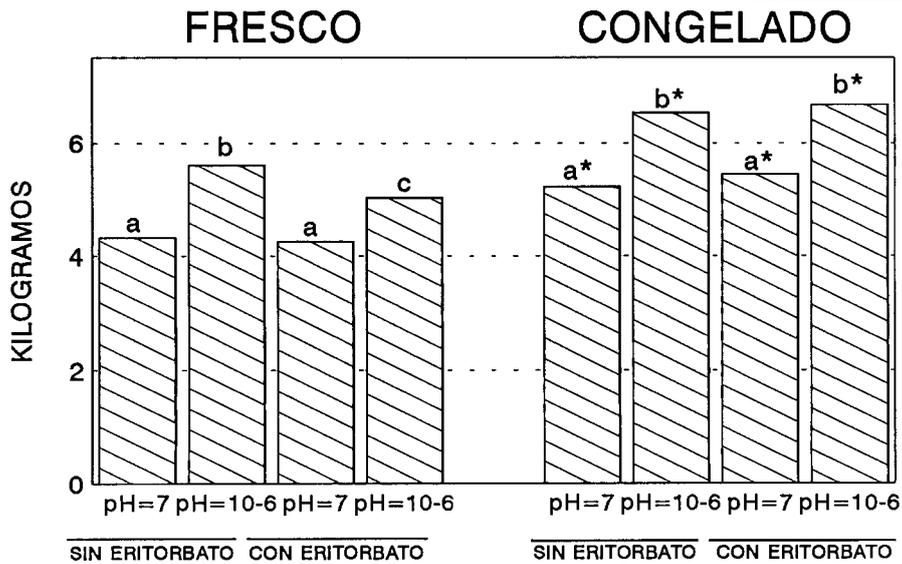
\* Indica dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre pescado fresco y congelado para un mismo tratamiento

Figura 28. Cambios en la solubilidad de pastas de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado a partir de pescado fresco y congelado.

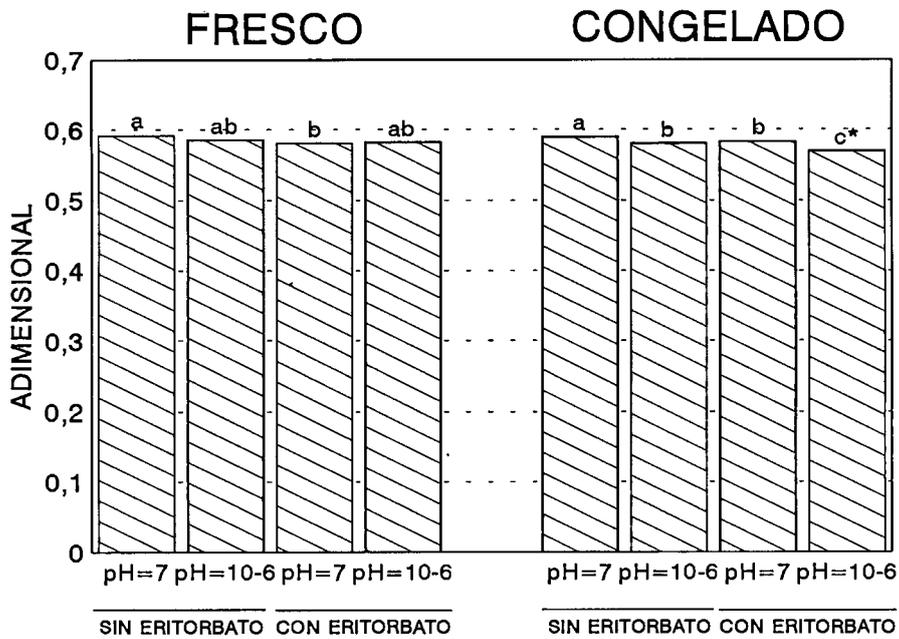
En el músculo fresco, se encontró que la dureza incrementó por efecto del lavado con pH alcalino (10-6). La incorporación de eritorbato de sodio, no incrementó este parámetro, por el contrario, al combinar el tratamiento pH=10-6 con 0.2% de eritorbato de sodio, se obtuvo un valor menor de dureza ( $P < 0.05$ ), comparado con el tratamiento pH=10-6, pero mayor que el tratamiento control pH=7 (Fig. 29-A).

La presencia de eritorbato de sodio al 0.2% en el agua de lavado, tendió a disminuir la cohesividad de los geles, sin embargo, esta disminución sólo fue significativa ( $P < 0.05$ ), para el gel lavado con pH=7 en presencia del agente reductor (Fig. 29-B).

# DUREZA



# COHESIVIDAD



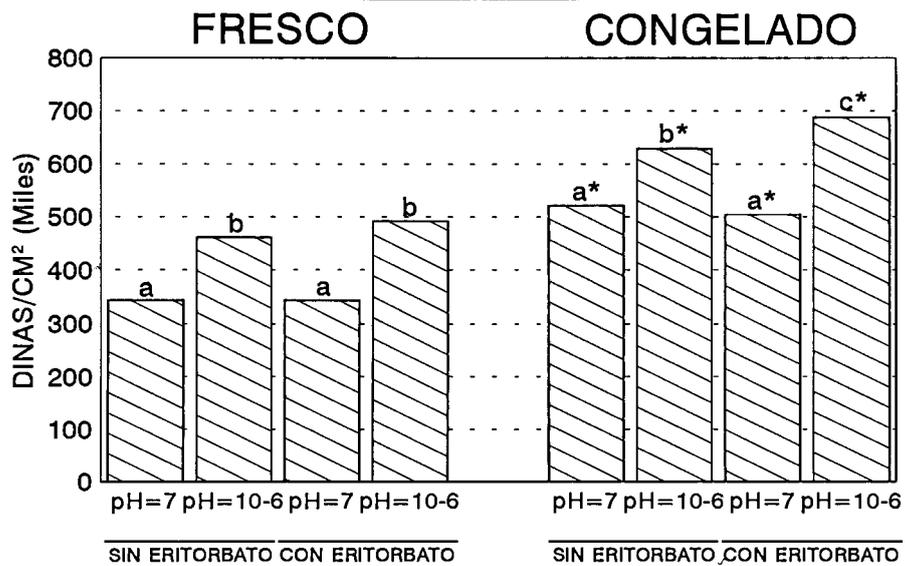
a, b y c diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos.

\* Indica dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre pescado fresco y congelado para un mismo tratamiento.

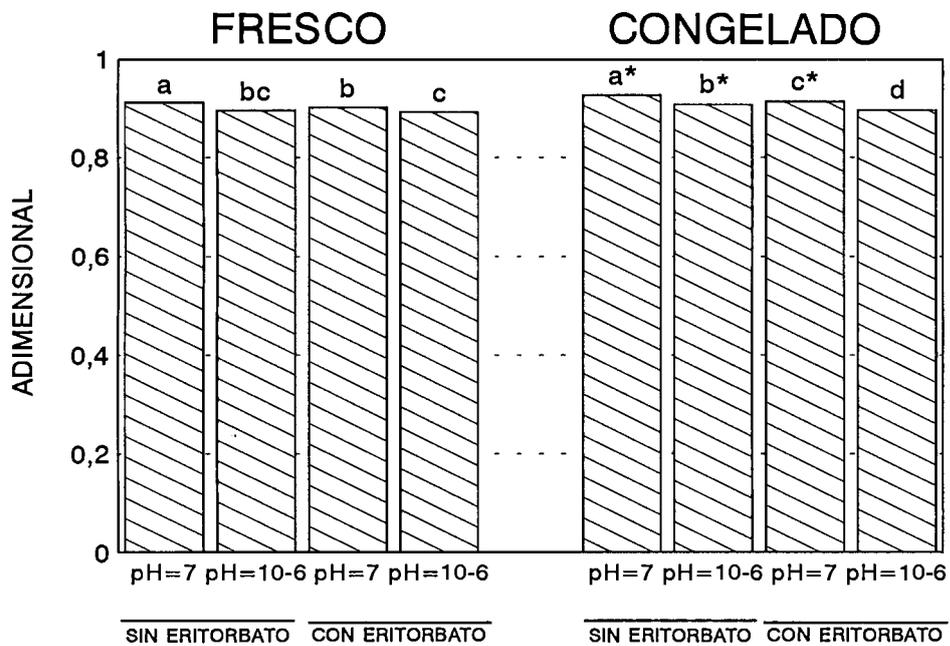
Valores promedio de 3 experimentos con 10 repeticiones.

Figura 29-A. Cambios en dureza y cohesividad para geles de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado, a partir de pescado fresco y congelado.

# MODULO INICIAL



# RESORTIVIDAD



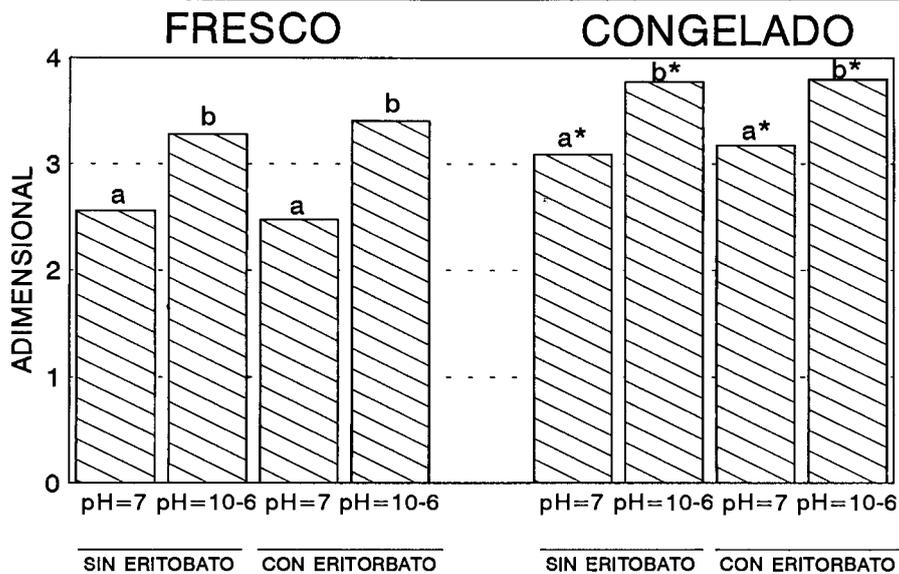
a, b y c dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos

\* Indica dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre pescado fresco y congelado para un mismo tratamiento

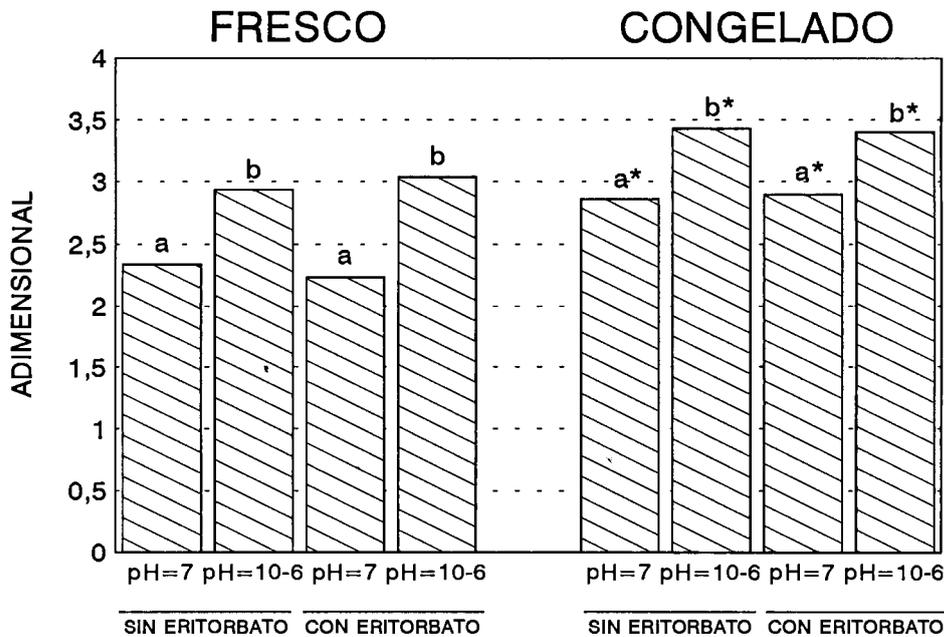
Valores promedio de 3 experimentos por separado con 10 repeticiones.

Figura 29-B. Cambios en módulo inicial y resortividad de geles de surimi. Continuación de la gráfica anterior.

# GOMOSIDAD



# MASTICABILIDAD



a, b, c y d indican dif. significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).  
 \* Indica dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre pescado fresco y congelado para un mismo tratamiento.  
 Valores promedio de 3 experimentos por separado con 10 repeticiones.

Figura 29-C. Cambios en gomosidad y masticabilidad de geles de surimi. Continuación de la gráfica anterior.

Tanto el tratamiento alcalino pH=10-6, como la presencia del agente reductor, disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ), la propiedad de resortividad de los geles. La combinación de ambos métodos (pH=10-6 y 0.2% de eritorbato de sodio), provocó los valores mas bajos de resortividad (Fig. 29-C).

El almacenamiento en congelación del músculo de pescado, provocó que los geles obtenidos a partir de él, fueran mas duros (Fig. 29-A). Sin embargo, nuevamente, el lavado con eritorbato de sodio al 0.2%, no provocó cambios con respecto al tratamiento control (pH=7). En tanto que, el lavado con pH alcalino incrementó la dureza del gel en presencia y ausencia del agente reductor (Fig. 29-A).

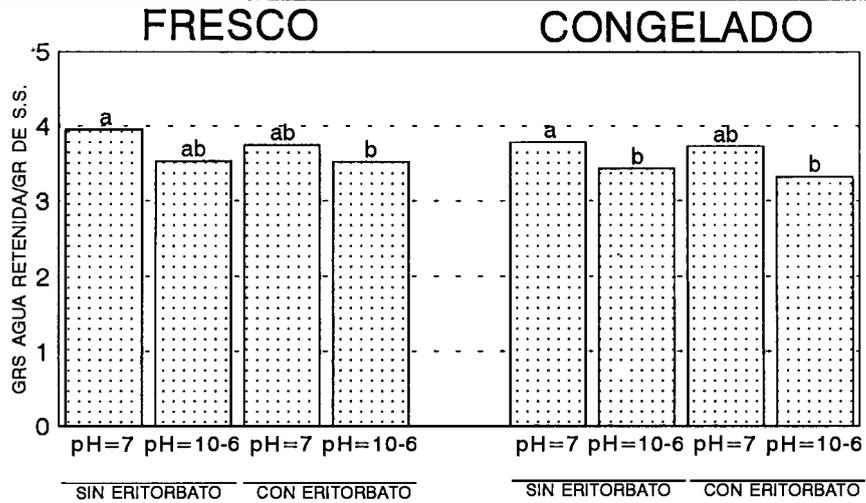
En músculo congelado, la cohesividad disminuyó por efecto de los dos tratamientos: pH alcalino y presencia del agente reductor (Fig. 29-A). Sin embargo, la combinación de ambos pareció tener un efecto sinergista, ya que provocó el valor más bajo de cohesividad. Este gel, fue significativamente menos cohesivo ( $P < 0.05$ ) que el obtenido por el mismo tratamiento, a partir de músculo fresco.

En músculo congelado, la resortividad de los geles presentó el mismo comportamiento que los geles obtenidos de músculo fresco: los dos tratamientos, pH alcalino y agente reductor, disminuyeron la resortividad y la combinación de ambos tratamientos, provocó la formación del gel con menos resortividad. Al comparar los resultados obtenidos de músculo congelado, se observó que los geles obtenidos a partir del tratamiento control pH=7, pH=10-6 y pH=10-7 con 0.2% de eritorbato de sodio, presentaron mayor resortividad que los geles obtenidos de músculo fresco ( $P < 0.05$ ). No se encontró diferencia entre los geles obtenidos combinando pH=10-6 y 0.2% de eritorbato de sodio.

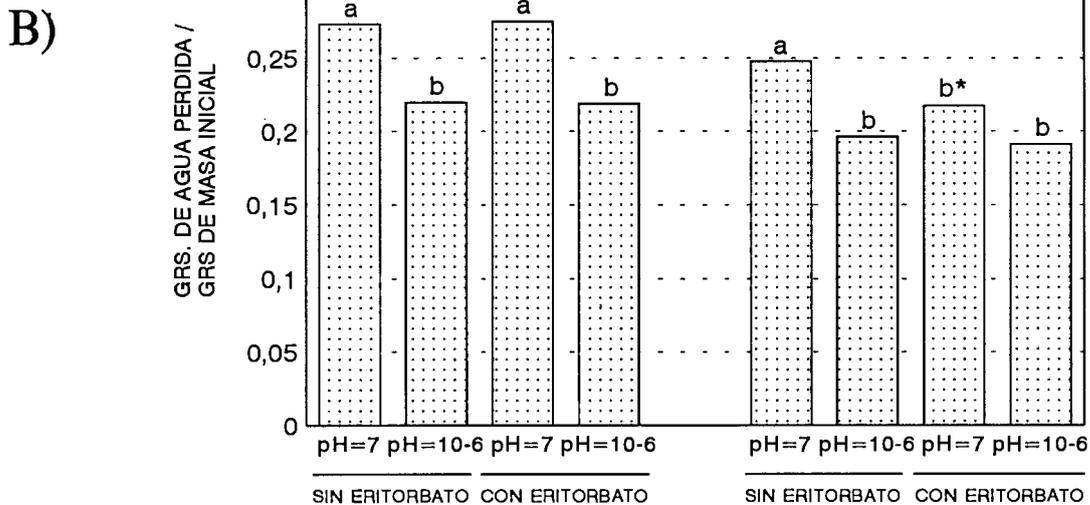
### **8.3.3. CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA (CRA) DE LOS GELES DE SURIMI.**

La capacidad de retención de agua (CRA) se muestra en la Fig. 30, donde se observan 2 formas de expresar esta misma: A (gr agua retenida/ gr s.s.) y B (grs de agua perdida/gr de masa inicial). La CRA expresada como agua retenida /base seca va de acuerdo a la definición de la misma, es decir, se refiere a la cantidad de agua que efectivamente queda retenida en la red del

# A) CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA GELES DE SURIMI



## GELES DE SURIMI



a, b dif. significativa para cada tratamiento  $P < 0.05$ .

\* Indica dif. significativa ( $P < 0.05$ ) entre pescado fresco y congelado para un mismo tratamiento. Valores promedio de 3 experimentos por separado con 10 repeticiones.

Figura 30. Cambios en la CRA de geles de surimi empleando diferentes tratamientos de lavado para músculo de pescado fresco y congelado.

gel formado. Por el contrario, la CRA expresada como gramo de agua perdida por gramo de masa inicial (parte B de la Fig. 30) es una medida indirecta de la fuerza del gel para retener una cierta cantidad de agua.

Para su determinación a los geles se les aplicó una fuerza externa, como en este caso fue la centrifugación a 10,000 X g durante 15 minutos.

En el músculo fresco, la CRA, al ser determinada como gramos de agua retenida/gramos de sólidos secos, tendió a disminuir por ambos tratamientos (pH=10-6 y 0.2% eritorbato de sodio), sin embargo, sólo la muestra en la que se combinaron ambos tratamientos se encontró una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) (Fig. 30A). Al determinar la CRA, dividiendo los gramos de agua retenida/gramos de masa inicial, se observó que sólo en las muestras lavadas con tratamiento alcalino disminuyó la CRA de los geles, respecto al control pH=7.

En el músculo congelado, se encontró que la CRA tendió a disminuir sin diferencia significativa por efecto de los tratamientos de lavado, con respecto al tratamiento control (pH=7) (Fig. 30B). Al determinarla como gramo de agua retenida/gramo de sólidos secos, la CRA disminuyó con ambos tipos de tratamiento (pH=10-6 y 0.2% eritorbato de sodio), pero sólo fue significativamente menor para los tratamientos que involucraron el lavado a pH=10-6. Al determinar la CRA dividiendo los gramos de agua retenida/gramos de masa inicial, se encontró que todos los tratamientos disminuyeron significativamente la CRA, respecto al tratamiento control (pH=7).

En general, la CRA no mostró disminución por efecto del almacenamiento en congelación (30 días a -20 °C), respecto al músculo fresco. Con excepción del gel de músculo congelado, lavado con pH=7 y 0.2% de eritorbato de sodio, que mostró un valor de CRA menor ( $P < 0.05$ ) al obtenido de músculo fresco con el mismo proceso, cuando se estimó midiendo los gramos de agua retenida/gramos de masa inicial (Fig. 30B).

De las respuestas obtenidas y esquematizadas en la Fig. 30 se observó, como se esperaba, que ambos métodos de determinación y de cálculo para la CRA mostraron la misma tendencia en función de los factores estudiados. Sin embargo, resultó más sensible, fácil y rápido, el cálculo para la CRA como agua perdida por gramo de gel inicial.

#### 8.3.4. ELECTROFORESIS.

La Fig. 31 muestra el patrón electroforético de pastas de surimi al emplear 2 tratamientos de pH (pH=7 y pH=10-6) para su elaboración, a los cuales se les incorpora o no eritorbato de sodio (0.2 % m/v), utilizando para ello pescado fresco (A) y pescado congelado (B).

Las pastas obtenidas de los diferentes tratamientos fueron solubilizadas en Tris.HCl 0.6 M de NaCl para su posterior análisis electroforético.

En la parte A de la Fig. 31 se observa la banda correspondiente a miosina (205,000) y la correspondiente a la de actina (45,000), donde se tuvo que entre los diferentes tratamientos, el comportamiento de estas dos fracciones proteicas, posee gran similitud. Así mismo se tiene que los distintos tratamientos empleados, para la elaboración de las diferentes pastas de surimi, no indujo agregaciones ó desnaturalizaciones de las dos más importantes fracciones proteicas (miosina y actina).

En la parte B de la Fig. 31 se observa un comportamiento similar al presentado en la parte A, para las diferentes fracciones proteicas, en donde no se observa la aparición de nuevas bandas. No existió diferencia entre el patrón electroforético que presentan las pastas de surimi de los diferentes tratamientos.

Comparando la parte A y B de la Fig. 31, no se observa la aparición de nuevas bandas por efecto de la congelación; lo cual indica que el músculo de *T. nilotica* no sufre un daño tan severo por efecto de congelación como otras especies que se reportan en la literatura.

#### 8.4. DISCUSIONES

Siendo el tratamiento térmico para elaborar los geles de surimi, una de las variables a controlar, se hacía importante su determinación; al mismo tiempo que la especie se caracterizaba determinando si presentaba los tres fenómenos de gelificación denominados suwari, modori y kamaboko, según la temperatura de formación del gel.

El análisis del perfil de textura permitió estimar los parámetros que caracterizan una muestra, pero debido a que esta prueba no posee la sensibilidad necesaria, las variables deben

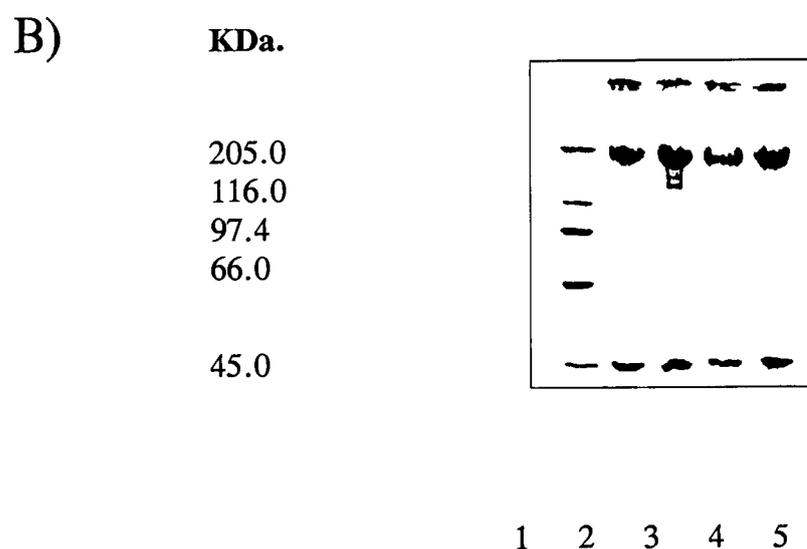
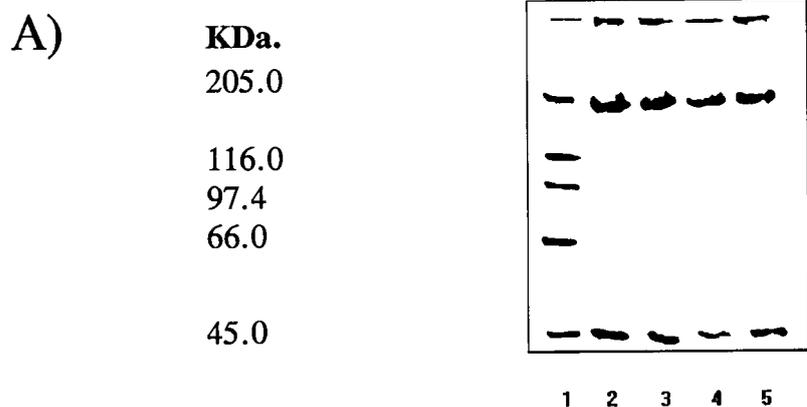


Figura 31. Patrón electroforético SDS-PAGE al 7% de pastas de surimi, a partir de dos tratamientos de lavado con y sin eritorbato de sodio (0.2 %m/v) respectivamente, las pastas fueron disueltas en Tris-HCl 0.6 M de NaCl, empleando para ello tanto pescado fresco (A) como congelado (B). Carril 1. Marcador de peso molecular, carriles 2 y 4. Tratamiento pH=7, carriles 3 y 5. Tratamiento pH=10-6 sin y con eritorbato respectivamente.

controlarse y la información obtenida reforzarse con la que se obtiene de otras técnicas, como son: solubilidad, capacidad de retención de agua, electroforesis, calorimetría, etc.

La solubilidad se ve afectada por el tipo de solvente en el cual la pasta es solubilizada, siendo más conveniente emplear agua desionizada 0 y 0.6 M de NaCl que el medio T-HCl 0 y 0.6 M NaCl. El empleo de agua como solvente permitió sin embargo, visualizar con mayor claridad el daño que provocó el método de lavado, ya que se aproxima más al modelo natural presente en el músculo (baja concentración salina).

Los resultados del estudio mostraron que la mejor condición para cumplir el objetivo de este trabajo la ofreció el tratamiento térmico 40 °C-30 min. /90 °C-15 min. obteniendo el gel denominado suwari-kamaboko, dado que los geles elaborados con este procedimiento presentaron una respuesta óptima en lo que se refiere a sus propiedades mecánicas empleando un 50 % de compresión en la prueba. Los geles así obtenidos permitieron visualizar mejor los posibles cambios provocados tanto por el pH del agua de lavado (parte B) y por efecto de la congelación con o sin agente reductor (parte C).

Aún cuando el método utilizado no logró revertir en su totalidad el daño provocado por la congelación empleando la técnica de elaboración de surimi, la proteína miofibrilar de la especie de pescado *T. nilotica* es apropiada para la elaboración y comercialización potencial de geles de surimi, aún cuando se emplee para su elaboración pescado congelado (30 días). Este recurso pesquero representa una posibilidad para ser comercializado como geles de surimi, alimento o materia prima de la Industria Alimentaria con alto contenido proteico de origen animal.

## **9.CONCLUSIONES**

### **9.1. Para la primera etapa del trabajo: Selección del tratamiento térmico de la pasta de surimi.**

La especie de pescado la cual fue base importante del estudio mojarra tilapia (*T. nilotica*), muestra los tres diferentes fenómenos de gelificación: a bajas temperaturas  $< 40$  °C, medias  $60$  °C y altas  $> 80$  °C, cuyos geles obtenidos son denominados suwari, modori y kamaboko respectivamente.

El estudio del efecto de compresión de los diferentes tipos de geles, mostró que dentro del rango de  $30$  a  $60$  % de compresión, la respuesta es lineal y depende del grado de compresión, dado que a un  $75$  % de compresión los geles muestran fractura y se pierde la linealidad de la respuesta.

Un  $50$  % de compresión permitió estar dentro del rango lineal, este por ciento ofreció un procedimiento óptimo para el análisis, dado que los geles no presentan fractura.

Los geles denominados suwari-kamaboko, obtuvieron los mejores atributos texturales, mayor dureza, cohesividad y resortividad, lo cual es conveniente para visualizar los cambios posibles provocados por modificaciones en la forma de obtener el surimi o alteraciones del músculo sufridas por la congelación.

### **9.2. Segunda etapa del trabajo: Selección del método de lavado para la obtención de la pasta de surimi.**

De los diferentes análisis realizados tanto a las pastas de surimi como a los geles obtenidos de las mismas, muestran que de los diferentes tratamientos de lavado ( $\text{pH}=7$ (control),  $\text{pH}=10-7$ ,  $\text{pH}=10-6$  y  $\text{pH}=10-5$ ) la pasta obtenida del tratamiento denominado  $\text{pH}=10-6$  fue con la que obtuvo mayores valores de dureza, solubilidad, capacidad de retención de agua, mayores que la del control, lo cual sugiere un mejor gel; empleando para ello músculo de pescado fresco.

Sin embargo, el empleo de un pH alcalino en el agua de lavado como medida para obtener una

mayor solubilidad de la pasta de surimi, provoca un daño estructural en las proteínas miofibrilares (miosina y actina), lo cual se puede ver por el corrimiento de las temperaturas máximas de transición de estas proteínas medidas por DSC y la presencia de bandas correspondientes a miosina en medio solubilizante agua 0 M NaCl, medido por electroforesis.

### **9.3. Tercera etapa del trabajo: Efecto del pH del agua de lavado y de la presencia de un agente reductor en la aptitud gelificante y capacidad de retención de agua del gel de surimi a partir de músculo de pescado fresco y congelado.**

De los tratamientos estudiados, pH=10-7 y pH=10-6, con o sin 0.2% de eritorbato de sodio (p/v), respectivamente, solo el tratamiento alcalino pH=10-6, en combinación con el eritorbato de sodio, incrementó la solubilidad de la pasta de surimi obtenida de pescado fresco. Sin embargo, el incremento en la solubilidad empleando un pH elevado, no estuvo asociado con la obtención de mejores atributos funcionales, tales como dureza, cohesividad, resortividad o capacidad de retención de agua.

En general, el empleo del pH alcalino incrementó la dureza de los geles de músculo fresco, disminuyendo su resortividad, cohesividad y capacidad de retención de agua.

En músculo congelado, ninguno de los tratamientos provocó un incremento de la solubilidad. El tratamiento pH=10-6, con o sin 0.2% de eritorbato de sodio, provocó un incremento de la dureza y la disminución de la cohesividad, resortividad y capacidad de retención de agua.

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los tratamientos propuestos, permite incrementar la funcionalidad de las proteínas miofibrilares. Es probable, que esto se deba, a que el lavado a pH 10, afecta la estructura nativa de las proteínas, como se concluyó en la segunda etapa, lo cual incrementa su tendencia a la agregación. La ineffectividad del eritorbato de sodio, puede estar asociado, a su presencia en forma residual en el surimi, inhibiendo la formación de enlaces disulfuro, considerados de gran importancia durante la gelificación térmica. Sin embargo, este último aspecto debe de investigarse mas a fondo.

Es conveniente realizar estudios complementarios, que permitan ver el efecto de lavados

a pH alcalino menos drástico, como serían pH 8 y 9, así como, la eliminación del agente reductor en el último lavado. También es conveniente establecer el efecto de ambos tratamientos en el músculo de pescado fresco y congelado, durante la obtención del sol, en la máquina cortadora.

## 10. BIBLIOGRAFIA

- 1) Anglemier, A.F. y Montgomeri, M.W., 1976. Amino acids, peptides and protejns. En; Principles of Food Science. Part I. Food Chemistry (O. R. Fennema, ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A. pp 205-284.
- 2) Badui, S.D., 1982. Química de los Alimentos. Editorial Alhambra Mexicana. México, D.F. Pag. 432
- 3) Badui, S.D., 1994. Química de los alimentos. Editorial Alhambra Mexicana. México, D.F.
- 4) Bernal , V.M., C.H. Smajda, J.L. Smith, y D.W. Stanley, 1987. Interactions in protein/polysaccharide/calcium gels. J. Food Sci. 52: 1121.
- 5) Biliaderis, C.G., 1992. Thermal Analysis of Food Carbohydrates In: "Thermal Analysis of Foods" ed. V.R. Harvalker and C.Y. Ma. Elsevier Applied Science Publishers. New York. pp 168-220.
- 6) Burgarella, , J.C., T.C. Lanier y D.D. Hamann, 1985a. Effects of added egg white or whey protein concentrate on thermal transition in rigidity of croaker surimi. J. Food Sci. 50: 1588.
- 7) Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1992a. Cross-linking of myosin Heavy chains from cod, herrong and silver hake during thermal setting. J. Food Sci. 57: 906.
- 8) Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1992b. The dynamic of thermal denaturation of fish myosins. Food Res. International. 25: 117.
- 9) Cheng, C.S. Hamann D.D., Webb, N.B. and Sidwell, V. 1979. Effects of species and storage time on minced fish gel texture. J. Food Sci. 44: 1087.
- 10) Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R., 1987. Análisis Químico de Alimentos. Capítulo 2.
- 11) Fennema, R. O., 1982. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. Editorial Reverté, S.A.Barcelona, España.
- 12) Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B. Judge, M.D. and Merkel, R.A. , 1979. Fundamentos de ciencia de la carne. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp 365.
- 13) Hamann, D.D., Amato, P.M., Wu, M.C. and Foegeding, E.A. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydrolysis and egg white. J. Food Sci. 55: 665.

- 14) Hermansson, A.M., 1979. Aggregation and denaturation involved in gel formation, In: *Functionality and protein structure* (A. Pour-El, Ed), Am. chem. Soc. Washington, D.C., U.S.A. pp 81-103.
- 15) Hultin, H.O., 1986. Characteristics of muscle tissue. In: *Principles of food proteins*. Part I. Food chemistry (O.R. Fennema, Ed). Segunda edición. Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y., U.S.A. pp 725-789.
- 16) Ishirioishi, M., Semejima, K. and Yasui, T., 1979. Heat induced gelation of myosin: factors of pH and salt concentrations. *J. Food Sci.* 44: 1281.
- 17) Iwata, K., Kobashi, K. and Hase, J., 1977. Studies on muscle alkaline protease-6. purification of proteins which induce the "modori" phenomenon during Kamaboko productions and of cathepsin A from carp muscle. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 43: 181. Citado por Stone and Stanley, 1992.
- 18) Kamath, G.G., Lanier, T.C., Foegeding E.A. and Hamann, D.D., 1992. Nondisulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in "setting" of alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16: 151.
- 19) Karmas, E. and DiMarco, G.R., 1970. Denaturation thermoprofiles of some proteins. *J. Food Sci.* 35: 725.
- 20) Kim, B. Y., Hamann, D.D., Lanier, T.C. and Wu, M.C., 1986. Effects of freeze-thaw abuse on the viscosity and gel-forming properties of surimi from two species. *J. Food Sci.* 51: 951.
- 21) Kinsella, J.E., 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 56: 242.
- 22) Montejano, J.G. Hamann y T.C. Lanier, 1984. Thermally induced gelation of selected comminuted muscle systems-rheological changes during processing, final strenghts and microestructure. *J. Food Sci.* 49: 1496.
- 23) Kramer A. and Twigg B., 1970. *Color and Gloss in: Quality Control for the Food Industry.* AVI Westport, Conn., U.S.A.
- 24) Laemli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680.
- 25) Lanier, T.C. and Hamman, D.D., 1983. Evaluation of volume and pressure changes during

heating as indices of protein gelation in fish pastes. *J Food Sci.* 48: 1678.

26) Lanier, T.C., Lin, T.S., Hamann, D.D., and Thomas, F.B., 1981. Effects of alkaline protease in minced fish on texture of heat-processed gels. *J. Food Sci.* 46: 1643.

27) Lanier, T.C., Lin, T.S., Liu, Y.M. and hamann, D.D., 1982. Heat gelation properties of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker. *J. Food Sci.* 47: 1921.

28) Lanier, 1986. Functional properties of surimi. *Food Technol.* 40: 107.

29) Lee, C.M., 1984. Surimi process Technology. *Food Technol.* 38 (11): 69.

30) Lee, C.M., 1986. Surimi manufacturing and fabrication of surimi based products. *Food Technology* 40 (3): 115-124.

31) López, G., Ramírez, J.A., Martín, M., 1995. Técnica montada para el análisis cuantitativo (solubilidad de surimi). Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos, DIPA, U.A.Q..

32) Lorient, D., 1986. Propiedades funcionales de las proteínas de origen animal. En: *Proteínas Animales* (C.M. Bourgeois y P. Le Roux Coord.). El Manual Moderno. México D.F. pp 7-34.

33) Mackfarle, J.J. , Schmidt and Turner, R.H., 1977. Binding of meat pieces. A comparison of miosyn, actomiosyn and sarcoplasmic proteins as binding agents. *J. Food Sci.* 42: 1603.

34) Makinodan, Y. y S. Ikeda, 1977. Alkaline proteinase of carp muscle: Effect of some protein denaturing agents on the activity. *J. Food Sci.* 42:1026.

35) Makinodan, Y., H. Toyohara y E. Niwa., 1985. Implication of muscle alkaline proteinase in the textural degradation of fish meat gel. *J. Food Sci.* 50:1531.

36) Matsumoto, J.J. and Noguchi, S.F. 1992. Cryostabilization of protein in surimi. In: *Surimi Technology* (T.C. Lanier and C.M. Lee, Eds. ) Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., U.S.A. pp 23-40.

37) Nakai, S., 1983. Structure-function relationships of food proteins with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity. *J. Food Agric. Food Chem.* 31: 676.

38) Niwa, E. 1985. Functional aspects of surimi. Presented in the International symposium on Engineering Sea Food, including surimi. Seattle. Wash., E.U.A.

39) Niwa, E., Yamada, H., Kanoh, S. and Nakayama, T. 1989. Thermal behavior of actomyosins

subunits during setting of salted fish flesh sol. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55: 1997. Citado por Stone and Stanley, 1992.

40) Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation. In: *Surimi Technology* (T.C. Lanier and C.M. Lee, Eds). Marcel Dekker, inc., New York, N.Y., U.S.A. pp 23-40

41) Noguchi, S., 1970. Studies of the Freezing Denaturation with the model system of fish muscle proteins, *New Food Industry*, 12 (12): 19-21.

42) Okada, M., Miyauchi, D. and Kudo, G., 1973. "Kamaboko" The giant among japanese processed fishery products. *Marine Fish. Rev.* 35: 1.

43) Okada, M. 1992. History of surimi technology in Japan. In: *Surimi Technology* (T.C. Lanier and C.M. Lee, Eds) Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., U.S.A. pp 23-40.

44) Pacheco, A.R., Crawford, D.L. and Lampila, L.E., 1989. Procedures for the efficient washing of minced whiting (*Merluccius productus*) fleshs for surimi production. *J. Food Sci.*, 53 (2): 250.

45) Park, J.W. and Lanier, T.C., 1989. Scanning calorimetric behavior of *Tilapia* myosin and actin due to processing of muscle and protein purification. *J. Food Sci.* 54 (1): 49.

46) Park, J.W., Korhonen, R.W. and Lanier, T.C. 1990. Effects of rigor mortis on gel-forming properties of surimi on unwashed minced prepared from *tilapia*. *J. Food Sci.* 55: 353.

47) Price, J.F., Schweigert, B.S., 1976. *Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Editorial Acribia, Zaragoza. pp 668.

48) Ramírez de León, J.A. 1993. "*Estudio del efecto estabilizante que ejercen los carbohidratos de bajo peso molecular sobre las propiedades funcionales de la miosina de pescado en función de la temperatura*". Protocolo de investigación para optar por el grado de Doctor en Ciencias. Universidad Autónoma de Querétaro.

49) Ramírez de León, J.A. 1995. Estudio de tipo de interacciones que participan en la insolubilización de la miosina de pescado (*T. nilotica*) almacenada a -20 °C. Trabajo presentado en el IX Simposio CONCYTEQ Septiembre 1995.

50) Roussel, H. and Cheftel, J. C., 1990. Mechanisms of gelation of sardine proteins: influence

of thermal processing and of various additives on the texture and protein solubility of Kamaboko gels. *Int. J. Food Sci. Technol.* 25: 260.

51) Scott, D.N., Porter, R.W., Kudo, G., Miller, R. and Koury, B., 1988. Effect of freezing and frozen storage of Alaska Pollock on the chemical and gel-forming properties of surimi. *J. Food Sci.*, 53 (2): 354-356.

52) Schmidt, G.R., R.F. Mawson y D.G. Siegel, 1981 Functionality of a protein matrix in comminuted meat products. *Food Technology*. 5: 235.

53) Secretaría de Pesca 1991. Anuario estadístico de pesca 1989. México, D.F.

54) Sharp, A. and Offer, G. 1992. The mechanism of formation of gels from myosin molecules. *J. Sci. Food Agric.* 58: 63.

55) Shimizu, Y. 1985. Biochemical and functional properties of material fish. Presented in the International Symposium on Engineering Sea Food, including Surimi. Seattle, Wash., U.S.A.

56) Siegel, D.G. and Schmidt, G.R. 1979. Crude myosin fractions as meat binders. *J. Food Sci.* 44: 1129.

57) Simpson, R., Kolbe, E., MacDonald, G., Lanier, T. and Morrissey, M.T., 1993. The feasibility of producing surimi from partially processed and frozen Pacific Whiting (*Merluccius productus*). Oregon State University Seafood Laboratory.

58) Solís Hernández, J.B., 1994. Jefe del Departamento de Acuicultura de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario de Querétaro.

59) Sonu, S.C. 1986. Surimi. Technical Memorandum. National Oceanic and Atmospheric Administration. National Marine Fisheries Service. Terminal Island, California, U.S.A.

60) Stone, A.P. and Stanley, D.W. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. *Food Res. International*. 25: 381.

61) Suzuki, T. 1981. Fish and Krill protein: processing technology. Applied Science Publishers, LTD, London. pp 260.

62) Taguchi, T., Ishizaka, H., Tanaka, M. Nagashima, Y. and Amano, K., 1987. Protein-protein interaction of fish myosin fragments. *J. Food Sci.* 52: 1104.

63) Toyoda, K., Kimura, I., Fujita, T., Noguchi, S.F. and Lee, C.M., 1992. The surimi

- manufacturing process. In: *Surimi technology* ( T.C. Lanier and C.M. Lee, Eds. ) Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., U.S:A: pp 79-112.
- 64) Tsuchiya, Y., Tsuchiya, T. and Matsumoto, J.J., 1980. The nature of cross-bridge constituting aggregates of frozen thawed carp myosin and actomyosin, in *Advances in Fish Science and Technology* (Connell, J.J., ed. ), Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England, pp 434-438.
- 65) Xiong, Y.L., 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: implications of biochemical and functional properties in meat processing. *CRC Crit. rev. Food Sci. Nutr.* 34: 293-319.
- 66) Yamamoto, K., 1990. Electron microscopy of thermal aggregation of myosin. *J. Biochem* 108: 896.
- 67) Yasui, T., Ishiroshi, M., Nakano, H. and Samejima, K. 1979. Changes in shear modulus, ultrastructure and spin-spin relaxation times of water associated myosin head-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.* 44: 1201.
- 68) Whiting, R. C., 1987. Influence of various salts and water soluble compounds on the water and fat exudations and gel strength of meat batters. *J. Food Sci.* 52 : 1130.
- 69) Wicker, L., Lanier, T.C., Hamann, D.D. and Akahane, T., 1986. Thermal transitions in myosin ANS fluorescence and gel rigidity. *J. Food Sci.* 51: 1540.
- 70) Wu, M.C., Akahane, T., Lanier, T.C. and Hamann, D.D., 1985a. Thermal transitions of actomyosin and surimi prepared from Atlantic Croaker as studied by differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.* 50: 10.