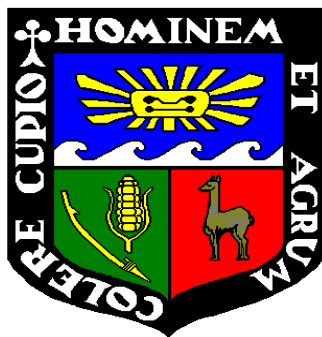


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



**DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL CITRATO DE SODIO EN LA
GELIFICACIÓN DEL SURIMI DE POTA (*Dosidicus gigas*)**

Presentado por:

FRANK ANDERSON NOÉ ESCOBEDO CABRERA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO PESQUERO

Lima-Perú

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL CITRATO DE SODIO EN LA
GELIFICACIÓN DEL SURIMI DE POTA (*Dosidicus gigas*)”**

Tesis para optar el título de Ingeniero Pesquero

Presentado por:

FRANK ANDERSON NOÉ ESCOBEDO CABRERA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

.....
M. Sc. Raúl Del Carmen Porturas Olaechea

Presidente

.....
M. Sc. Tito Eduardo Llerena Daza

Miembro

.....
M. Sc. David Julián Roldán Acero

Miembro

.....
Dr. César Antonio Pizardi Díaz

Asesor

que siempre han confiado en mí y me han apoyado en los grandes desafíos que he emprendido durante estos años, por su gran amor y sus sinceros consejos y aliento, para continuar a pesar de todas las dificultades, por este largo camino de formación profesional y personal que he recorrido y también por enseñarme que con perseverancia y esfuerzo se pueden alcanzar las metas que uno se propone en la vida.

Dedico esta tesis a mi mamá Mercedes, a mi papá Segundo, a mi hermano Raúl y a Lissié

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en mi primer lugar a Dios porque siempre me ha guiado y me ha dado fortaleza en los momentos más difíciles que me ha tocado enfrentar en la vida.

Un agradecimiento al Instituto Tecnológico Pesquero del Perú, en especial a mi amigo el Ing. Santos Teodoro Maza Ramírez, por su confianza y valiosa ayuda académica, sabios consejos y mucha paciencia durante el largo desarrollo del presente trabajo de investigación.

Un profundo agradecimiento también a mi amigo el Ing. Carlos Daniel Pariona Velarde, por su amistad desinteresada y valiosa ayuda, por sus conocimientos, paciencia, consejos y aliento en los momentos decisivos de este trabajo.

Agradecer al Dr. César Antonio Pizardi Díaz por su asesoría, consejos, gran paciencia y gran apoyo en la redacción del presente trabajo de investigación.

Me gustaría agradecer al personal que labora en el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú, en especial a la Sra. Alicia y la Sra. Olga por el apoyo en la prestación de materiales de laboratorio necesarios para el trabajo experimental, así como al Sr. Elmer y al Sr. Juan, por brindarme las facilidades para la conservación de la materia prima en las cámaras de almacenamiento congelado.

“Cuando sientas que ya no se puede seguir adelante, acuérdate de todo lo que hiciste para llegar hasta donde has llegado, acuérdate del sacrificio y la valentía para continuar a pesar de todo, siempre fuerte, siempre perseverante, siempre adelante”.

“La mente que se abre a una nueva idea, jamás volverá a su tamaño original”

Albert Einstein

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	02
2.1 GENERALIDADES SOBRE LA POTA	02
2.1.1 Clasificación taxonómica	02
2.1.2 Características biológicas	02
2.1.3 Estructura muscular	04
2.1.4 Enzimas proteolíticas	05
2.1.5 Composición química	07
2.1.5.1 Composición química próxima	07
2.1.5.2 Nitrógeno no proteico	07
2.1.6 Desembarque y exportación	09
2.2 PROTEÍNAS MUSCULARES	10
2.2.1 Introducción	10
2.2.2 Proteínas miofibrilares	12
a. Miosina	13
b. Actina	14
c. Actomiosina	14
d. Otras proteínas miofibrilares	14
e. Paramiosina	16

2.3 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	17
2.3.1 Gelificación	19
2.3.1.1 Mecanismos de la gelificación térmica	20
a. Disociación	20
b. Desnaturalización térmica	21
c. Agregación y formación de la red tridimensional	22
2.3.1.2 Tipos de enlaces formados en la gelificación térmica	22
a. Enlaces de hidrógeno	22
b. Interacciones electrostáticas	23
c. Interacciones hidrofóbicas	23
d. Enlaces covalentes	24
2.3.1.3 Factores que afectan la gelificación térmica	24
2.3.2 Solubilidad	25
2.4 PROCESAMIENTO DE SURIMI DE POTA	26
2.5 ALTERACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL MÚSCULO POR FRÍO	28
2.5.1 Cambios en las propiedades funcionales	29
2.5.2 Aditivos utilizados para la crioprotección	30
2.5.2.1 Azúcar y sorbitol	30
2.5.2.2 Polifosfatos	32
2.5.2.3 Ácidos carboxílicos	32
2.5.2.4 Multifuncionalidad del citrato de sodio	33
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1 Lugar de ejecución	34
3.2 Materiales y reactivos	34
3.2.1 Equipos	34
3.2.2 Material de laboratorio	36
3.2.3 Reactivos	36

3.3 Metodología experimental	36
3.3.1 Preparación del surimi	36
3.3.2 Preparación del gel de surimi	41
3.3.3 Variables estudiadas	44
3.3.4 Métodos de evaluación	45
3.3.4.1 Funcionalidad del gel de surimi	45
a. Análisis de textura	45
b. Prueba de doblez	46
3.3.4.2 Caracterización del sol y gel de surimi	47
a. Determinación de la humedad	48
b. Medición del pH	48
c. Determinación del color	48
3.3.5 Análisis estadístico	49
3.3.5.1 Dureza	49
3.3.5.2 Elasticidad	50
3.3.5.3 Fuerza de gel	51
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
V. CONCLUSIONES	77
VI. RECOMENDACIONES	79
VII. BIBLIOGRAFÍA	80
VIII. ANEXOS	91

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Enzimas proteolíticas presentes en el tejido muscular	06
Cuadro 2. Composición química promedio del manto de la pota	07
Cuadro 3. Contenido de nitrógeno proteico y no proteico en el músculo de pota	08
Cuadro 4. Propiedades funcionales atribuidas a proteínas en la carne y sistemas cárnicos	18
Cuadro 5. Preparación de dos lotes de surimi de manto de pota.	40
Cuadro 6. Tratamientos y aditivos (%) por peso para la elaboración de geles a partir de surimi de manto de pota	43
Cuadro 7. Grados comerciales de surimi de Alaska pollack	46
Cuadro 8. Escala de calificación de la prueba de doblez	48
Cuadro 9. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote A)	52
Cuadro 10. Prueba de doblez de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote A)	54
Cuadro 11. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote B)	55
Cuadro 12. Prueba de doblez de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote B)	57

- Cuadro 13. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A) 61
- Cuadro 14. Prueba de doblez de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A) 63
- Cuadro 15. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote B) 64
- Cuadro 16. Prueba de doblez de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote B) 67
- Cuadro 17. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A) 73
- Cuadro 18. Prueba de doblez de los geles elaborados con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A) 76

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Pota (<i>Dosidicus gigas</i>)	03
Figura 2. Estructura del manto: Túnica y fibra muscular	05
Figura 3. Desembarque de pota	09
Figura 4. Evolución de las exportaciones de surimi de pota congelada	10
Figura 5. Interacción de la cabeza globular (miosina) y el filamento de actina	12
Figura 6. Complejo de filamento delgado (actina) con tropomiosina y troponina	16
Figura 7. Equipos utilizados	35
Figura 8. Cortado de manto de pota	37
Figura 9. Flujograma de procesamiento de surimi de manto de pota	38
Figura 10. Lixiviación ácida salina de la carne picada de manto de pota	39
Figura 11. Prensado de la carne lixiviada de manto de pota	39
Figura 12. Carne de pota desmenuzada en cúter	40
Figura 13. Flujo experimental del procesamiento de gel de dos lotes de surimi de manto de pota congelado (-25°C).	41
Figura 14. Preparación del sol de surimi de pota	42
Figura 15. Geles de pota tipo kamaboko	44

Figura 16. Prueba de punción del gel de pota	45
Figura 17. Cortado de geles de pota para la prueba de doblez	47
Figura 18. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con adición de Na-citrato y CaCl ₂	53
Figura 19. Determinaciones (%) y grado de los geles de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote A)	54
Figura 20. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y CaCl ₂	56
Figura 21. Determinaciones (%) y grado de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl ₂ (Lote B)	57
Figura 22. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con adición de Na-citrato y 1,5% NaCl	62
Figura 23. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl	63
Figura 24. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y 1,5% de NaCl	65

- Figura 25. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con diferentes cantidades de Na-citrato y 1.5% de NaCl 67
- Figura 26. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol; Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y 1,5% de NaCl 71
- Figura 27. Dureza, deformación y fuerza de gel de los geles a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con altas cantidades de Na-citrato y 1.5% de NaCl 74
- Figura 28. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl 76

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue la determinación del efecto del citrato de sodio (Na-citrato) en la gelificación térmica del surimi de pota *Dosidicus gigas*.

La tecnología usada para la preparación del surimi fue la lixiviación ácida salina, a partir del cual se obtuvieron los geles de pota. La metodología experimental fue la siguiente: se picaron 200 g de surimi de pota congelado para luego homogeneizarse en un molino multi-mezclador a 20 000 rpm por 1 minuto. Se adicionaron diferentes cantidades de Na-citrato (0,25%, 1,27%, 1,5%, 2,0%, 3,0% y 7,74%), 0,5% de cloruro de calcio (CaCl_2) y 1,5% de cloruro de sodio (NaCl) para la obtención del sol de surimi. Se continuó con el mezclado de la masa total en el molino multi-mezclador por 3 minutos hasta alcanzar una temperatura de 5°C. Se procedió al llenado del sol de surimi en envases cilíndricos de acero inoxidable, luego fueron dejados en baño maría a 90°C por 25 minutos, enfriados inmediatamente en agua con hielo por 30 minutos y, finalmente, los geles obtenidos fueron almacenados a 4°C por 18 horas antes de las evaluaciones. Se determinaron las propiedades de textura como la fuerza de gel (g.cm), dureza (g), elasticidad (mm) y prueba de doblez.

Los resultados demostraron que las mejores propiedades de textura del gel se alcanzaron con 0,25% de Na-citrato, aunque las mezclas de 1,27% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 , así como también 2,0% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 , también presentaron buenas propiedades de textura. Se encontró una fuerte disminución de las propiedades de textura de los geles elaborados con las mezclas de 0,25% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 y también con 1,5% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 ; sin embargo, en ambos casos, la prueba de doblez mostró geles de grado AA. Un aumento de Na-citrato a 3,0% y 0,5% de CaCl_2 incrementó la fuerza de gel pero a una mayor cantidad tal como 7,74% de Na-citrato, disminuyó considerablemente.

Por los resultados obtenidos, se demostró que es posible reemplazar al NaCl por el Na-citrato en la elaboración de geles de pota debido a la alta fuerza de gel obtenida con las diferentes cantidades adicionadas de Na-citrato (0,25% a 2,0%).

Palabras clave: Na-citrato, surimi de pota, lixiviación, gelificación térmica.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of sodium citrate on the thermal gelation of giant squid *Dosidicus gigas* surimi.

The technology used to prepare giant squid surimi was the acid-saline lixiviation, from which giant squid gels were obtained. The experimental methodology was the following: 200 g of frozen giant squid surimi was pricked and then homogenized in a multi-blender mill at a speed of 20 000 rpm for 1 minute. Various amounts of sodium citrate (0,25%, 1,27%, 1,5%, 2,0%, 3,0% and 7,74%), 0,5% calcium chloride and 1,5% sodium chloride were added to obtain surimi sol. The mixing of the total mass was continued in the multi-blender mill for 3 minutes to reach a temperature of 5°C. Sol surimi was filled in stainless steel cylindrical containers, then they were left in water bath at 90°C for 25 minutes, cooled immediately in ice water for 30 minutes and finally the gels obtained were stored at 4°C for 18 hours before assessments. It was determined textural properties as gel strength (g.cm), hardness (g), elasticity (mm) and fold test.

The results showed that best textural properties of gels were achieved with 0,25% sodium citrate, although mixtures of 1,27% sodium citrate and 0,5% calcium chloride, and also 2,0% sodium citrate and 0,5% calcium chloride, showed good textural properties. There was a strong decrease of textural properties of gels produced with mixtures of 0,25% sodium citrate and 0,5% calcium chloride, and also 1,5% sodium citrate and 0,5% calcium chloride; however, in both cases, fold test showed gels with grade AA. An increase of sodium citrate to 3,0% and 0,5% calcium chloride increased gel strength but with a greater amount such as 7,74% sodium citrate, it sharply decreased.

According with results obtained, it was shown that is possible to substitute NaCl by sodium citrate in the elaboration of giant squid gels because of the highest gel strength obtained with different amounts of sodium citrate added (0,25% to 2,0%).

Keywords: sodium citrate, giant squid surimi, lixiviation, thermal gelation.

I. INTRODUCCIÓN

En esta búsqueda de nuevos recursos marinos para ser utilizados en el procesamiento de surimi se encuentran los cefalópodos como la pota *Dosidicus gigas*, muy abundante alrededor del mundo, con características inherentes como el color blanco y la poca cantidad de grasa del músculo permiten su utilización en la preparación de análogos de mariscos y otros nuevos productos con alto valor nutricional, basados en la formación de gel de sus proteínas musculares, principalmente las miofibrilares (Maza *et al.*, 2003, Maza y Rosales, 2004; Careche *et al.*, 2005; Sánchez-Alonso *et al.*, 2007; Cortés-Ruiz *et al.*, 2008; Campo-Deaño *et al.*, 2009).

El surimi de pota es principalmente la concentración de proteínas miofibrilares a partir de carne cruda picada y mezclada con crioprotectores para conservar sus propiedades funcionales en condiciones de almacenamiento congelado, especialmente la capacidad de gelificación. Cuando esta concentración de proteínas miofibrilares es mezclada con cloruro de sodio (NaCl) u otros aditivos o ingredientes, antes del tratamiento térmico, se modifica la textura y se mejora la capacidad de formación de gel. La adición de NaCl es esencial para la solubilización de la proteína miofibrilar y posterior formación del gel.

El citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), sal orgánica proveniente del ácido cítrico, se presenta como un aditivo que permite una mayor capacidad de solubilización de proteínas miofibrilares y una muy poderosa capacidad de inhibición de la autólisis, mejorando ambas las propiedades del gel (Kuwahara *et al.*, 2006). A través de esta supresión de la actividad proteolítica, el citrato de sodio promovería una mejor capacidad de formación de gel, capacidad de retención de agua y solubilización de las proteínas miofibrilares, empleándose además en menor concentración que el NaCl (Kuwahara y Konno, 2010).

Por lo tanto, el objetivo de la presente tesis es determinar el efecto del citrato de sodio en la gelificación térmica del surimi de pota *Dosidicus gigas*, a través de la evaluación de sus propiedades reológicas (fuerza de gel, dureza, elasticidad) y prueba de doblez, en comparación con NaCl utilizado convencionalmente a nivel industrial y en laboratorio.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 GENERALIDADES SOBRE LA POTA

2.1.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la pota se da a continuación (Ehrhardt *et al.*, 1986):

Reino	Animalia
Phylum	Mollusca
Clase	Cephalopoda
Sub-clase	Coleoidea
Orden	Teuthoidea
Sub-orden	Oegopsida
Familia	Ommastrephidae
Sub-familia	Ommastrephinae
Género	<i>Dosidicus</i> (Steenstrup, 1857)
Especie	<i>Dosidicus gigas</i> (D'Orbigny, 1835)

2.1.2 Características biológicas

La pota es un cefalópodo que pertenece a la familia *Ommastrephidae*, especie *Dosidicus gigas*, que alcanza un peso de aproximadamente 50 Kg. y una longitud de manto (LM) de 1,2 m (Nigmatullin *et al.*, 2001). Ver Figura 1.

La familia *Ommastrephidae* está caracterizada por un manto elongado, con forma de torpedo, afilado en el extremo; aletas largas y terminales; cartílago de fijación sifonal en forma de “T” invertida; ocho brazos y dos tentáculos alrededor de la boca; dos hileras de ventosas en los brazos y cuatro sobre las mazas tentaculares terminales. Usualmente, uno de los pares ventrales del brazo (el IV) está hectocotilizado en los machos (utilizado para la transferencia de paquetes de esperma a las hembras), la estructura de la porción modificada (hectocotilo) de este brazo es útil en la mayoría de las especies como un carácter de diagnóstico (Ehrhardt *et al.*, 1986).



Figura 1. Pota (*Dosidicus gigas*)

Fuente: Von Thun (2011)

Por otro lado, la subfamilia *Ommastrephinae* se distingue por la presencia de una cavidad cóncava central (foveola) y varios plegamientos laterales o bolsas en el surco del sifón y por la presencia de los fotóforos a menudo profundamente enterrados en el tejido del manto, cabeza y brazos. Dentro de esta subfamilia se encuentra el género *Dosidicus*, el cual alcanza una talla total cercana a los 4 metros (Ehrhardt *et al.*, 1986).

La pota es una especie oceánica que realiza migraciones hacia la costa relacionadas con procesos de alimentación y reproducción. Su distribución térmica es bastante amplia, abarcando desde los 16°C hasta los 30°C, hasta incluso a 30-32°C en aguas ecuatoriales, por lo cual se le denomina como una especie euritérmica (Markaida, 2001).

Es un predador activo, siendo los copépodos, anfípodos hipéridos, eufásidos, langostinos pelágicos, cangrejos rojos “langostillas” (*Pleuroncodes planipes*), moluscos heterópodos, calamar, octópodos pelágicos y muchos peces las especies presa más comunes. La gama de alimentación cambia continuamente con el crecimiento del depredador, desde invertebrados macroplánctónicos y alevines de peces (en juveniles) a peces y calamares (en adultos) (Nigmatullin *et al.*, 2001).

La reproducción es durante todo el año con un pico en el desove durante primavera y verano en el hemisferio sur (Octubre-Enero). Es una especie monocíclica, pues particularmente tiene solamente una temporada reproductiva durante su vida, que se realiza en una posición de cabeza a cabeza; donde los espermatozoides son colocados sobre la membrana bucal de la hembra (Nigmatullin *et al.*, 2001).

2.1.3 Estructura muscular

El tejido muscular en el manto, aleta y tentáculos está conformado por fibras circulares orientadas tridimensionalmente, constituida por un conjunto de fibras musculares orientadas en forma circular y radial, envueltas por tejidos conectivos que están conformados por las proteínas del estroma, las cuales tienen una estrecha relación con la mayor dureza y firmeza de su músculo (Otwell y Giddings, 1980).

Según la observación microscópica, las fibras musculares finas del manto parecen más bien lisas que estriadas aunque son consideradas como músculo estriado oblícuo. Los tejidos conjuntivos no son tan gruesos como los del pescado, sino están formados por finas hebras dispersas entre las fibras musculares (Maza, 2002). Estas fibras tienen un tamaño aproximado de 3,5 μm de diámetro, muy inferiores a los valores de 90-100 μm propios de las fibras musculares de la carne (Llorca, 2003).

La piel que cubre el músculo del manto de calamar está conformada por 4 capas (Figura 2). Las dos primeras capas del lado externo contienen entre ellas los pigmentos celulares (cromatóforos), los cuales contienen melanina. Por su constitución, las primeras dos capas deben removerse del músculo en la operación de pelado usual antes de su almacenamiento para evitar el rompimiento de los cromatóforos y el manchado de color rosado de la carne (Kugino y Kugino, 1994; Maza, 2005).

La tercera y cuarta capa están compuestas por tejido conectivo en forma de filamentos delgados. Estas deben ser separadas del músculo antes de la cocción debido a que sufren un excesivo encogimiento de las fibras de colágeno por la temperatura, principalmente en la cuarta capa (Maza, 2005).

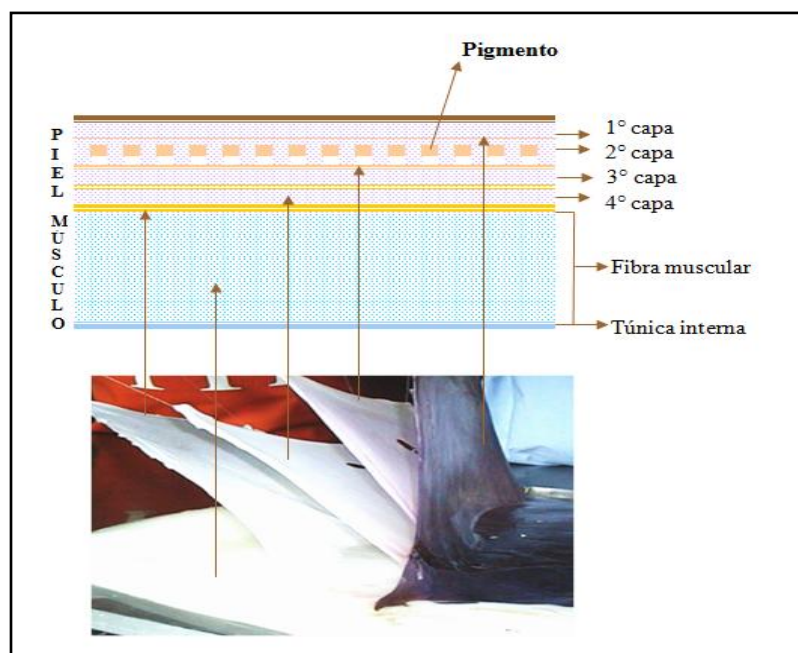


Figura 2. Estructura del manto: Túnica y fibra muscular

Fuente: Maza (2005)

La túnica visceral es la parte del manto más sensible al calor. Un incremento de temperatura sobre la fibra muscular causa la coagulación de las proteínas sarcoplasmáticas, con la consiguiente desintegración del sarcoplasma, el encogimiento y deshidratación de las fibras e incluso la desintegración del sarcolema (Kugino y Kugino, 1994).

2.1.4 Enzimas proteolíticas

Las enzimas son proteínas bioactivas y las proteasas son un grupo especial de enzimas que están involucradas en los cambios de la proteína durante el crecimiento y desarrollo de los animales. Algunas de las enzimas proteolíticas endógenas cesan sus funciones poco después de la muerte, mientras otras permanecen activas a lo largo del proceso largo postmortem y contribuyen tanto al olor (exopeptidasas) o ablandamiento (endopeptidasas) de la carne (Xiong, 2004).

La alta actividad enzimática en el músculo de los cefalópodos se debe a la alta tasa de recambio proteico asociada con su rápido crecimiento (Konno y Fukazawa, 1993). Se han identificado la catepsinas B, H y L en el tejido del calamar (Cuadro 1), una cisteín-proteínasa a pH ácido en *Ommastrephes sloani*, así como metal-proteinasas neutras de

algunas especies como *Teuthoidea* y proteasas alcalinas en *Loligo forbesi* (Ebina *et al.*, 1995).

Cuadro 1. Enzimas proteolíticas presentes en el tejido muscular

	Serín- proteasas	Cisteín- proteasas	Aspártico- proteasas	Metal- proteasas
Centro activo	Serina	Cisteína	2 residuos de aspártico	Un catión metálico
Enzimas	Tripsina	Catepsina B Catepsina H Catepsina L Calpaínas	Catepsina D	Colagenasa
Rango de pH	7-9	3-8	2-7	7-9
Inhibidores	PMSF	Iodoacetato	Pepstatina A	EDTA

Fuente: Carballo y López de Torre (1991)

Se han observado muchos picos de actividad proteolítica en el rango de pH entre 1.5-9.5, indicando la presencia de cisteín-proteinasas (catepsinas B y L), metal-proteinasas y serín-proteinasas, dependientes de la temperatura en el músculo de calamar *Todaropsis eblanae* (Ayensa *et al.*, 1999). Okamoto *et al.* (1993), observaron que las dos metal-proteinasas (miosinasa I y miosinasa II) del manto del calamar común japonés *Todarodes pacificus*, presentan una actividad óptima a pH de 7 y a una temperatura de 40°C. Tian *et al.* (2010) reportaron que las cisteín-proteinasas, encontradas en el hepatopáncreas del calamar común japonés *Todarodes pacificus* fueron más estables con una alta actividad a 50°C y pH de 5. Otras proteinasas como las metal-proteinasas y serín-proteinasas tuvieron pH óptimos de 7 y 9 y temperaturas máximas a 35°C y 40°C, respectivamente.

Por otro lado, Konno y Fukazawa (1993) observaron el efecto de algunos inhibidores sobre el homogeneizado del manto del calamar, encontrando que a 25°C el EDTA, el EGTA y el pirofosfato fueron efectivos en la inhibición, aunque no totalmente, por lo cual se ha sugerido la presencia de otras proteasas además de las calpaínas en el manto del calamar (Okamoto *et al.*, 1993). Dublán (2001) demostró que de los distintos inhibidores evaluados en el manto de pota, la leupeptina, inhibidor de tripsina, la quimostatina y la pepstatina tuvieron un mayor efecto inhibitorio mientras que el EDTA, CaCl₂, PMSF, iodoacetamida y pirofosfato no propiciaron una inhibición significativa.

2.1.5 Composición química

2.1.5.1 Composición química proximal

El Cuadro 2 muestra la composición química promedio del manto fresco de la pota *Dosidicus gigas*, la cual se caracteriza por tener un contenido aceptable de proteínas y bajo en grasa (Maza, 2002).

Cuadro 2. Composición química promedio del manto fresco de la pota

Componente	Pedreschi (1993)	Abugochet <i>al.</i> (1999)	Maza (2002)	Ibarra (2006)	Rosas (2007)
Humedad	84,0	82,28	82,4	85,32	83,78
Proteína total	12,7	15,32	16,2	11,5	14,3
Grasa cruda	1,6	0,87	0,71	0,48	0,93
Ceniza	1,4	1,31	1,41	0,92	1,13
Carbohidratos	0,3	0,00	---	1,86	---
NNP	0,99	0,27	---	---	0,86

Además de los componentes mayores, la pota presenta un contenido apreciable de sales minerales como el sodio (198,2 mg/100g), potasio (321,9 mg/100g), calcio (9,1 mg/100g) y magnesio (45,6 mg/100g), así como lípidos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente el ácido eicosapentenoico (C_{20:5}, EPA) (16,7%) y ácido docosahexenoico (C_{22:6}, DHA) (46,9%) (IMARPE/ITP, 1996).

Se ha encontrado que la composición de ácidos grasos del calamar es muy similar a la de los tejidos de peces magros o de carne blanca como la lisa y el lenguado (Sikorski y Kolodziejaska, 1986).

2.1.5.2 Nitrógeno no proteico

En los cefalópodos, el nitrógeno no proteico (NNP) es la fracción hidrosoluble de compuestos extractables constituidos principalmente por el cloruro de amonio (NH₄Cl),

bases volátiles totales (N-BVT), trimetilamina (N-TMA), aminoácidos libres (metionina, arginina), péptidos, hipoxantina y entre otros, que confieren el mal sabor “ácido-amargo” de la especie (Iida *et al.*, 1992; Sánchez-Brámbila, 2002; Maza 2003).

Calvo (2001) y Carrizoza (2000) demostraron que los altos niveles detectados para N-BVT en el manto de pota definitivamente no son el resultado de procesos deteriorativos de origen bacteriano, ya que el NH₃ formado es erróneamente cuantificado como N-BVT e identificado como resultado de la descomposición en un producto totalmente fresco que posee una óptima calidad comestible. Por lo tanto, el criterio de rechazo establecido para N-BVT de 30 mg/100 g para las especies pesqueras, pudiese no ser aplicable a la pota. La pota por su extraordinaria función fisiológica y metabólica produce y acumula intrínsecamente un alto nivel de NH₄Cl a bajo pH muscular (Yamanaka *et al.*, 1995; Maza *et al.*, 2008), el cual le sirve como osmorregulador para controlar la densidad de su cuerpo y realizar eficazmente el nado y la flotación (Iida *et al.*, 1992).

El mal sabor se relaciona principalmente con la presencia de NH₄Cl, aparte de la presencia de otros compuestos hidrosolubles como aminoácidos libres (metionina, arginina), hipoxantina y péptidos (Iida *et al.*, 1992; Yamanaka *et al.*, 1995; Sánchez-Brámbila, 2002; Maza *et al.*, 2003).

En el Cuadro 3 se muestra el contenido de nitrógeno proteico, nitrógeno no proteico y N-BVT en el manto de pota fresca de 32 mm de espesor, observándose un contenido de NNP al 39,5%, NP al 60,5% y N-BVT al 182,32 mg/100 g (Maza *et al.*, 2003).

Cuadro 3. Contenido de nitrógeno proteico y no proteico en el músculo de pota

Carne del manto (*)	Cantidad (mg/g)	Porcentaje (%)
Nitrógeno proteico (mg/g)	13,66	60,5
Nitrógeno no proteico (mg/g)	8,9	39,5
Bases volátiles totales (mg/100 g)	182,32	

Fuente: Maza *et al.* (2003)

Estudios más recientes (Maza *et al.*, 2008) relacionan el incremento de peso del manto de pota en proporción directa con el contenido de N-NH₄ y N-BVT (mg/100 g), lo que demuestra que el contenido de N-NH₄ es directamente proporcional al tamaño y al espesor del manto de pota, así como también la relación del mal sabor ácido y amargo de la especie con el alto contenido de N-NH₄ y N-BVT.

2.1.6 Desembarque y exportación

La captura se ha incrementado notablemente durante los años 2000-2008, permaneciendo casi constantes en los tres últimos años (2009-2011), con registros desde Enero a Mayo para el año 2012, como se observa en la Figura 3.

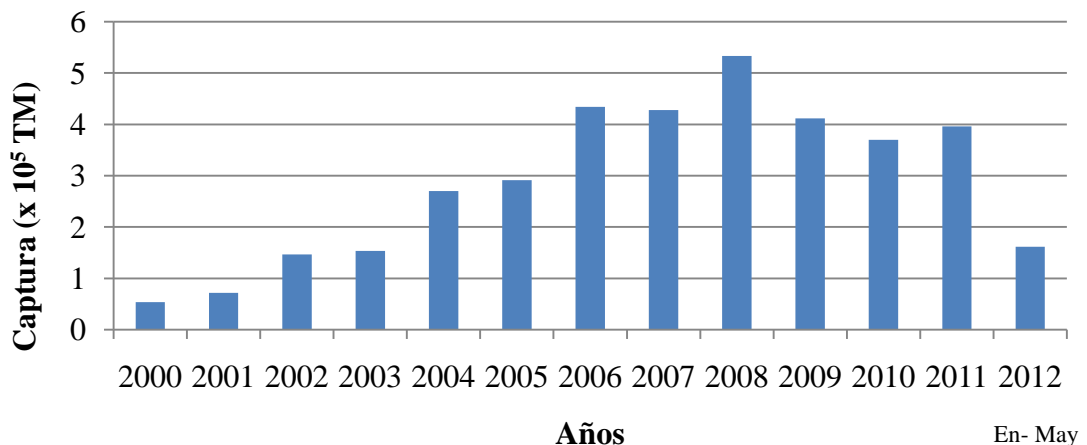


Figura 3. Desembarque de pota

Fuente: PRODUCE (2012)

En el año 2011 creció en 61% la exportación de productos congelados respecto al año anterior; se destaca el aumento en las partidas correspondientes a la pota congelada, que aumentó en 86%, debido a mejores capturas y al aumento del precio unitario promedio de exportación principalmente. La pota congelada representó el 47% del valor exportado de los productos congelados equivalentes aproximadamente a US\$ 412 millones, consolidándose como el producto peruano de exportación más importante para consumo humano directo con un incremento del 86%. Las presentaciones más demandadas fueron el filete crudo y el filete precocido. China, España, Corea del Sur y Japón concentran el 75% de participación del mercado de pota congelada (PromPerú, 2012).

En el caso de las exportaciones de surimi de pota congelada durante el año 2010, decrecieron en 10% en valor y 30% en volumen (Figura 4).

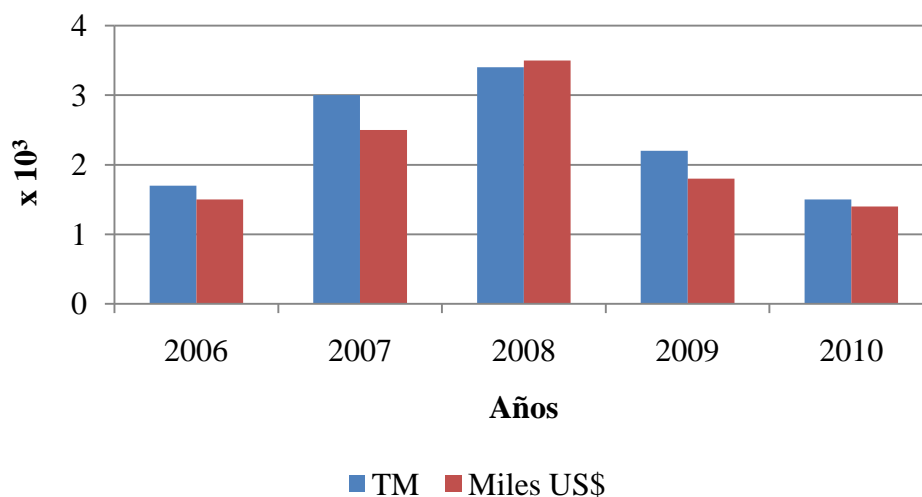


Figura 4. Evolución de las exportaciones de surimi de pota congelada

Fuente: PromPerú (2011)

El principal mercado, Corea del Sur disminuyó sus compras en 38%; sin embargo, es importante destacar los crecimientos de India y China con 86% y 77%, respectivamente. En los últimos años, los mercados asiáticos se han convertido en los principales destinos de este producto, dejando relegados a países europeos como Rusia y Lituania. Con respecto al precio unitario, se observa una tendencia al alza durante todo el año, especialmente en el segundo semestre con un máximo de 1,40 US\$/Kg (PromPerú, 2011).

2.2 PROTEÍNAS MUSCULARES

2.2.1 Introducción

Las proteínas son un grupo de polímeros naturales altamente complejos que juegan un papel importante en los sistemas biológicos y alimentarios. Presentan una enorme diversidad funcional como resultado del gran número de combinaciones posibles entre los

20 aminoácidos existentes, de forma que pueden sintetizarse proteínas con diferentes estructuras y funciones al variar la composición y secuencia de aminoácidos (Badui, 2006). Las proteínas son los principales constituyentes del músculo, comprenden aproximadamente el 20% del peso total del músculo (Xiong, 2004).

Basados en sus características de solubilidad, las proteínas del músculo son divididas en tres grupos: proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas y del estroma. Antes de detallar acerca de las proteínas miofibrilares que son de importancia en este estudio, se realiza a continuación una breve descripción de las proteínas sarcoplasmáticas y del estroma.

La fracción de proteína sarcoplasmática consiste de al menos 500 proteínas individuales, incluyendo muchas enzimas metabólicas, solubles en disolución diluida de sal (fuerza iónica $\mu= 0-0,2$) (Xiong, 2004). La mayoría de las proteínas sarcoplasmáticas son de estructura globular con una alta densidad de cadenas laterales polares expuestas y cargadas (Xiong, 1997), representando el 25% de la proteína total (Pedreschi, 1993).

Por ejemplo, en la industria de procesamiento de surimi, las proteínas sarcoplasmáticas son en gran parte eliminadas por el proceso de lavado convencional debido a su solubilidad en agua, ya que si no son eliminadas, afectarían negativamente a las proteínas miofibrilares gelificantes y por ende, a la gelificación del surimi. Sin embargo, algunos investigadores informan que las proteínas sarcoplasmáticas no interfieren con la gelificación de las proteínas miofibrilares (Lanier *et al.*, 2005).

Algunas enzimas metabólicas, como ciertas proteinasas termoestables, sin duda tienen un efecto negativo en la gelificación de proteínas miofibrilares debido a su habilidad para separar y por lo tanto debilitar las estructuras proteicas (Choi *et al.*, 2005); sin embargo, otras enzimas sarcoplasmáticas, como la transglutaminasa (TGasa), promueven el entrecruzamiento de proteínas, obteniendo como resultado propiedades de textura más fuertes (Lanier *et al.*, 2005).

Las proteínas del estroma son insolubles en agua y en solución salina e incluyen a las proteínas del tejido conectivo, principalmente el colágeno, el cual contienen un 30% de

glicina y 25% de prolina e hidroxiprolina, y cuanto más abunden estos aminoácidos, más rígido y resistente es el colágeno. Es la proteína más abundante en los mamíferos, pero la de peores propiedades funcionales, ya que tiene baja capacidad de retención de agua. El colágeno cuando es calentado puede convertirse en una masa amorfa, conocida como gelatina, la cual se cree que interfiere con la gelificación de las proteínas y, si está en altas concentraciones, puede acumularse en espacios poco visibles en el producto cárnico gelificado inducido por el calentamiento (Lanier *et al.*, 2005).

2.2.2 Proteínas miofibrilares

Las proteínas miofibrilares conforman la más abundante fracción de proteína, siendo este grupo de proteínas solubles en soluciones salinas concentradas ($> 2,0\%$ o fuerza iónica $\mu=0,5$), es responsable de muchas de las características funcionales de los alimentos cárnicos frescos y procesados (Xiong, 2004). En el caso de la pota *Dosidicus gigas*, la fracción miofibrilar constituye entre 75 a 85% de las proteínas del manto; en esta fracción, la miosina (220 KDa) es la más importante proteína, seguida de la actina (45 KDa) y la paramiosina (111 KDa) (De la Fuente-Betancourt *et al.*, 2008). Los dos constituyentes preponderantes en las miofibrillas son la miosina y la actina (Figura 5).

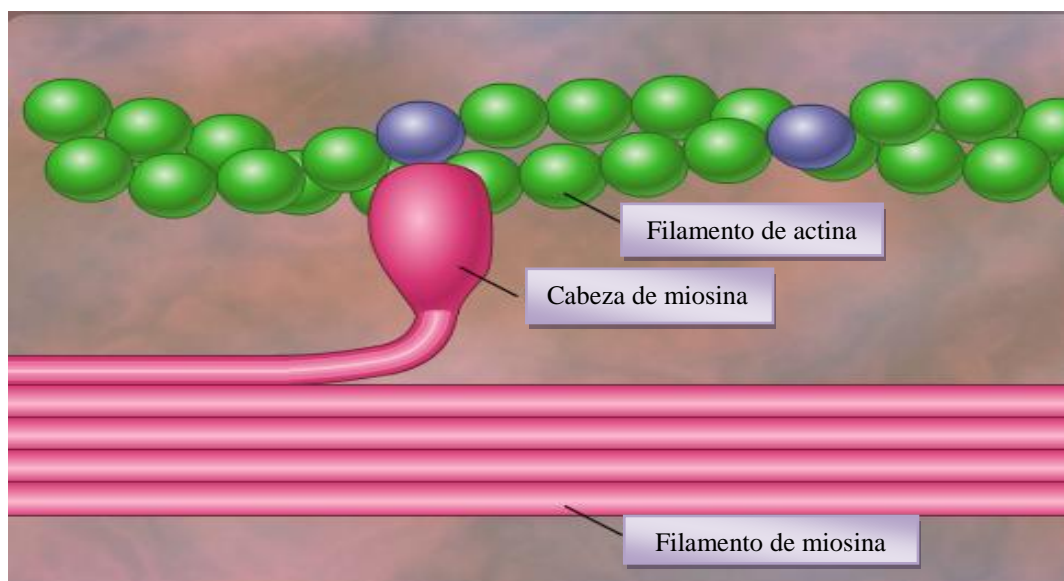


Figura 5. Interacción de la cabeza globular (miosina) y el filamento de actina

Fuente: VanPutte *et al.* (2010)

a. Miosina

La miosina encontrada en el sistema de filamentos gruesos comprende aproximadamente el 45% del total de proteínas miofibrilares (Foegeding *et al.*, 2010), rica en aminoácidos cargados negativamente como los ácidos glutámico y aspártico, y pobre en los cargados positivamente como la histidina, lisina, arginina (Ochiai y Chow, 2000); por tanto, está cargada negativamente a pH y a fuerza iónica fisiológica. El 50 a 55% de la cadena polipeptídica de miosina está en la forma de hélice- α (Ochiai y Chow, 2000). La molécula de miosina está compuesta de dos cabezas globulares hidrofóbicas (elipsoidales) y una cola (bastón) fibrosa hidrofílica.

La cabeza globular de aproximadamente 20 nm de longitud y 9 nm de diámetro, es responsable de la actividad ATPasa (la cual libera energía para la contracción muscular) y se enlaza a la actina (filamento delgado) en ausencia de ATP (*post mortem*), siendo esta actividad base como indicador sensible del grado de desdoblamiento de la miosina (desnaturalización) y la agregación (Zhou *et al.*, 2006). Dos pares de cadenas de miosina ligera se ligan a cada una de las cabezas de miosina; la cadena ligera alcalina o esencial y la cadena ligera ácida o reguladora (Foegeding *et al.*, 2010).

Por otro lado, el bastón helicoidal hidrofílico de aproximadamente 150 nm de largo y 2 nm de diámetro con grupos de aminoácidos cargados positivamente y negativamente, está dividido en dos regiones principales: la denominada meromiosina ligera (MML), que comprende dos tercios de la cola y el denominado subfragmento 2 (S2) de la meromiosina pesada (MMP), el cual se conecta con la cabeza globular (S1) y MML (Ochiai y Chow, 2000). Se cree que la porción MML de las moléculas de miosina otorga las propiedades de solubilidad y agregación para formar la columna vertebral del filamento grueso, mientras que la porción MMP (S2), actúa como un enlace bastante flexible y permite que las cabezas globulares interactúen con los filamentos delgados (actina) y su actividad ATPasa (Foegeding *et al.*, 2010).

b.Actina

La actina es otro constituyente predominante que comprende el 20% de las proteínas miofibrilares, de forma globular (monomérica), siendo denominada actina globular (actina G), y tiene un peso molecular de 43 KDa (Park y Lin, 2005).

La actina G permanece como monómero a muy baja fuerza iónica, pero a condiciones de fuerza iónica próximas a las fisiológicas (0,15 M), junto con la presencia de magnesio, se polimeriza espontáneamente a la forma de actina F (forma filamentosa) con la simultánea hidrólisis del ATP ligado para dar ADP ligado y fosfato inorgánico (Foegeding *et al.*, 2010). Se sabe que la miosina acelera esta polimerización de actina a la forma de actina F, y puede cambiar en gran medida la proporción de actina F y actina G (Yasui *et al.*, 1982). Tsuchiya *et al.* (1977) reportó que la actina F del calamar *Ommastrephes sloani pacificus*, obtenida por la polimerización de actina G con la adición de sal, mostró un incremento en la viscosidad y un alto coeficiente de sedimentación (dependiente de la concentración de proteína), demostrándose su estructura filamentosa en la observación microscópica electrónica.

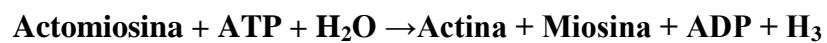
La miosina *post mortem* se enlaza fuertemente a la proteína predominante de los filamentos delgados, la actina, cuyo resultado es la formación de una proteína compleja denominada actomiosina (Foegeding *et al.*, 2010).

c.Actomiosina

La actomiosina es la forma principal de la actina y miosina en el músculo *post mortem* debido a que se agota el ATP durante el metabolismo *post mortem*. Contrariamente al músculo en *pre rigor*, la simple adición a la carne de ATP y otros agentes solubilizantes como el magnesio no disocian toda la miosina de la actina y la extracción de miosina de la carne *post rigor* es por tanto difícil. La miosina y la actomiosina se encuentran en los extractos de músculo *post mortem* (Foegeding *et al.*, 2010). La solución de actomiosina (a alta concentración de sal, cercana a $\mu=0,5$) muestra una alta viscosidad debido a que la actina y miosina forman el complejo rigor de

actomiosina, de igual modo se forma el complejo en ausencia de ATP (Bendall *et al.*, 1951). Al contrario, con la adición de ATP, la actomiosina muestra una rápida caída y exitosa recuperación de la viscosidad, sugiriendo que se produjo, a su vez, la disociación de la actomiosina en actina y miosina, la hidrólisis de ATP, y recombinación de la actomiosina (Tsuchiya *et al.*, 1977).

La reacción de disociación de la actomiosina es como sigue:



En el surimi por ejemplo, la actomiosina, en lugar de la miosina, es el componente proteico predominante, su concentración y propiedades en gran medida determinan las propiedades de gelificación del surimi inducidos por el calentamiento (Lanier *et al.*, 2005). Yasui *et al.* (1982) reportó, que la formación del gel del sistema miosina-actomiosina fue mejorada al máximo cuando consistió del 80% de miosina libre y 20% de actomiosina F.

d. Otras proteínas

Otras fracciones pequeñas de proteínas asociadas tanto con la actina o miosina y que muestran influencia en la regulación de la contracción muscular son la tropomiosina y los complejos de troponina (Samejima *et al.*, 1982). Estas proteínas reguladoras constituyen el 7~8% de las proteínas miofibrilares totales.

La tropomiosina, que representa el 5% de la proteína miofibrilar, está compuesta por dos polipéptidos α -helicoidales y presenta dos tipos de subunidades, α y β (Foegeding *et al.*, 2010). Se asemeja a la porción bastón o cola de la molécula de miosina y se agrega extremo con extremo fijándose a los filamentos de actina a lo largo de cada surco de la doble hélice de actina de tal modo que cada molécula interacciona con 7 monómeros de actina G.

La tropomiosina y la troponina se combinan en un complejo que regula las interacciones de miosina con el filamento delgado (Figura6).

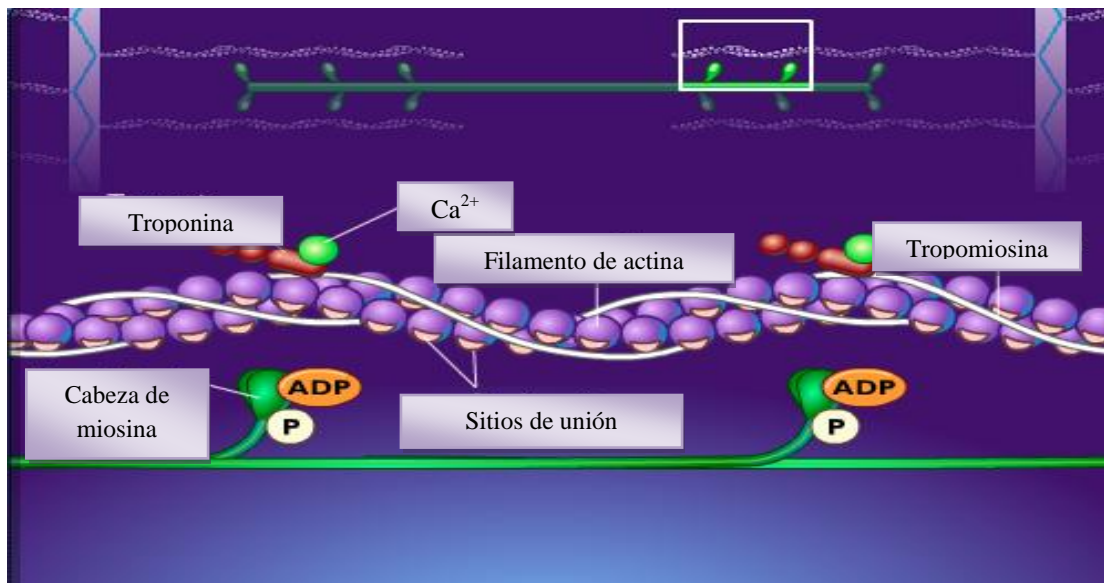


Figura 6. Complejo de filamento delgado (actina) con tropomiosina y troponina

Fuente: VanPutte *et al.* (2010)

La troponina, que representa el 5% de la proteína miofibrilar, está formada por tres subunidades designadas troponina C (se une a los iones calcio), troponina I (inhibe la interacción entre miosina y actina) y troponina T (unida fuertemente a la tropomiosina). Cada subunidad de troponina tiene diferentes funciones. La troponina C es una proteína fijadora de calcio que aporta la regulación de calcio al proceso contráctil vía el filamento delgado. La troponina I, cuando se ensaya sin las otras subunidades, inhibe fuertemente la actividad ATPasa de la actomiosina. La troponina T funciona proporcionando un punto de asociación fuerte para la unión de la troponina a la tropomiosina (Foegeding *et al.*, 2010).

e. Paramiosina

La proteína miofibrilar del músculo de calamar está compuesta, aparte de estar compuesta de la miosina, actina y proteínas reguladoras (tropomiosina y troponina), contiene paramiosina, que hace el rol del eje central, en el cual se enrolla la miosina y se

encuentra en el músculo de los moluscos y otros invertebrados (Dublán, 2001; Foegeding *et al.*, 2010), donde alcanza hasta un 50% de las proteínas miofibrilares.

La paramiosina está constituida por dos cadenas hélice- α (100%), con un peso molecular entre 95 y 125 KDa, y representan el 14 % de la proteína miofibrilar en el músculo estriado oblicuo del calamar (Horie *et al.*, 1975). Se cree que tiene propiedades similares al bastón de miosina o MML (meromiosina ligera) debido a su naturaleza salina y capacidad de formación de filamentos (Yoshioka *et al.*, 2005). Se conoce que la miosina es más susceptible al almacenamiento congelado que la actina, por lo cual la función de la paramiosina puede ser de apoyo a los filamentos de miosina, previniendo su desdoblamiento, descomposición y agregación (Iguchi *et al.*, 1981).

2.3 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES

La funcionalidad de las proteínas puede ser definida como el desenvolvimiento físico y químico de las proteínas durante el procesamiento y almacenamiento que afectan las propiedades relacionadas a la textura del producto cárnico final (Xiong, 1997). Damodaran (2010) define a las propiedades funcionales como cualquier propiedad fisicoquímica que afecta el comportamiento y características de las proteínas durante el proceso, almacenamiento, procesamiento y consumo, las cuales repercuten en las características del producto final.

Las principales propiedades funcionales en las carnes procesadas son la gelificación, la emulsificación y retención de agua. Para el surimi, cada una de las propiedades funcionales mencionadas anteriormente, está vinculada con la formación de una estructura de red de gel estable en el alimento (Acton *et al.*, 1983).

Dentro de las propiedades que presentan las diferentes proteínas del músculo durante la elaboración de productos cárnicos se pueden identificar las siguientes:

a) Propiedades de hidratación, las cuales dependen de las interacciones proteína-agua (capacidad de retención de agua, solubilidad, viscosidad, etc.).

b) Propiedades reológicas y de unión, dependientes de las interacciones proteína-proteína (gelificación, precipitación, etc.). La gelificación es una agregación de moléculas desnaturalizadas para formar una red proteica ordenada y es la propiedad más importante.

c) Propiedades de superficie, dependientes de la interacción proteína-interfase tales como la emulsificación (dispersión de dos líquidos no miscibles) y la capacidad espumante (dispersión de burbujas de gas en fase continua líquida o semisólida).

Estas propiedades afectan la apariencia, color, jugosidad, sensación en la boca y textura de una gran variedad de alimentos, así como el corte, picado, mezclado, la formación de la masa, fibras, láminas, y burbujas, conformación y transporte de materiales alimenticios (Sikorski, 2007).

Las propiedades más importantes en el procesamiento de alimentos pueden ser más o menos agrupadas como se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Propiedades funcionales atribuidas a proteínas en la carne y sistemas cárnicos

Propiedad general	Propiedad funcional	Modo de acción
Hidratación	Unión y adsorción de agua	Entrampamiento de agua, agua unida vía puentes de hidrógeno.
	Solubilidad	Solvatación.
	Viscosidad	Inmovilización de agua, engrosamiento de la miofibrilla, entrapamiento de agua vía formación de una matriz proteica.
	Hinchamiento	
Estructural	Gelificación	Entrampamiento de agua vía formación de una matriz proteica.
	Cohesión-adhesión	Proteína solubilizada que actúa como material adhesivo.
	Elasticidad	Formación de una matriz proteica vía interacciones electrostáticas, disulfuro e hidrofóbicas en el gel.
Fijación	Absorción de grasa	Fijación de grasa libre.
	Fijación de sabores	Adsorción, entrapamiento y liberación de sabores.
Superficie	Emulsificación	Formación y estabilización de emulsiones.

Fuente: Morrisey et al. (1986)

2.3.1 Gelificación

Un gel de proteína se refiere a una entidad viscoelástica comprendida de cadenas entrecruzadas en una estructura de red continua capaz de inmovilizar una gran cantidad de agua (Xiong, 1997; Badui, 2006). Belitz *et al.* (2009) se refieren a los geles como sistemas dispersos de al menos dos componentes en los que la fase dispersa en el dispersante forma una red cohesiva.

El proceso de formación de gel, es decir, la gelificación, ocurre en los alimentos hechos a partir del músculo como resultado del desdoblamiento y posterior asociación de sus proteínas miofibrilares, generalmente en presencia de sal y algunas veces también de fosfatos (Xiong, 2004). Por ejemplo, la gelificación del surimi inducida por calentamiento es un complejo proceso fisicoquímico que involucra la desnaturalización y agregación de proteínas miofibrilares (Benjakul *et al.*, 2001).

En teoría, las tres fracciones de proteínas musculares son capaces de formar un gel, sin embargo, en la práctica los tejidos sarcoplasmático y conectivo (estroma) de las proteínas sólo desempeñan un pequeño papel en el fenómeno de la gelificación total en alimentos hechos del músculo (Xiong, 1997, 2004). En cambio, las proteínas miofibrilares, son proteínas muy importantes en cuanto a su capacidad gelificante y tienen una función vital en las propiedades de textura deseables en los alimentos procesados hechos de músculo (Xiong, 2004). En particular, la miosina (*pre rigor*) o actomiosina (*post rigor*) representan la mayor parte de la capacidad de formación de gel del sistema proteico miofibrilar (Asghar *et al.*, 1985).

Samejima *et al.* (1981) reportó que la capacidad de formación de gel es mayor para la miosina intacta, seguida a continuación por la porción de la cola de la molécula y finalmente por las cabezas globulares. La miosina ha demostrado poseer exclusivamente la capacidad de formación de gel con respecto a otras proteínas (Visessanguan *et al.*, 2000). La molécula de actina, por su parte, no es capaz de formar una red tridimensional al ser sometida a un tratamiento térmico (Visessanguan *et al.*, 2000). No obstante, en presencia de miosina se presenta un efecto sinérgico y de complementación, y una buena relación miosina-actina es esencial para el desarrollo de un gel rígido (Lan *et al.*, 1995).

Otras proteínas miofibrilares como la tropomiosina y la troponina, por el contrario, no presentan un papel activo en la gelificación inducida por calentamiento (Yasui *et al.*, 1982; Lan *et al.*, 1995), debido a su alta estabilidad térmica (Samejima *et al.*, 1982).

2.3.1.1 Mecanismos de la gelificación térmica

De acuerdo a Xiong (2004), la gelificación en los productos hechos del músculo sometidos al calentamiento se produce como un proceso con tres etapas secuenciales. Al despliegue inicial (desnaturalización) de las moléculas proteicas individuales le sigue su agregación, principalmente a través de interacciones hidrofóbicas. En la última etapa, pequeños oligómeros o agregados proteicos se entrecruzan para formar finas hebras que finalmente dan lugar a una red viscoelástica continua.

La gelificación inducida por calentamiento es un proceso fisicoquímico complejo que involucra cambios estructurales y funcionales de las proteínas miofibrilares. La formación de las redes miofibrilares puede ser representada por tres etapas: disociación, desnaturalización térmica y agregación.

a. Disociación

La fase esencial del proceso de gelificación es la etapa de disociación (solubilización) de las proteínas miofibrilares causada por la adición de sales (Niwa, 1992). Esta solubilización parcial de las proteínas se produce con la adición de cloruro de sodio y la interacción con residuos ácidos y básicos de los aminoácidos, produciéndose así la ruptura de los enlaces iónicos entre las proteínas miofibrilares y de esta manera incrementan su afinidad por el agua y se disuelven (Niwa, 1992).

La solubilización de la proteína miofibrilar con cloruro de sodio forma una pasta viscosa (sol) que debe realizarse a bajas temperaturas para evitar los fenómenos de desnaturalización (Álvarez, 1993). La proteína en estado sol de alta concentración de proteína, se transforma primero en un “estado progel” por desnaturalización, que suele ser un líquido viscoso en el que ya ha tenido lugar un cierto grado de polimerización (Damodaran, 2010). De este modo, la transformación de sol a gel involucra la hidratación de la proteína a través de un efecto de solubilización por sal (“*salting in*”) con cloruro de

sodio durante el triturado, lo cual incrementa la capacidad de fijación de agua de la proteína miofibrilar mediante el incremento de cargas negativas para atraer moléculas de agua y, por tanto, mejorar la fijación de agua (Chung y Lee, 1991).

b. Desnaturalización térmica

La desnaturalización es un proceso o una secuencia de procesos en los cuales el arreglo de las cadenas de polipéptidos dentro de la molécula es cambiado desde el típico alineamiento de las proteínas nativas hacia un arreglo más desordenado (Ziegler y Acton, 1984).

Durante el calentamiento, las proteínas experimentan procesos de desnaturalización y agregación los cuales causan disminución de la solubilidad (Li-Chan *et al.*, 1985). La miosina sufre una serie de reacciones de desnaturalización durante el calentamiento, donde se llevan a cabo algunos cambios conformacionales característicos de las regiones de la cabeza y cola de la molécula de miosina (Samejima *et al.*, 1981). En consecuencia, se encontró que la porción de la cabeza y la cola tienen funciones sobre la agregación y la capacidad de formación de la red tridimensional (gel), respectivamente, a altas temperaturas.

Cuando la proteína solubilizada es calentada pierde su conformación nativa y empieza a desdoblarse con un incremento en la hidrofobicidad superficial y un decremento en los grupos reactivos totales (Totosaus, 1996). Esto demuestra que los residuos hidrofóbicos y los grupos sulfhidrilo (-SH) emergen a la superficie molecular como un resultado del desdoblamiento, que tiende a incrementar la interacción hidrofóbica y las uniones disulfuro entre las moléculas de proteína (Ziegler y Acton, 1984), de forma que permitan el inicio de la tercera etapa, es decir, la constitución de la red tridimensional de proteína.

c. Agregación y formación de la red tridimensional

En esta etapa, a más alta temperatura, las moléculas de proteína (en una solución proteica) desnaturalizadas por el calentamiento provocan un desdoblamiento y empiezan a

interaccionar de forma ordenada entre sí a través de diferentes tipos de enlaces como son los puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, puentes disulfuro (-S-S-) y las interacciones hidrofóbicas (Ziegler y Acton, 1984).

Para desarrollar una matriz de gel firme con un alto grado de elasticidad, el paso de desdoblamiento debe ocurrir primero, el paso de agregación debe entonces proceder más lentamente permitiendo a las moléculas de proteína desnaturalizadas orientarse e interactuar en los puntos específicos, formando una red tridimensional ordenada con un infinito número de enlaces cruzados interpeptídicos que retienen gran cantidad de agua (Ziegler y Foegeding, 1990). Las interacciones demasiado rápidas en el estado desnaturalizado conducen a un coágulo irreversible debido a las asociaciones al azar con los agregados insolubles y de gran tamaño (Sikorski, 2007).

La red tridimensional formada durante la gelificación térmica estabiliza el agua física y químicamente dentro de la estructura del gel (Chung y Lee, 1991). Es por ello que los geles son capaces de mantener grandes cantidades de agua dentro de la red, en cambio los coágulos no son capaces de retener grandes cantidades de agua.

2.3.1.2 Tipos de enlaces formados en la gelificación térmica

En la formación del gel pueden participar distintos tipos de enlaces:

a. Enlaces de hidrógeno

Son interacciones electrostáticas entre los grupos carbonilo y amida de las cadenas peptídicas. Al aumentar la temperatura se produce la rotura de un gran número de enlaces de hidrógeno, perdiendo estabilidad la estructura de las proteínas, aunque tales enlaces pueden volverse a formar para fortalecer el gel resultante tras el posterior enfriamiento debido a que son estables a bajas temperaturas pero inestables a altas temperaturas (Lanier *et al.*, 2005). Las uniones de hidrógeno tienen una mayor influencia sobre la estructura proteica que las interacciones electrostáticas.

b. Interacciones electrostáticas

Se producen por la atracción de sitios cargados positivamente a sitios cargados negativamente en la superficie de la proteína. La atracción iónica se formará entre estos grupos, llamados puentes salinos, y las proteínas miofibrilares se asocian la una a la otra para formar un agregado que es insoluble en agua (Lanier *et al.*, 2005). Las interacciones iónicas son fuertes pero no estabilizan mucho a las proteínas. La adición de sal produce repulsiones entre filamentos de miosina (interfiriendo con la atracción electrostática), conduciendo a la disociación de los filamentos gruesos y a la mejor dispersión de la miosina o actomiosina, lo cual favorece a la posterior formación del gel (Lanier *et al.*, 2005). La presencia de iones calcio, aunque no induce la gelificación, contribuye a la consistencia del gel formando puentes de calcio entre cargas negativas de segmentos proteicos adyacentes (enlaces directos polianión-cation-polianión entre cadenas de polímeros) (Tang *et al.*, 1995).

c. Interacciones hidrofóbicas

La formación de interacciones hidrofóbicas entre moléculas de proteína se produce como respuesta de su hidrofobicidad superficial, favorecida por la desnaturalización y son, por lo tanto, una de las principales fuerzas responsables del doblamiento globular de las estructuras proteicas nativas biológicamente activas (Totosaus, 1996). Algunos de los grupos hidrofóbicos de la proteína, que en la configuración nativa estaban orientados hacia el interior, quedan expuestos al medio (Lanier *et al.*, 2005). Cuando un gran número de sitios hidrofóbicos son expuestos debido al desdoblamiento, la solubilidad de la proteína decrece, actuando las interacciones hidrofóbicas entre los grupos expuestos y causando una agregación de las moléculas de proteína.

d. Enlaces covalentes

Los enlaces covalentes se forman por encima de 40°C, siendo los enlaces más importantes en la formación de geles, los puentes disulfuro intermoleculares, que se producen por la oxidación de dos grupos sulfhidrilos (de moléculas de cisteína) de cadenas proteicas adyacentes (Lanier *et al.*, 2005). La función fundamental de los puentes

disulfuro es estabilizar la estructura tridimensional al hacer que la proteína se pliegue a su conformación nativa.

Los enlaces disulfuro en la región S1 de la molécula de miosina contribuye a la formación de una matriz tridimensional en un intervalo de temperaturas de 45-55 °C (Samejima *et al.*, 1981), debido posiblemente a que la cabeza globular posee 12 ó 13 de los 42 grupos tiol (sulfhidrilos) presentes en la molécula de miosina (Smyth *et al.*, 1998). Por encima de los 55°C, los enlaces disulfuro son menos importantes para la gelificación de la miosina. La cola de la miosina (meromiosina ligera y S2) es posiblemente la responsable de la formación del gel a dichas temperaturas, a través de la formación de interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno (Samejima *et al.*, 1981; Smyth *et al.*, 1998; Visessanguan y An, 2000).

2.3.1.3 Factores que afectan la gelificación térmica

La gelificación de las proteínas se ve afectada por diversos factores como los tipos de proteína, la temperatura y tiempo de calentamiento, la concentración de proteína, el pH y la fuerza iónica, de tal modo que el gel resultante pueda exhibir la viscosidad, dureza y elasticidad características (Hickson *et al.*, 1982).

Al pH fisiológico, o en sus proximidades, las proteínas suelen formar geles tipo coágulo; sin embargo, a valores de pH extremos se forman geles débiles, por las fuertes repulsiones electrostáticas reinantes. Por tanto, a mayor carga neta sobre la molécula de proteína, mayor la repulsión electrostática entre las moléculas, previniendo las interacciones requeridas para formar una matriz de gel (Zayas, 1997). La gelificación de proteínas miofibrilares a baja fuerza iónica (0,3 M) es débil (Xiong *et al.*, 1993). Sin embargo, a alta concentración de proteína (> 14%), pH neutro y alta concentración de sal (0,4 a 0,6 M de NaCl) se alcanzan mejores cualidades de gel, de igual modo con un $\text{pH} \geq 7,0$ y baja fuerza iónica (0,1 a 0,3 M NaCl) (Chang y Regenstein, 1997).

2.3.2 Solubilidad

La solubilidad o extractabilidad de proteínas a menudo se define en la química de los alimentos como el porcentaje de la cantidad total de proteína contenida en el producto

material alimenticio que puede ser extraído por el agua o un disolvente adecuado en condiciones específicas (Sikorski, 2007). También se refiere a las interacciones con el agua de la superficie hidrofóbica (proteína-proteína) e hidrofílica (proteína-solvente), siendo la proporción relativa entre ambas lo que determina el grado de solvatación por el agua (Thawornchinsombut, 2004).

La solubilidad de las proteínas está en función de muchos factores, como la composición de aminoácidos y secuencia, peso molecular, conformación y contenido de grupos no polares en los aminoácidos, y los factores ambientales influenciado por las propiedades físico-químicas intrínsecas, como el pH, la temperatura, la naturaleza y concentración de sales (fuerza iónica), la presión y la concentración de proteína (Zayas, 1997; Thawornchinsombut, 2004).

A pH neutro, es probable que se formen enlaces salinos intermoleculares entre aminoácidos ácidos (residuos de ácido glutámico y aspártico) y básicos (residuos de lisina y arginina) resultando en una agregado de proteínas miofibrilares insoluble en agua. Luego, cuando se adiciona la sal, los iones se unirán a los grupos con cargas opuestas expuestas sobre la superficie de la proteína y romperán las uniones salinas intermoleculares entre las proteínas, aumentando así la afinidad por el agua (Niwa *et al.*, 1986). La solubilidad mínima se da a un pH aproximadamente idéntico al del punto isoeléctrico. La mayor parte de las proteínas de los alimentos son ácidas, es decir, la suma de sus restos de ácido aspártico y ácido glutámico es mayor que la de los restos de lisina, arginina e histidina (Damodaran, 2010).

Por tanto, exhiben una solubilidad mínima a pH 4-5 (pH isoeléctrico) debido fundamentalmente a la ausencia de repulsión electrostática, lo que promueve la agregación y precipitación, a través de las interacciones hidrofóbicas.

A baja fuerza iónica ($\mu < 0,5$), los iones neutralizan las cargas de la superficie de las proteínas. El denominado “*salting in*” (solubilidad inducida a baja fuerza iónica) de una proteína es atribuida a los iones de sal que interactúan con los grupos de carga opuesta de la proteína para formar una doble capa de grupos iónicos, lo que disminuye la interacción electrostática entre moléculas de proteínas y causa más solvatación proteica, lo cual

aumenta la solubilidad de las proteínas (Thawornchinsombut, 2004). En los alimentos, el cloruro de sodio (NaCl) es comúnmente usado para este propósito.

A altas concentraciones de sal, generalmente por encima de 1 M, la solubilidad de la proteína disminuye. Se piensa que es debido a que muchas de las moléculas de agua están fuertemente unidas a los iones de sal y existe una competencia estos iones y las moléculas de proteína por las moléculas de agua (Zayas, 1997). Esto podría dar lugar a fuertes interacciones proteína-proteína a través de interacciones hidrofóbicas en lugar de las interacciones proteína-agua. Esto resulta en la asociación, seguida por la precipitación (Thawornchinsombut, 2004), efectollamado "*salting out*" (precipitación inducida a alta fuerza iónica).

2.4 PROCESAMIENTO DE SURIMI DE POTA

Surimi es un término japonés referido a la concentración de las proteínas miofibrilares de alta calidad a partir de carne cruda picada. Las proteínas son solubilizadas en sal y luego calentadas para iniciar la formación una matriz continua tridimensional de filamentos con agua embebida en el interior denominado gel o hidrogel de surimi (Chen y Huang, 2008). Es usado como un producto intermedio en la elaboración de productos alimenticios, como el kamaboko tradicional japonés o productos de imitación de mariscos que incluyen palitos de cangrejo, patas de cangrejo, carne de cangrejo, conchas, y otros (Carvajal *et al.*, 2005).

Debido a la fácil solubilidad a baja fuerza iónica (Maza *et al.*, 2003), la alta actividad proteolítica en un amplio rango de pH (Konno y Fukazawa, 1993; Ayensa *et al.*, 1999; Campo-Deaño *et al.*, 2009) y el intenso sabor ácido amargo y olor amoniacal (Maza *et al.*, 2003), se han propuesto metodologías para evitar estos problemas característicos del músculo del manto de cefalópodos con el objetivo de procesar un tipo de surimi que garantice la estabilidad de las proteínas y su uso potencial como ingrediente funcional en la industria alimentaria.

Una de ellas es el proceso de solubilización ácida o alcalina y precipitación isoelectrica está basado en la extracción de proteína muscular a pH 2-3 ó de 11-12, seguido por una precipitación isoelectrica. La proteína precipitada es entonces colectada

por centrifugación para obtener un concentrado proteico funcional proveniente del músculo de teleosteos marinos y cefalópodos (Hultin y Kelleher, 1999; Careche *et al.*, 2004; Careche *et al.*, 2006). A partir de estas patentes, se derivaron más estudios sobre la solubilización ácida o alcalina y precipitación isoeléctrica en el músculo de pota.

Maza y Rosales (2004) emplearon el método que consiste en la solubilización ácida y alcalina con adición de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio, hasta pH 2,5 y 10,5, respectivamente, seguido de la precipitación isoeléctrica (pH 4,7) para la recuperación del precipitado mediante centrifugación. Los valores promedio de dureza y fuerza de gel en general son bajos comparados con los obtenidos en el proceso de lixiviación acida salina de surimi de pota (Maza *et al.*, 2003). Según las pruebas de doblez, los valores obtenidos fluctuaron entre los grados B y C.

Sánchez-Alonso *et al.* (2007) establecieron un procedimiento que consistía en la solubilización parcial de manto de pota a una muy baja fuerza iónica con adición de NaCl y bicarbonato de sodio. Posteriormente, se realizó una precipitación ácida con HCl, llevando el pH de la solución a 4,7-4,9 y dejándose 30 minutos para permitir una apropiada precipitación de la proteína miofibrilar, para luego recoger el precipitado mediante centrifugación. Se obtuvieron concentrados de proteína funcional con un agradable olor y sabor, más blancos y con mínimas impurezas, cuyos geles alcanzaron aprox. 400 g.cm de fuerza de gel.

Cortés-Ruiz *et al.* (2008) elaboraron un concentrado de proteína de pota *Dosidicus gigas* bajo condiciones ácidas (pH 3,2) usando HCl. Luego, para la recuperación de la proteína, se ajustó el pH a 5,5 con hidróxido de sodio para alcanzar la precipitación isoeléctrica de la proteína del músculo. Del mismo modo se realizó otro procedimiento similar para la obtención de surimi, pero con la diferencia que el ajuste final de pH fue hasta 6,5. El concentrado de proteína ácida obtuvo mejores resultados en cuanto a la fuerza de gel y prueba de doblez (AA) con respecto al concentrado de proteína neutro, resultando ser una buena alternativa para obtener un concentrado proteico funcional de músculo de pota.

Campo-Deaño *et al.* (2009) emplearon el procedimiento de solubilización ácida y precipitación isoeléctrica (Hultin y Kelleher, 1999) mediante la adición de ácido fosfórico

que solubilizó la carne de pata en medio ácido (pH 3) para luego con la adición de bicarbonato de sodio alcanzar el pH 5 (punto isoelectrico). De igual modo, el mismo autor realizó otra prueba donde hizo un lavado con ácido fosfórico para llevar directamente a la carne de pata a la precipitación isoelectrica a pH 5, siendo este último método el que reflejó mayor funcionalidad de la proteína en lo que respecta al mejoramiento de la capacidad de retención de agua y mejor calidad en la estructura de la red tridimensional.

2.5 ALTERACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL MÚSCULO POR FRÍO

Los principales cambios en la funcionalidad de las proteínas asociados con el congelamiento y el posterior almacenamiento a temperaturas de congelación se ven reflejados en el deterioro de la textura, sabor y color, resultado de los cambios bioquímicos y enzimáticos sobre las proteínas (Totousaus, 2004). Existen por lo menos dos tipos de desnaturalización que podrían ocurrir durante el almacenamiento en congelación: una es la agregación de las moléculas de proteína mediante la disminución en la solubilidad y otra es la fragmentación y cambios conformacionales de las moléculas de proteína (Iguchi *et al.*, 1981).

2.5.1 Cambios en las propiedades funcionales

En relación a los cambios enzimáticos, la actividad de la Ca^{2+} -ATPasa resulta ser un buen indicador de la integridad de la molécula de miosina (Noguchi y Matsumoto, 1978), siendo las cabezas globulares de la miosina, responsables de dicha actividad (Zhou *et al.*, 2006). Una fuerte disminución de esta actividad en el surimi congelado sin crioprotectores durante el almacenamiento en congelación indica la desnaturalización de la miosina, especialmente en la región de la cabeza globular (Zhou *et al.*, 2006). La disminución en la actividad ATPasa ocasiona cambios conformacionales en la cabeza globular de miosina causados por los cristales de hielo formados y el incremento de la fuerza iónica del sistema, así como también la agregación de esta porción (Benjakul y Bauer, 2000). El reordenamiento de la proteína, a través de las interacciones proteína-proteína se presumió que contribuyen a la pérdida de la actividad ATPasa (Benjakul y Bauer, 2000; Zhou *et al.*, 2006).

Durante el almacenamiento en congelación, la disminución de la solubilidad de las proteínas es causada por la agregación e insolubilización de la actomiosina, siendo los indicadores de ambos fenómenos la formación de enlaces inter y/o intra-moleculares y entrelazamiento de los filamentos, por lo cual se piensa que los enlaces iónicos son los únicos que causan la agregación (Iguchi *et al.*, 1981). Por otro lado, la caída en la viscosidad sugiere que los filamentos de actomiosina o bien han asumido una forma menos asimétrica o han sido cortados en filamentos y fragmentos más pequeños (Iguchi *et al.*, 1981).

Así también, un cambio en el total de grupos sulfhidrilos es atribuida a la oxidación de los mismos, por lo que existen varios estudios que proporcionan evidencia de la pérdida de grupos sulfhidrilos y de la formación de enlaces S-S durante el almacenamiento congelado (Sultanbawa y Li-Chan, 2001).

La oxidación de los grupos sulfhidrilos (SH) en el sitio activo de la actomiosina podría inducir a la disminución de la actividad Ca^{2+} -ATPasa y los cambios conformacionales de las moléculas de miosina podrían causar que los grupos sulfhidrilos reactivos estén expuestos, resultando en el incremento del enlace disulfuro a través de la oxidación (Zhou *et al.*, 2006). Los grupos sulfhidrilos en la porción de la cola de la miosina podrían desempeñar alguna función en la oxidación en lugar de aquellos grupos en la porción de la cabeza (Sompongse *et al.*, 1996).

Un aumento en la hidrofobicidad superficial es indicativo de un mayor ambiente hidrofóbico característico de la proteína en estado desnaturalizado, ya que esta tiende a exponer hacia el exterior grupos hidrofóbicos que normalmente se encuentran en el interior de la estructura terciaria de la misma. Durante el almacenamiento en congelación prolongado, la exposición de las porciones hidrofóbicas inducidas por los cambios conformacionales de las proteínas podrían causar la interacción hidrofóbica, conduciendo a la agregación y pérdida de la solubilidad (Zhou *et al.*, 2006).

Un factor desestabilizante durante el almacenamiento congelado es el pH del músculo que afecta no solamente la velocidad de desnaturalización en condiciones de alta temperatura, sino que también la velocidad de desnaturalización durante el almacenamiento congelado. Es por ello que durante el procesamiento de surimi, el control

del pH es importante para el mantenimiento de la capacidad de formación de gel (Matsumoto y Noguchi, 1992). Por ejemplo, la capacidad de formación de gel del músculo de pescado fresco es óptima a pH neutro, disminuyendo con la disminución del pH (Shimizu *et al.*, 1954).

La presencia de calcio e iones metálicos también puede desestabilizar el surimi durante el almacenamiento congelado. Niveles elevados de calcio en el surimi crudo durante el almacenamiento congelado contribuyen a la prematura agregación de proteínas, lo cual reduce la capacidad de gelificación del surimi (Lee y Park, 1998).

2.5.2 Aditivos utilizados para la crioprotección

2.5.2.1 Azúcar y sorbitol

Existen una variedad de sustancias inhibitoras de la desnaturalización proteica, como los hidrolizados de proteína, aminoácidos, proteína del plasma de res, proteína de soya, azúcar, polifosfatos, sorbitol y almidón, todas ellas aplicadas en el procesamiento de surimi (Park, 1994).

Los compuestos polihidroxi, como el sorbitol y azúcar, se utilizan como estabilizadores de las proteínas, debido a que estos crioprotectores carbohidratados de bajo peso molecular perturban la fuerza cohesiva del agua y por tanto su tensión superficial, por ejemplo, la solución de azúcar aumentó la tensión superficial debido al aumento de su concentración durante la crioprotección de la actomiosina de tilapia (Carvajal *et al.*, 2005).

La estabilización, al incrementarse la tensión superficial del medio, parece ser el factor dominante que conduce a la estabilidad térmica de las proteínas, en particular de las proteínas globulares (Carvajal *et al.*, 2005). Además, la hidratación preferencial de las proteínas en presencia de los azúcares se debe a la capacidad del azúcar para aumentar la tensión superficial del agua (Branca *et al.*, 1999). El aumento de la tensión superficial del agua en presencia de polioles y azúcares se ha atribuido a los más fuertes o más extensos enlaces de hidrógeno formados entre los grupos hidroxilos del soluto y las moléculas de

agua, como lo sugieren diversos estudios de espectroscopía y termodinámica (Branca *et al.*, 1999).

El principal factor involucrado en el efecto crioprotector de los azúcares sobre la desnaturalización proteica inducida por congelación, se debe a la construcción de agua no congelada en la estructura miofibrilar, la cual es responsable de inhibir el crecimiento de cristales de hielo, indicando que los azúcares incrementan la cantidad de agua no congelada en el surimi, es decir, previenen la pérdida de agua no congelada durante la primera etapa de almacenamiento (Osako *et al.*, 2005). Los compuestos de alto peso molecular, como la povidexrosa o maltodextrina, también protegen a las proteínas miofibrilares durante el almacenamiento en congelación. Estos compuestos ejercen su efecto crioprotector al elevar suficientemente la temperatura de transición vítrea (T_g') como para inmovilizar eficazmente las reacciones a las temperaturas convencionales de refrigeración (Foegeding *et al.*, 2010).

2.5.2.2 Polifosfatos

Los polifosfatos son normalmente adicionados al surimi en combinación con crioprotectores como el azúcar o sorbitol (Sultanbawa y Li-Chan, 2001). Los polifosfatos adicionados al 0,5% proveen la mayor fuerza de gel, pero el 0,3% es el óptimo para una fuerza de gel y sabor con tripolifosfato trisódico y pirofosfato trisódico usado en combinación (Rasco y Bledsoe, 2006).

Los fosfatos incrementan la retención de humedad e incrementan la capacidad de una proteína para reabsorber líquido cuando el surimi es descongelado o temperado. Actúan principalmente para mejorar el efecto crioprotector de los azúcares, en vez de un efecto directo como crioprotector, por el incremento ligero del pH, que conducirá a la mejora de la capacidad de formación de gel, fuerza de gel y cohesividad debido al incremento en la capacidad de retención de agua a mayor pH. Los fosfatos también secuestran los iones metálicos como el magnesio, hierro y zinc que interfieren en la formación de gel (Matsumoto y Noguchi, 1992; Carvajal *et al.*, 2005; Rasco y Bledsoe, 2006).

2.5.2.3 Ácidos carboxílicos

El ácido cítrico fue el primero de los ácidos hidrox-carboxílicos del cual se informó su eficiencia como crioprotector en el surimi congelado (Okada, 1968). Es una sustancia intermediaria en el metabolismo oxidativo, siendo un componente del ciclo de ácidos tricarboxílicos, así también sus sales existen en muchos alimentos y son metabolitos normales en el cuerpo (Nakamura *et al.*, 1986).

En el caso de los crioprotectores que poseen grupos funcionales iónicos, particularmente aquellos que tienen grupos aniónicos como los ácidos y aminoácidos dicarboxílicos, las moléculas de proteína se cubren con estas cargas aniónicas. Las cargas superficiales aniónicas provocan una fuerza repulsiva entre las moléculas de proteína y un aumento en la hidratación de los conjugados proteína-crioprotector a través de otros grupos aniónicos en las moléculas de crioprotectores (Matsumoto y Noguchi, 1992).

Noguchi y Matsumoto (1975) estudiaron el efecto crioprotector de 6 aminoácidos, 7 ácidos carboxílicos (entre ellos el Na-citrato), sorbitol y glucosa sobre la pasta de carne de jurel japonés (*Trachurus japonicus*) congelado libre de sal. El efecto protector del sorbitol fue en general mayor que el de glucosa, pero mejoró mucho más por la adición en combinación de los aminoácidos y ácidos carboxílicos evaluados.

2.5.2.4 Multifuncionalidad del citrato de sodio

Los crioprotectores más comunes usados en la industria del surimi son la mezcla en proporción 1:1 de azúcar y sorbitol a una concentración de 8% (w/w) (Sultanbawa y Li-Chan, 1998; Park y Lin, 2005; Zhou *et al.*, 2006).

Sin embargo, una probable nueva alternativa de utilización aplicada al surimi sería el citrato de sodio $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, una sal trisódica del ácido cítrico. Noguchi y Matsumoto (1978) reportaron que entre los ácidos hidroxicarboxílicos, el Na-citrato y Na-tartrato adicionados a las soluciones de actomiosina de carpa *Cyprinus carpio* formaron geles más allá de 0,3 M.

El Na-citrato es una sal orgánica multifuncional debido a los efectos demostrados en diversas investigaciones (Kuwahara *et al.*, 2004; Kuwahara *et al.*, 2006, Kuwahara y Konno, 2010), tales como la supresión de la degradación de miosina, capacidad de solubilización, efecto de crioprotección, efecto de quelación y mejoramiento de la capacidad de formación de geles.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materia prima

Se utilizó aproximadamente 20 Kg. de mantos frescos de pota *Dosidicus gigas*, libres de piel y vísceras, adquiridos en el Mercado Mayorista Pesquero de Ventanilla (Callao) con una longitud de manto promedio de 63,5 cm y pH promedio de 6.63. Una vez en planta, los mantos de pota se conservaron a una temperatura por debajo de 5°C.

3.2 Equipos, materiales de laboratorio y reactivos

3.2.1 Equipos

- Cúter marca Ingeniería IMKA EIR2 capacidad 5 litros.
- Prensa hidráulica marca TK-5-5 Bibun Machine Construction Co., Ltd.
- Cortador mezclador de alta velocidad (20 000 rpm) Multi-Blender Mill marca Nissei modelo SC-D, agita y vibra en forma constante.
- Analizador de humedad electrónico marca Sartorius modelo MA35, capacidad máx. 35 g, exactitud 1 mg, calentamiento por radiación infrarroja.
- Potenciómetro marca Jenway 3510 con electrodo de vidrio de lectura directa en sólidos.
- Colorímetro marca Nippon Denshoku ZE-2000.
- Balanza digital Mettler Modelo PM-100 precisión 0,001 g.
- Baño maría marca Memmert rango de temperatura 5°C a 99°C.
- Congeladora marca Sanyo -25°C.
- Termómetro de aguja digital marca Hanna HI 93530 alta precisión 0,2% y resolución 0,1 en la gama de -200°C a 999,9°C.

- Cronómetro digital marca Control Company VWR.
- Analizador de textura digital, modelo Brookfield CT3-1500, capacidad de carga 0-1500 g, precisión $\pm 0,5\%$ de la escala, vástago esférico de 5 mm de diámetro.
- Máquina cortadora de embutidos marca Júpiter.
- Túnel de congelación -25°C .



a) Analizador de textura



b) Analizador de humedad



c) Cortador mezclador de alta velocidad



d) Baño maría

Figura 7. Equipos utilizados

3.2.2 Material de laboratorio

- Tablas para picar
- Cuchillos de acero inoxidable
- Cucharas de plástico
- Baldes y canastillas de plástico
- Bolsas de polietileno
- Baguetas
- Caja de tecnopor
- Recipientes de plástico
- Placas Petri
- Beakers de 250 ml, 500 ml y 2000 ml
- Envases cilíndricos de acero inoxidable (33 mm de diámetro y 35 mm de altura)

3.2.3 Reactivos

- Cloruro de sodio (NaCl, Hatun Wasi)
- Acido cítrico ($C_6H_8O_7$, Aromas del Perú)
- Bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$, Aromas del Perú)
- Sorbitol ($C_6H_{14}O_6$, Aromas del Perú)
- Na-citrato ($Na_3C_6H_5O_7$, anhidro, Aromas del Perú)
- Cloruro de calcio ($CaCl_2$, anhidro, Merck)

3.3 Metodología experimental

La presente investigación se realizó en la planta de procesamiento de pastas y empanizados del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú ITP, Callao, durante los meses de Abril a Julio del 2012.

3.3.1 Preparación del surimi

La preparación del surimi siguió las siguientes operaciones:

a. Cortado: se procedió al cortado en láminas del manto de pota libre de piel, colocando las porciones de carne cortadas en agua con hielo para mantener la temperatura por debajo de 10°C (Figura 8). Las dimensiones de las láminas de manto de pota fueron de 50-100 mm de largo y 10 mm de espesor.



a) Conservación en hielo del manto de pota



b) Manto de pota picada

Figura 8. Cortado de manto de pota

b. Lixiviación ácida salina: para la elaboración del surimi se siguió la metodología de lixiviación ácida salina (Maza *et al.*, 2003), en cuatro etapas, donde las láminas de pota fueron colocadas en una solución ácida-salina consistente de ácido cítrico (0,5%) y cloruro de sodio (2,0%) en proporción de 2 a 1 (solución: carne), manteniéndose la temperatura de la solución por debajo de 10°C (Figura 9).

constante por 10 minutos, con reposo de 1 minuto y posterior eliminación de la espuma.

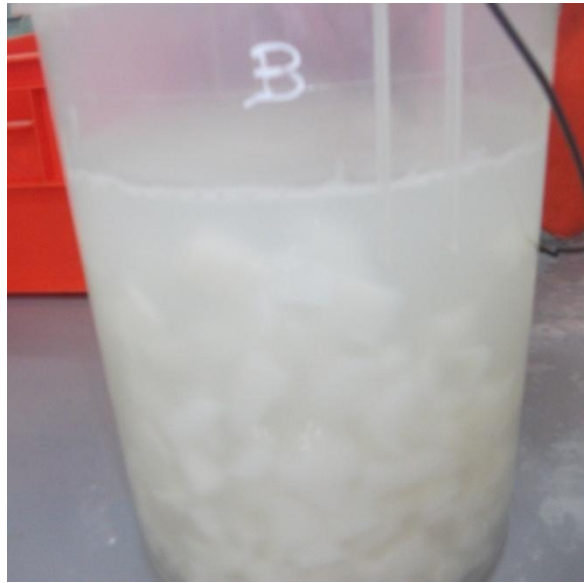


Figura 10. Lixiviación ácida salina de la carne picada de manto de pota

c. Prensado: las muestras fueron prensadas a una presión de 10 bar (aprox. 10 Kg/cm²) empleando una prensa hidráulica, de modo que se desagüe el exceso de agua (Figura 11). El tiempo de prensado fue de 10 minutos.



Figura 11. Prensado de la carne lixiviada de manto de pota

d. Desmenuzado: la masa sólida obtenida de la operación de prensado se desmenuza en el cúter, obteniéndose una masa de carne homogénea (Figura 12).



Figura 12. Carne de pota desmenuzada en cúter

e. Mezclado con crioprotectores: se realizó la preparación de dos lotes de surimi como se muestra en el cuadro 5 y en la figura 9. El lote A fue estabilizado mediante la adición de 4,0% de sorbitol, y el lote B fue estabilizado mediante la adición de 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato, este último según la referencia de Kowata *et al.* (2003).

Una vez adicionados los aditivos crioprotectores, se mezclaron junto con la masa de carne molida en el cúter.

Cuadro 5. Preparación de dos lotes de surimi de manto de pota

Lote de surimi	Aditivos crioprotectores (% por peso)	
	Sorbitol	Na-citrato
A	4,0	0,00
B	4,0	0,25

El contenido de humedad y pH final de ambos lotes de surimi se ajustó alrededor de 75% y 7,0, respectivamente; mediante la adición de una cantidad apropiada de hielo y bicarbonato de sodio.

f. Envasado y congelado: inmediatamente después se colocó 1 Kg de la mezcla obtenida correspondiente a cada lote en bolsas de polietileno previamente rotuladas, para luego congelarse en un túnel de congelación a -25°C y almacenarse a -20°C hasta su evaluación y utilización en la elaboración de productos.

3.3.2 Preparación del gel de surimi

La preparación de los geles de ambos lotes se realizó de acuerdo al flujo que se muestra en la Figura 13.

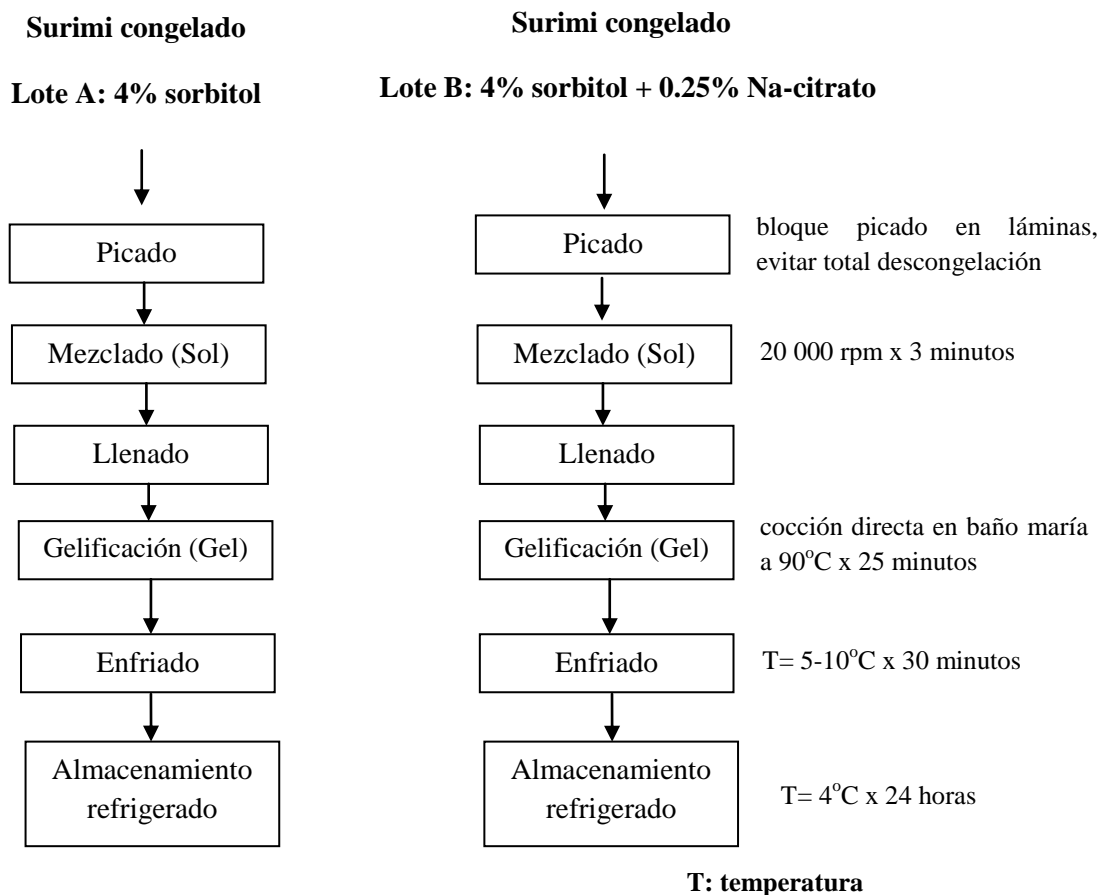


Figura 13. Flujo experimental del procesamiento de gel de dos lotes de surimi de manto de pota congelado (-25°C)

La preparación del gel para cada lote (A ó B) siguió las siguientes operaciones:

a. Picado: una cantidad de 0,2 Kg de cada lote de surimi congelado fueron picados en forma de láminas de aprox. 10 mm de espesor. Para evitar el rápido descongelamiento de las muestras picadas, éstas fueron guardadas en una caja de poliestireno expandido (tecnopor).

b. Mezclado: las láminas picadas de surimi fueron colocadas y homogeneizadas por 1 minuto en un cortador mezclador de alta velocidad, cuyo recipiente fue previamente enfriado para mantener la temperatura por debajo de 10°C durante todo el tiempo de mezclado (Figura 14).



a) Mezclado en cortador mezclador



b) Sol de surimi de pota

Figura 14. Preparación del sol de surimi de pota

Seguidamente, de acuerdo a cada lote, se adicionaron los aditivos Na-citrato y CaCl_2 , así como también NaCl y CaCl_2 , para la obtención de la pasta homogénea (sol de surimi), como se muestra en el Cuadro 6. Finalmente, se continuó con el mezclado en el

mini cúter de la masa total por un intervalo de 3 minutos hasta alcanzar una temperatura de 5°C.

Cuadro 6. Tratamientos y aditivos (%) por peso para la elaboración de geles a partir de surimi de manto de pota

Lote de surimi	Tratamientos	Aditivos (%) por peso		
		Na-citrato	CaCl ₂	NaCl
A: 4,0% sorbitol	A0	0,25	0,0	0,0
	AS	0,00	0,5	1,5
	A1	0,00	0,5	0,0
	A2	0,25	0,5	0,0
	A3	1,27	0,5	0,0
	A4	1,50	0,5	0,0
	A5	2,00	0,5	0,0
	A6	3,00	0,5	0,0
	A7	7,74	0,5	0,0
	A8	7,74	0,0	0,0
B: 4,0% sorbitol + 0,25% Na-citrato	B0	0,25	0,0	0,0
	BS	0,25	0,5	1,5
	B1	0,25	0,5	0,0
	B2	1,27	0,5	0,0
	B3	1,50	0,5	0,0
	B4	2,00	0,5	0,0

c. Llenado: la masa homogeneizada (sol de surimi) libre de burbujas se llenó en envases cilíndricos de acero inoxidable con rosca en las tapas y juntas de goma para proporcionar un cierre hermético. El interior de las paredes de los envases fue cubierto con grasa alimentaria. Luego, fueron colocados en un recipiente lleno de agua con hielo para evitar que la temperatura de la muestra exceda los 10°C.

d. Gelificación: seguidamente, estos envases fueron dejados en un baño maría a 90°C por 25 min (cocción directa).

e. Enfriado: luego del cocinado, los geles fueron inmediatamente enfriados en agua con hielo por 30 minutos.

f. Almacenamiento: finalmente se extrajeron los geles del interior de los envases cilíndricos y se mantuvieron almacenados a 4°C por 24 horas antes del análisis. Los geles obtenidos fueron llamados “geles tipo kamaboko” (Figura 15).



a) Geles de surimi lote A



b) Geles de surimi lote B

Figura 15. Geles de pota tipo kamaboko

3.3.3 Variables estudiadas

Las variables estudiadas fueron las diferentes cantidades de Na-citrato (0,25%, 1,27%, 1,5%, 2,0%, 3,0% y 7,74%), NaCl (1,5%) y CaCl₂ (0,5%). Las variables dependientes o respuesta fueron la dureza (gramos), la elasticidad (milímetros), la fuerza de gel (gramos por centímetro) y la prueba de doblez.

3.3.4 Métodos de evaluación

La evaluación de la funcionalidad tecnológica del gel se realizó a través de las propiedades de gelificación (dureza, elasticidad y fuerza de gel) y prueba de doblez.

3.3.4.1 Funcionalidad del gel

a. Análisis de textura

El análisis de textura de los geles se realizó usando un analizador de textura Brookfield. Los geles fueron expuestos por 2 horas a temperatura ambiente (25°C) previamente al análisis. Fueron preparadas cuatro muestras (geles) en forma de cilindro (30 mm de longitud; 30 mm de diámetro). La dureza (g) y la elasticidad (mm) se determinaron en las curvas de fuerza/carga-deformación. Las muestras (geles) fueron penetradas hasta el punto de fractura usando el analizador de textura equipado con una esfera de penetración de 5 mm de diámetro. La velocidad de la esfera de penetración fue de 1 mm/s (Figura 16).

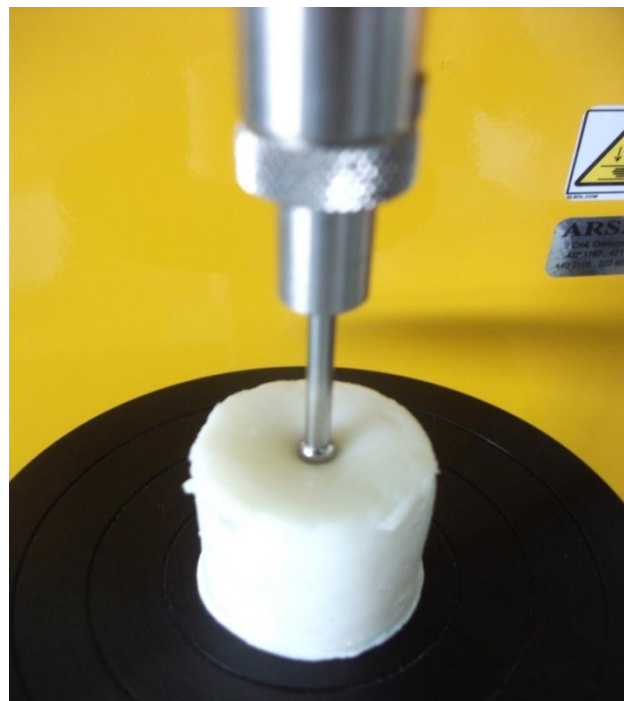


Figura 16. Prueba de punción del gel de pota

La fuerza de gel se determinó mediante la multiplicación de la dureza y la elasticidad. Todas las determinaciones se llevaron a cabo al menos 8 veces. Los grados comerciales del surimi de pota han sido establecidos de acuerdo a la clasificación basada en los grados comerciales del surimi de abadejo de Alaska *Theragra chalcogramma* (Alaska pollock en inglés) (Cuadro 7), como sigue a continuación:

Cuadro 7. Grados comerciales de surimi de Alaska pollock

Atributos	Clasificación de surimi						
	1 ^{er} grado					2 ^{do} grado	3 ^{er} grado
	SSSA	SSA	SA	AA	A	KA/KB	RA/RB/C
Humedad (+ 1%)	76	76	76	76	76	76	76
Fuerza de gel (g.cm)	>1000	>850	>700	>600	>500	>350	<100
Elasticidad (mm)	>12,0	>12,0	>11,0	>11,0	>10,0	>9,0	<9,0
L*	>80	>80	>75	>74	>73	<60	<40
Impurezas	<5	<6	<7	<8	<9	<10	<11

Fuente: FIS (2011)

b. Prueba de doblez

La prueba de doblez se realizó de acuerdo con Tanikawa *et al.* (1985), mediante el doblado entre el pulgar y el dedo índice de una rodaja de gel de dimensiones (3 mm de espesor y 30 mm de diámetro). Los resultados estuvieron basados en el grado de ocurrencias de grieta a lo largo de los pliegues como lo señala el Cuadro 8. La evaluación se llevó a cabo aplicando el procedimiento al menos a 40 rodajas por tratamiento (Figura 17).

Cuadro 8. Escala de calificación de la prueba de doblez

Grado	Puntaje	Descripción
AA	5	Gel extremadamente elástico (ninguna grieta cuando se dobla en cuatro)
A	4	Gel moderadamente elástico (ninguna grieta cuando se dobla por la mitad, grietas cuando se dobla en cuatro)
B	3	Gel ligeramente elástico (algunas grietas cuando se dobla por la mitad)
C	2	Gel no elástico (se rompe en pedazos cuando se dobla por la mitad)
D	1	Gel deficiente (se rompe en pedazos con la presión de los dedos)

Fuente: Tanikawa *et al.* (1985)



Figura 17. Cortado de geles de pota para la prueba de doblez

3.3.4.2 Caracterización del sol y gel de surimi

Se realizaron las mediciones de los parámetros de caracterización del sol y gel de surimi (contenido de humedad, pH y color) de acuerdo a Cortés-Ruiz *et al.* (2008).

a. Determinación de humedad

Una cantidad de 1,5 g de sol y gel de surimi se colocó en una balanza de determinación de humedad a 100°C de acuerdo a FAO (1986). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

b. Medición del pH

Los valores de pH fueron medidos a 2,0 g de masa homogeneizada (sol y gel de surimi) utilizando un potenciómetro con electrodo de vidrio de lectura directa en sólidos, previamente calibrado con soluciones tamponadas de 4, 7 y 10 (ITP, 2004). Para cada una de las lecturas se introdujo el electrodo en la muestra cuya temperatura fue programada entre 20-25 °C Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

c. Determinación del color

Los geles de surimi fueron sometidos a una determinación de color usando un colorímetro con sistema CIELab. El colorímetro fue calibrado con un panel blanco de calibración. Se obtuvieron los parámetros de luminosidad (L*), color rojo-verde (a*) y color amarillo-azul (b*).

Un factor de calidad de productos finales tipo kamaboko, a partir de surimi, se determina por su color blanco, por esta razón Park (2005) menciona que la determinación del color para este caso puede determinarse como Índice de Blancura y su cálculo será tal como:

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2}b^{*2}]^{1/2}$$

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.3.5 Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa estadístico para Windows STATGRAPHICS Plus Versión 5,0. Los resultados fueron analizados estadísticamente a través del análisis de varianza (ANOVA) y test de comparaciones múltiples (Tukey) con un $p < 0,05$.

3.3.5.1. Dureza

Anova: En base a los datos de dureza se desarrolló el análisis de varianza con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

Siendo la hipótesis:

Hipótesis:

Ho: Todos las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) tienen el mismo efecto en la dureza de los geles (gramos) comparado con 1,5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Ha: Con al menos una de las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) se obtiene un efecto en la dureza del gel (gramos) diferente comparado con 1,5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Y el criterio de evaluación:

$p \geq 0,05$ No se rechaza H_0

$p < 0,05$ Se rechaza H_0

La evaluación de comparaciones múltiples se desarrolló mediante la Prueba de Tukey HSD con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

3.3.5.2. Elasticidad

Anova: En base a los datos de elasticidad se desarrolló el análisis de varianza con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

Siendo la hipótesis:

Hipótesis:

Ho: Todos las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) tienen el mismo efecto en la elasticidad de los geles (milímetros) comparado con 1,5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Ha: Con al menos una de las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) se obtiene un efecto en la elasticidad del gel (milímetros) diferente comparado con 1,5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Y el criterio de evaluación:

$p \geq 0,05$ No se rechaza H_0

$p < 0,05$Se rechaza H_0

La evaluación de comparaciones múltiples se desarrolló mediante la Prueba de Tukey HSD con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

3.3.5.3. Fuerza de gel

Anova: En base a los datos de fuerza de gel se desarrolló el análisis de varianza con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

Siendo la hipótesis:

Hipótesis:

H₀: Todos las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) tienen el mismo efecto en la fuerza de los geles (gramos por centímetro) comparado con 1.5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Ha: Con al menos una de las cantidades de Na-citrato y dosis única de CaCl_2 (0,5%) se obtiene un efecto en la fuerza de gel (gramos por centímetro) diferente comparado con 1,5% de NaCl durante la gelificación térmica.

Y el criterio de evaluación:

$p \geq 0,05$ No se rechaza H_0

$p < 0,05$Se rechaza H_0

La evaluación de comparaciones múltiples se desarrolló mediante la Prueba de Tukey HSD con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto del Na-citrato y CaCl₂ en la gelificación del surimi de manto de pota

En el Cuadro 9 y en la Figura 18 se muestran las propiedades de textura de los geles en términos de los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel obtenidas con la adición de cantidades combinadas de Na-citrato y CaCl₂ a partir de surimi de manto de pota del lote A (4,0% de sorbitol).

Cuadro 9. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂(Lote A)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)		Propiedades de textura ⁽¹⁾		
		Na-citrato	CaCl ₂	Dureza (g)	Elasticidad (mm)	Fuerza de gel (g.cm)
A	A0	0,25	0,0	538,6±48 ^a	8,6±0,6 ^a	465,0±68 ^a
	A1	0,00	0,5	568,2±58 ^a	8,2±0,4 ^a	465,1±59 ^a
	A2	0,25	0,5	521,6±54 ^a	7,9±0,6 ^a	416,1±69 ^a
	A3	1,27	0,5	525,2±47 ^a	8,3±0,5 ^a	433,4±51 ^a

⁽¹⁾ Los valores son el promedio y desviación estándar de n=8. Las letras en la misma columna con el mismo superíndice ^(a) no denotan diferencias significativas (p>0,05)

Los resultados mostraron que los valores de dureza de los geles con adición de 0,5% (50 mM) de CaCl₂ (A1) aumentaron no significativamente con respecto a aquellos sólo con la adición de 0,25% de Na-citrato (A0). Se evidenció también una disminución no significativa de los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles con adición de 0,25% (10 mM) de Na-citrato y 0,5% (50 mM) de CaCl₂ (A2) y 1,27% (50 mM) de Na-citrato y 0,5% (50 mM) de CaCl₂ (A3) con respecto a aquellos sólo con la adición de 0,25% de Na-citrato (A0).

La adición de CaCl₂ se realizó debido a que se ha encontrado que la inactivación térmica de la miosina ATPasa de calamar común japonés *Todarodes pacificus* se suprimió tras la adición de calcio (Konno, 1991; Yoshioka *et al.*, 2005). El sorbitol también estabilizó las miofibrillas de calamar tras la adición de calcio (Konno, 1991). La actividad ATPasa junto a la unión de actina F con la miosina a bajas cantidades de sal, estabilizaron la molécula de

miosina de calamar en presencia de calcio en aprox. 100 veces durante la desnaturalización térmica (Konno *et al.*, 2003; Ohno *et al.*, 2011).

Por otro lado, de acuerdo con los resultados, la adición de Na-citrato también ejerció un efecto supresor sobre la desnaturalización térmica de la miosina, de forma similar a lo mencionado por Kuwahara y Konno (2010) quienes trabajando con carne de carpa común *Cyprinus carpio*, estabilizaron la miosina en $10^{1.7}$ veces (aprox. 50 veces). Asimismo, Ooizumi *et al.* (1984) encontraron que el Na-citrato efectuó el mayor efecto protector sobre la desnaturalización térmica de las miofibrillas de caballa *Scomber japonicus*, con respecto a otros ácidos mono y dicarboxílicos como el Na-gluconato y Na-tartrato, respectivamente.

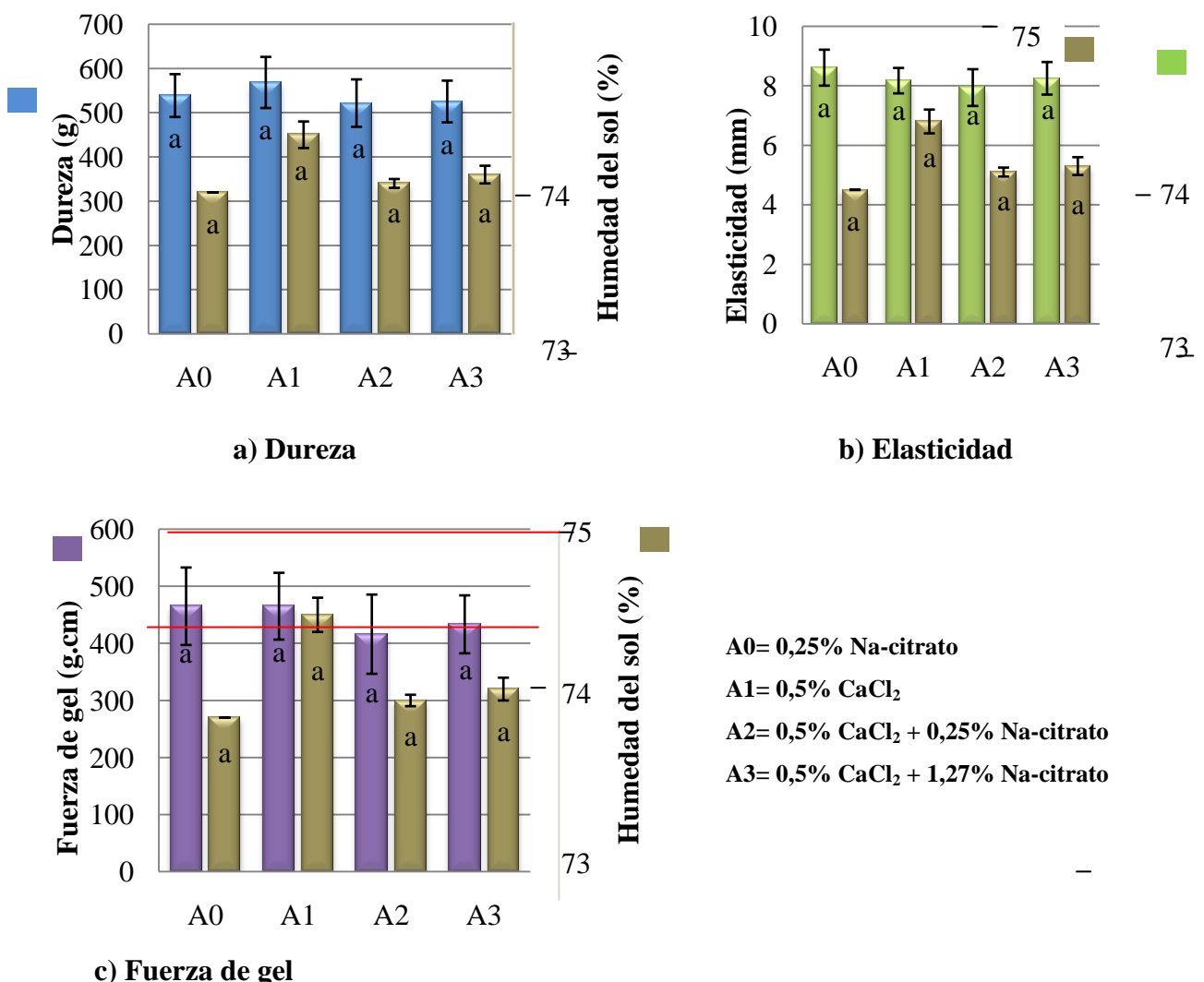


Figura 18. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con adición de Na-citrato y CaCl₂

En el Cuadro 10 se muestran los puntajes y el grado obtenidos según la escala de calificación para la prueba de doblez de los geles elaborados con Na-citrato y CaCl₂ a partir del surimi de manto de pota del lote A.

Cuadro 10. Prueba de doblez de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂(Lote A)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)		Determinaciones ⁽¹⁾			Puntaje	Grado
		Na-citrato	CaCl ₂	AA	A	B		
A	A0	0,25	0,0	36 (94,74)	1 (2,63)	1 (2,63)	4,92	AA
	A1	0,00	0,5	40 (97,56)	1 (2,44)	0	4,98	AA
	A2	0,25	0,5	50 (96,15)	2 (3,85)	0	4,96	AA
	A3	1,27	0,5	37 (92,50)	3 (7,50)	0	4,93	AA

⁽¹⁾Los valores en paréntesis denotan el porcentaje (%) de las determinaciones

Se puede observar (Cuadro 10 y Figura 19) que todos los geles alcanzaron un grado AA en la prueba de doblez, siendo los geles de A1 quienes obtuvieron el mayor puntaje (4,98), seguido de los geles de A2 (4,96), A3 (4,93) y A0 (4,92). Se registraron para todos los geles determinaciones entre 1 y 3 para el grado A y sólo los geles A0 alcanzaron una determinación para el grado B.

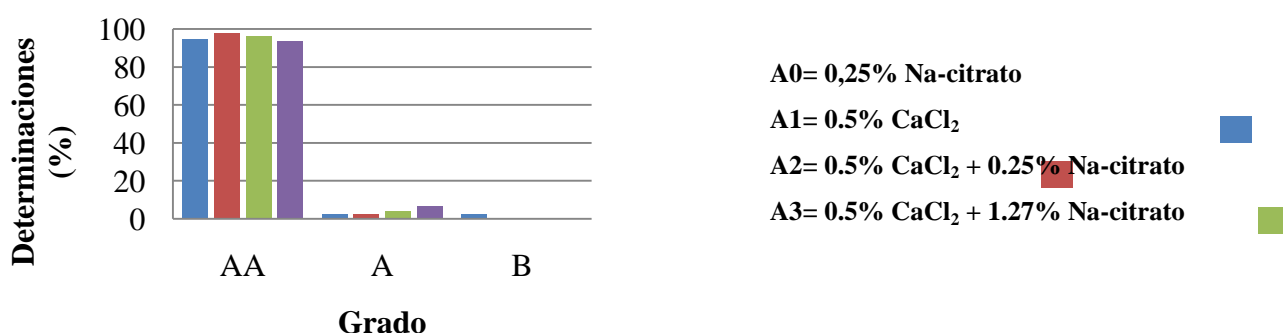


Figura 19. Determinaciones (%) y grado de los geles de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂ (Lote A)

En el Cuadro 11 y en la Figura 20, se muestran las propiedades de textura de los geles en términos de los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel obtenidas con la adición de

cantidades combinadas de Na-citrato y CaCl₂ a partir de surimi de manto de pota del lote B (4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato).

Cuadro 11. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂ (Lote B)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)		Propiedades de textura ⁽¹⁾		
		Na-citrato	CaCl ₂	Dureza (g)	Elasticidad (mm)	Fuerza de gel (g.cm)
B	B0	0,25	0,0	490,5±35 ^a	8,9±0,5 ^a	437,1±49 ^a
	B1	0,25	0,5	428,8±50 ^b	7,9±0,6 ^b	338,9±60 ^b
	B2	1,27	0,5	471,1±34 ^{ab}	7,9±0,4 ^b	374,3±42 ^b

⁽¹⁾Los valores son el promedio y desviación estándar de n=8. Las letras en la misma columna con diferente superíndice ^(a-b) denotan diferencias significativas (p <0,05)

Los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles con adición de 0,25% de Na-citrato y 0,5% de CaCl₂ (B1) disminuyeron significativamente con respecto a los geles con la adición sólo de 0,25% de Na-citrato (B0). Este resultado pareciera contradictorio pues la adición de CaCl₂ mejora las propiedades de textura, como se demostró en los geles del lote A. Sin embargo, es preciso resaltar que el surimi del lote B ya presentaba una cantidad de 0,25% de Na-citrato en su composición, no adicionándose una cantidad extra durante el proceso de solubilización para la obtención del sol de surimi. Es conocido que el Na-citrato tiene una capacidad quelante al formar un complejo estable con cationes divalentes (Kuwahara *et al.*, 2006), pudiendo ocurrir tal reacción entre el Na-citrato y el CaCl₂ en el presente estudio.

Los valores de dureza y fuerza de gel de los geles con adición de 1,27% (50 mM) de Na-citrato y 0,5% (50 mM) de CaCl₂ (B2) disminuyeron no significativamente con respecto a los geles con la adición sólo de 0,25% de Na-citrato (B0). Es importante señalar que los mejores valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel fueron alcanzados por los geles con la adición sólo de 0,25% de Na-citrato (B0) para ambos lotes de surimi de pota.

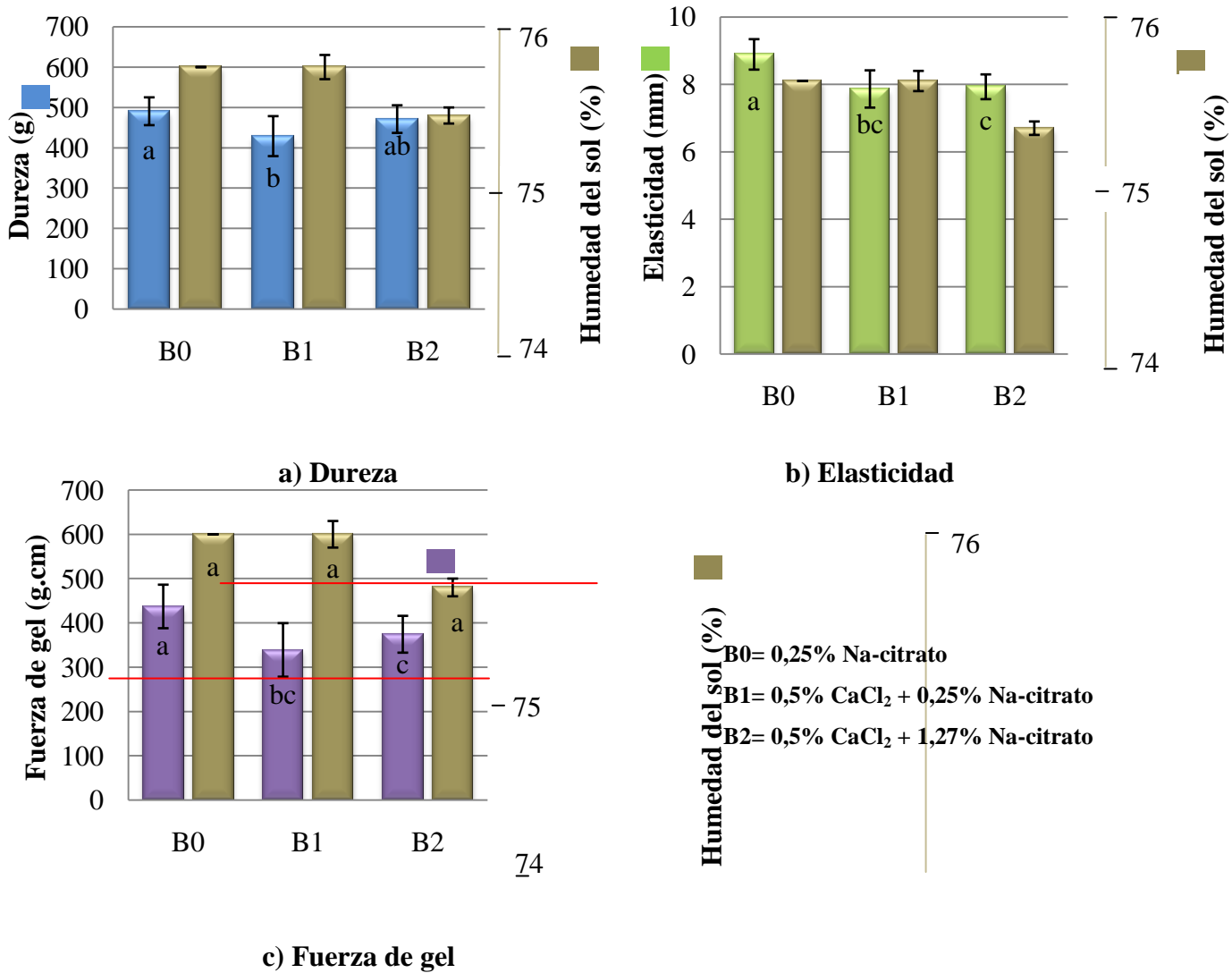


Figura 20. Dureza, elasticidad y fuerza de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y CaCl₂

En el Cuadro 12 y en la Figura 21, se observan los puntajes y el grado obtenidos en la prueba de doblez de los geles elaborados con Na-citrato y CaCl₂ a partir del surimi de manto de pota del lote B.

Cuadro 12. Prueba de doblez de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂

(Lote B)

Lote de surimi	Variable	Aditivos (%)		Determinaciones ⁽¹⁾			Puntaje	Grado
		Na-citrato	CaCl ₂	AA	A	B		
B	B0	0,25	0,0	40 (97,56)	1 (2,44)	0	4,98	AA
	B1	0,25	0,5	38 (95,00)	1 (2,50)	1 (2,5)	4,93	AA
	B2	1,27	0,5	35 (97,22)	1 (2,78)	0	4,97	AA

⁽¹⁾ Los valores en paréntesis denotan el porcentaje (%) de las determinaciones

Se puede notar que todos los geles alcanzaron un grado AA en la prueba de doblez, siendo los geles B0 quienes obtuvieron el mayor puntaje (4,98), seguidos de los geles de B2 (4,97) y B1 (4,93). También se registraron para todos los geles una sola determinación para el grado A y sólo los geles de B1 alcanzaron una determinación para el grado B.

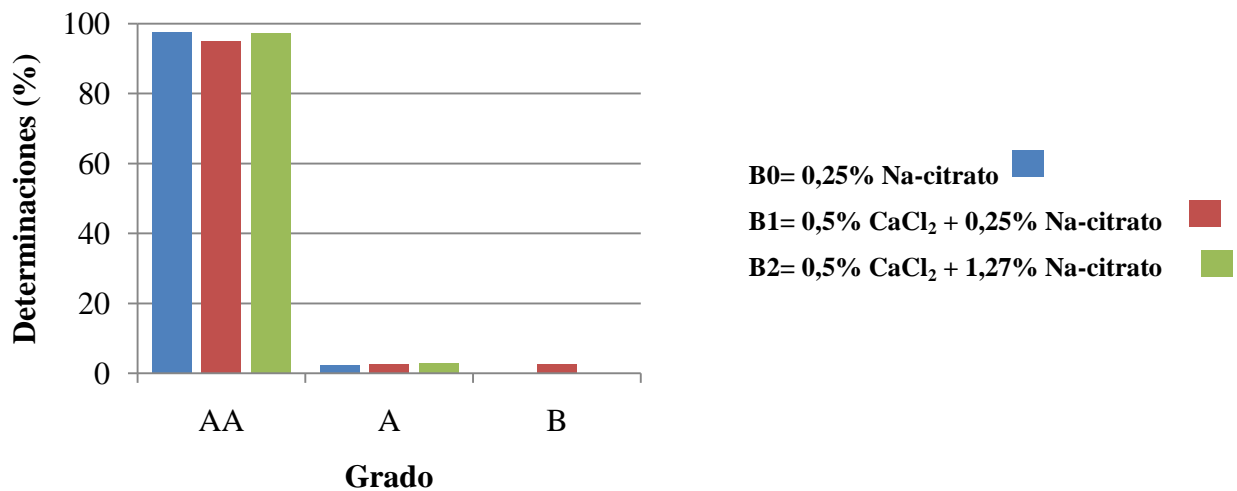


Figura 21. Determinaciones (%) y grado de los geles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂ (Lote B)

Es posible inferir que la presencia de Na-citrato, durante el proceso de solubilización para la obtención del sol de surimi, ejerció un efecto de quelación por el ión calcio, lo cual puede ser demostrado claramente al observar la disminución de los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel en los geles elaborados con 0,25% de Na-citrato y 0,5% de

CaCl₂ y 1,27% de Na-citrato y 0,5% de CaCl₂ a partir de ambos lotes de surimi (A2, A3, B1 y B2). Kuwahara y Konno (2010), utilizaron 15 mM de CaCl₂ (0,17%) para eliminar el problema de reducción de la actividad ATPasa por quelación del calcio ejercido por Na-citrato. La inclusión de Na-citrato hasta 100 mM (2,58%) no afectó la velocidad de inactivación de ATPasa.

Se ha encontrado que por encima del pH 7,0 el Na-citrato puede ser considerado enteramente en la forma de ión citrato o de sus sales (Baird y Van Slyke, 1922). Según la afirmación anterior, dado que los valores de pH obtenidos en el proceso de solubilización con las sales de Na-citrato y CaCl₂ oscilaron entre 7,4 y 7,8 es posible afirmar que cuando los iones calcio (Ca²⁺) y citrato (C₆H₅O₇³⁻) están presentes en solución, una parte del calcio presente forma un ión complejo de citrato de calcio cargado negativamente (CaC₆H₅O₇) (Baird *et al.*, 1934).

Este complejo de citrato de calcio entre otros compuestos de calcio, han sido empleados como aditivos alimentarios mejoradores del gel a partir del procesamiento comercial de surimi de merluza del Pacífico y abadejo de Alaska (Lee y Park, 1998). Los iones calcio permiten la formación de enlaces entrecruzados a través de los puentes de calcio y establecen una estructura de red de gel más fuerte (Chen y Xue, 2010; Ding *et al.*, 2011). Estos iones pueden proporcionar fuerzas de enlaces de unión más fuertes debido a su gran tamaño, pues poseen un diámetro cercano a 0.099 nm (Tang *et al.*, 1995).

Por otro lado, las metal-proteinasas o miosinasas, responsables de la autólisis del músculo de calamar a través de la degradación de la miosina de cadena pesada, requieren para su activación de iones zinc o cobalto, siendo estas enzimas causantes de la segmentación específica de la molécula de miosina en meromiosina pesada (MMP) y meromiosina ligera (MML) (Okamoto *et al.*, 1993; Konno *et al.*, 2003). Esta unión de los dos segmentos ubicada en el centro de la cola o bastón de la molécula de miosina es protegida del ataque proteolítico mediante la formación de filamentos a concentración salina fisiológica (Konno y Fukazawa, 1993).

Se ha encontrado que el Na-citrato puede servir como agente quelante de cationes metálicos divalentes endógenos, y, de este modo, inactivar las enzimas del veneno de serpiente (metal-proteinasas) que requieren de cationes divalentes (Francis *et al.*, 1992). De igual manera puede inhibir la actividad de las proteasas del veneno de serpiente mediante la

formación de un complejo con el zinc de las enzimas dependientes del zinc (Odell *et al.*, 1998).

El mecanismo ejercido por la adición de las sales orgánicas como el Na-citrato para incrementar la fuerza de gel de la carne de calamar se realizó a través de la inhibición de las enzimas proteolíticas tales como las serín-proteinasas y metal-proteinasas, con efectos casi comparables a los alcanzados por el EDTA y 1,10-fenantrolina, agentes quelantes inhibidores de metal-proteinasas a través de la formación de complejos con cationes divalentes (Zn^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} entre otros) y el fluoruro de fenilsulfonilo (PMSF), inhibidor irreversible de las serín-proteinasas (Erickson, 2000; Dublán, 2001; Kuwahara *et al.*, 2004). Es preciso señalar que el EDTA y 1,10-fenantrolina no están permitidos como aditivos alimentarios para productos cárnicos por el Ministerio de Salud y Bienestar de Japón (Kuwahara *et al.*, 2006), a diferencia del Na-citrato que es una sustancia GRAS (*Generally Recognized As Safe* o generalmente reconocido como seguro, en español) (FDA, 2010).

El Na-citrato establecido en un rango de concentración de 0,25 M a 1,0 M, ejerció un efecto de inhibición de la actividad proteolítica del calamar común japonés a una temperatura de 25°C por 5 horas, lo cual se reflejó en un mayor contenido de la miosina de cadena pesada (30-35%), es decir, en un menor grado de degradación de las proteínas miofibrilares (Kuwahara *et al.*, 2006). Se registró el efecto de las sales orgánicas, entre ellas el Na-citrato, sobre la degradación de la miosina de cadena pesada de una suspensión de carne de calamar incubada a 5°C y 25°C, encontrándose un contenido de miosina de cadena pesada de aprox. 30%. El contenido de la miosina de cadena pesada (aprox. 20%) permitió una mayor dureza del gel de calamar común japonés (aprox. 500 g) cuando se adicionó 10,9% (0.5 M) de Na-gluconato (Kuwahara y Osako, 2003).

Las cantidades de 0,25% (10 mM) y 1,27% (50 mM) de Na-citrato podrían haber ejercido también un efecto inhibitor de las metal-proteinasas y serín-proteinasas de la carne de pota mediante la remoción de iones divalentes como el ión zinc del sitio activo (quelación) y/o formación de un complejo estable con cationes divalentes. Este efecto quelante por parte del Na-citrato permitiría la menor degradación de las proteínas miofibrilares y, por tanto, un mayor contenido de la miosina de cadena pesada, imprescindible para la formación de estructura de la red tridimensional durante la gelificación térmica del surimi de manto de pota.

4.2. Efecto del Na-citrato y NaCl en la gelificación del surimi de manto de pota

Se empleó para este estudio la concentración de 0,25 M (1,5%) de NaCl (un contenido relativamente bajo de sal) debido a que a una mayor concentración entre 0,3-0,5 M (1,7%-3,0%) se ha encontrado una mayor actividad proteolítica en el músculo de pota *Dosidicus gigas* (Konno y Fukazawa, 1993; Konno *et al.*, 2003; Kuwahara *et al.*, 2006; Sánchez-Alonso *et al.*, 2007). Sin embargo, Rocha-Estrada *et al.* (2010) indicaron que la solubilidad de las proteínas del manto y aleta de pota *Dosidicus gigas* se incrementó significativamente cuando la concentración de NaCl aumentó de 0,2 a 0,4 M (1,2% a 2,3%) a un pH cercano a la neutralidad.

La cantidad de 2,0-3,0% de NaCl fue requerida para la formación de geles de pota (Maza *et al.*, 2003; Maza y Rosales, 2004, Cortés-Ruiz *et al.*, 2008; Campo-Deaño *et al.*, 2010). Al añadir NaCl a una concentración de 0,4-0,5 M (2,5-3,0%), las miofibrillas del músculo se separan, se solubilizan los miofilamentos y la actomiosina pierde su estructura original pasando al medio y quedando en condiciones de interactuar entre sí, formando la matriz de un gel en cuya red se van a alojar agua y otros ingredientes, proporcionando todo esto una textura especial al producto (Borderías y Pérez-Mateos, 2005). Además, con 1,5% de NaCl se obtiene un gel de pota con apariencia uniforme, mayor formación de enlaces entrecruzados o polimerización de la miosina y paramiosina, razones principales para una mayor fuerza de gel (Gómez-Guillén *et al.*, 1997, 1998).

En el Cuadro 13 se muestran las diferentes cantidades de Na-citrato (0,25%-2,0%) y NaCl (1,5%) y su efecto sobre las propiedades de textura (dureza, elasticidad y fuerza de gel) de los geles a partir de surimi de manto de pota del lote A (4,0% de sorbitol).

Cuadro 13. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)			Propiedades de textura ⁽¹⁾		
		Na-citrato	CaCl	CaCl ₂	Dureza (g)	Elasticidad (mm)	Fuerza de gel (g.cm)
A	AS	0,00	,5	0,5	522,7±39 ^a	7,8±0,4 ^{ab}	407,5±43 ^{ab}
	A2	0,25	,0	0,5	521,6±54 ^a	7,9±0,6 ^{ab}	416,1±69 ^a
	A3	1,27	,0	0,5	525,2±47 ^a	8,3±0,5 ^a	433,4±51 ^a
	A4	1,50	,0	0,5	463,3±33 ^b	7,6±0,3 ^b	350,9±23 ^b
	A5	2,00	,0	0,5	568,2±48 ^a	8,1±0,5 ^{ab}	462,3±52 ^a

⁽¹⁾ Los valores son el promedio y desviación estándar de n=8. Las letras en la misma columna con diferente superíndice ^(a,b) denotan diferencias significativas (p<0,05)

Una disminución significativa en los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel tras la adición de 1,5% de Na-citrato (0,058 M) fue registrado en este estudio y de manera similar por Ooi *et al.* (2010) cuando determinaron el efecto de diferentes cantidades de Na-gluconato sobre la dureza del gel inducido por calentamiento a 80°C por 20 minutos, observándose un declive en la dureza cuando la concentración fue de 0,3 M (6,5%), para luego incrementarse hasta 0,6 M (13,1%). Incluso cuando se combinaron diferentes cantidades de Na-gluconato y NaCl, así como también de K-gluconato y KCl, presentaron el mismo declive en la dureza para el mismo rango de concentración.

Una posible explicación correspondería a lo encontrado por Okamura *et al.* (1961) donde se observó que la fuerza de gelestimada sensorialmente mostró muchas fluctuaciones tras la adición de cantidades de Na-citrato en un rango de 0,07%- 1,29% y a pH entre 7,15-7,30, debido a que el efecto de esta sal orgánica es sensible a las variaciones de concentración.

En la Figura 22 se observa que la mayor dureza de los geles (568,2 g) se alcanzó con la adición de 2,0% de Na-citrato; sin embargo, ninguno de los geles con adición de Na-citrato presentó diferencias significativas al compararse con 1,5% de NaCl (522,7 g), con excepción de 1,5% de Na-citrato, el cual presentó, los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel más bajos (463,3 g, 7,6 mm y 350,9 g.cm, respectivamente).

Los mayores valores de elasticidad (8,3 mm) y fuerza de gel (462,3 g.cm) se encontraron con la adición de 1,27% y 2,0% de Na-citrato, respectivamente, sin embargo, ninguno de los geles con adición de Na-citrato presentó diferencias significativas al compararse con la elasticidad y fuerza de gel obtenidas con 1,5% de NaCl (7,8 mm y 407,5 g.cm, respectivamente).

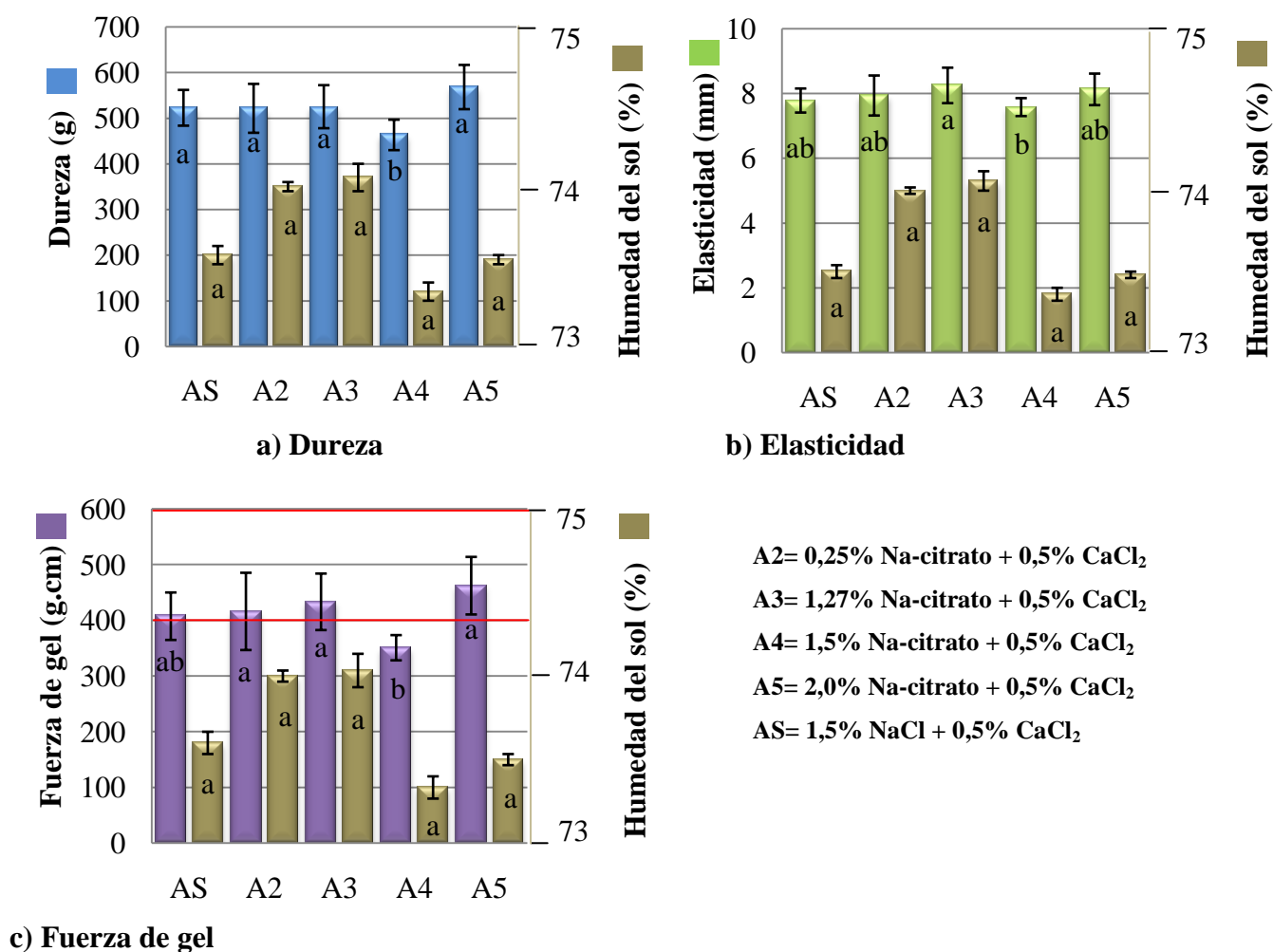


Figura 22. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con adición de citrato de sodio y 1,5% NaCl

En el Cuadro 14 y en la Figura 23 se muestran los puntajes y el grado obtenidos en la prueba de doblez de los geles hechos con diferentes cantidades de Na-citrato y NaCl a partir del surimi de manto de pota del lote A.

Cuadro 14. Prueba de doblez de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

Lote de surimi	Variable	Aditivos (%)		Determinaciones ⁽¹⁾			Puntaje	Grado
		Na-citrato	NaCl	AA	A	B		
A	AS	0,00	1,5	31 (83,78)	5 (13,51)	1 (2,7)	4,81	AA
	A2	0,25	0,0	50 (96,15)	2 (3,85)	0	4,96	AA
	A3	1,27	0,0	37 (92,50)	3 (7,50)	0	4,93	AA
	A4	1,50	0,0	47 (88,68)	6 (11,32)	0	4,89	AA
	A5	2,00	0,0	47 (95,92)	2 (4,08)	0	4,96	AA

⁽¹⁾ Los valores en paréntesis denotan el porcentaje (%) de las determinaciones

Así mismo, se observan que todos los geles alcanzaron un grado AA en la prueba de doblez, siendo los geles de A2 y A5 quienes obtuvieron el mayor puntaje (4,96), seguido de los geles de A3 (4,93), A4 (4,89) y AS (4,81). Se registraron para los geles de AS cinco determinaciones para el grado A y los demás geles obtuvieron determinaciones entre 2 y 6 para el mismo grado. Sólo los geles de AS alcanzaron una determinación para el grado B.

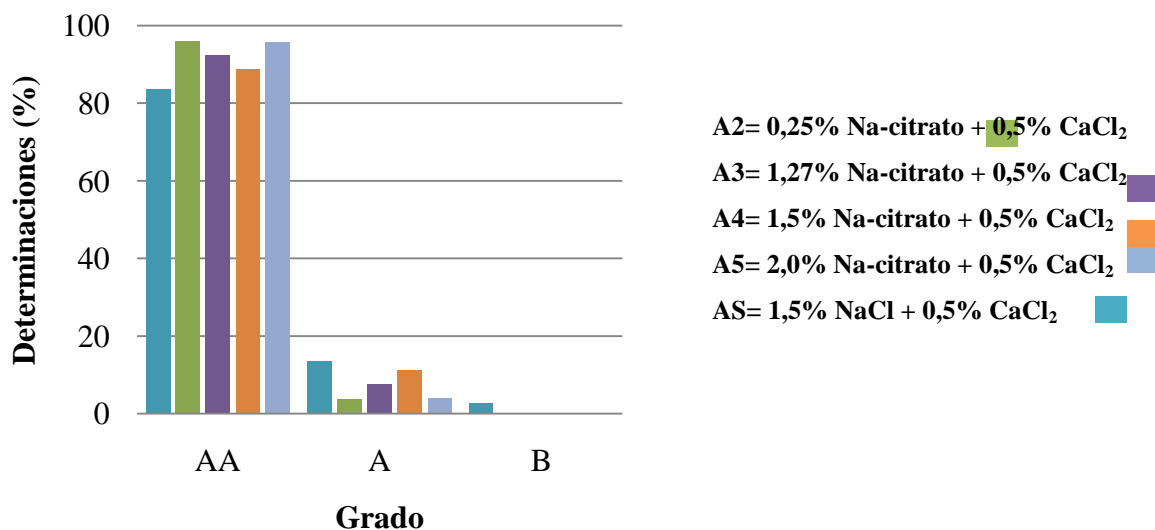


Figura 23. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl

En el Cuadro 15 y en la Figura 24 se aprecia el efecto producido por las diferentes cantidades utilizadas de Na-citrato (0,25%-2,0%) y NaCl (1,5%) y su efecto sobre las

propiedades de textura (dureza, elasticidad y fuerza de gel) de los geles a partir de surimi de manto de pota del lote B (4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato).

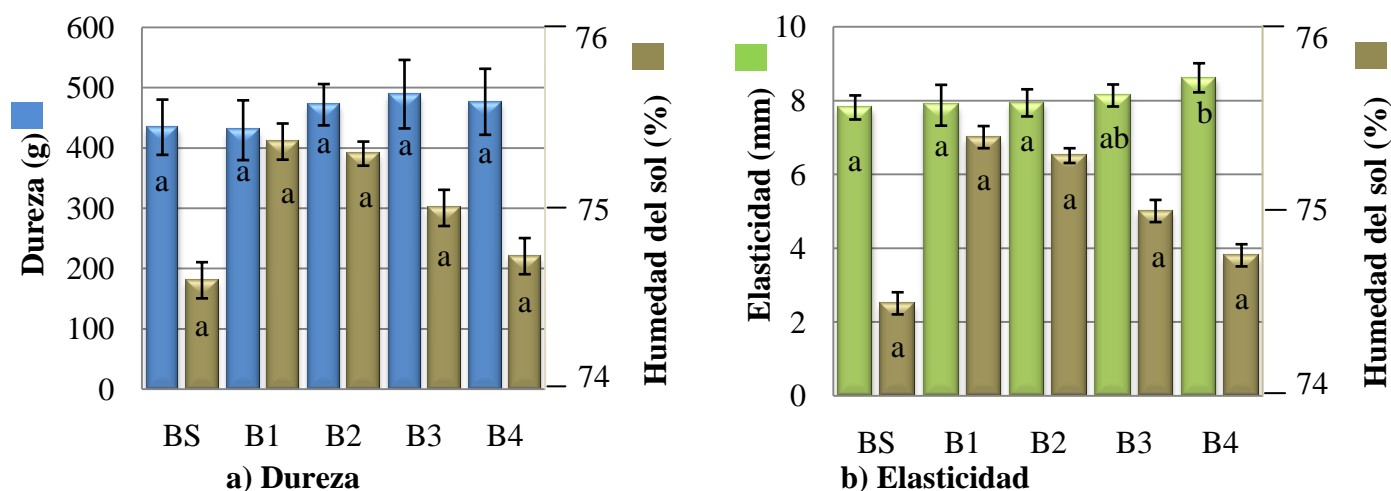
Cuadro 15. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote B)

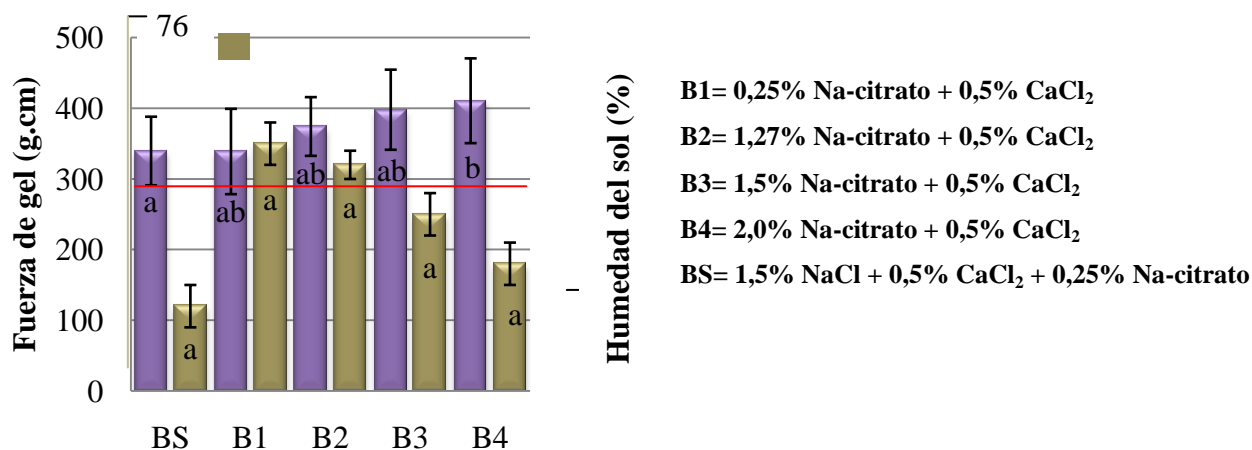
Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)			Propiedades de textura ⁽¹⁾		
		Na-citrato	NaCl	CaCl ₂	Dureza (g)	Elasticidad (mm)	Fuerza de gel (g.cm)
B	BS	0,25	1,5	0,5	433,8±46 ^a	7,8±0,3 ^a	339,6±49 ^a
	B1	0,25	0,0	0,5	428,8±50 ^a	7,9±0,5 ^a	338,9±60 ^{ab}
	B2	1,27	0,0	0,5	471,1±34 ^a	7,9±0,4 ^a	374,3±42 ^{ab}
	B3	1,50	0,0	0,5	488,6±57 ^a	8,1±0,3 ^{ab}	398,1±57 ^{ab}
	B4	2,00	0,0	0,5	475,9±55 ^a	8,6±0,4 ^b	410,7±60 ^b

⁽¹⁾ Los valores son el promedio y desviación estándar de n=8. Las letras en la misma columna con diferente superíndice ^(a,b) denotan diferencias significativas (p<0,05)

También, se observa que la mayor dureza de los geles (488,6 g) se alcanzó con la adición de 1,5% de Na-citrato; sin embargo, ninguno de los valores de dureza de los geles con Na-citrato presentó diferencias significativas con respecto a aquellos con 1,5% de NaCl (433,8 g).

Los mayores valores de elasticidad (8,6 mm) y fuerza de gel (410,7 g.cm) fueron alcanzados con la adición de 2,0% de Na-citrato superando a la elasticidad (7,8 mm) y fuerza de gel (339,6 g.cm) obtenidas con 1,5% de NaCl.





_ 74

c) Fuerza de gel

Figura 24. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles y contenido de humedad del sol a partir de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y 1,5% de NaCl

Es notoria la tendencia de todas las propiedades de textura del gel (dureza, elasticidad y fuerza de gel) a incrementar sus valores conforme se incrementó la cantidad de Na-citrato, existiendo una disminución no significativa de la dureza de los geles con adición de 2,0% de Na-citrato.

Por otro lado, es necesario señalar que estos geles han sido elaborados a partir del surimi que contenía 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato (Lote B), empleándose el Na-citrato como posible sustituto de los crioprotectores convencionales, tales como el azúcar y polifosfatos.

La adición de Na-citrato en el rango de 0,1-0,5% por peso junto con 6,0% de sorbitol y 0,04% de carbonato de sodio durante la preparación de surimi congelado sin la adición de polifosfatos, permitió ajustar el valor de pH de la carne a menos de 7,5 y otorgó al producto una excelente blancura, buena elasticidad y una fuerza de gel entre 320 a 355 g.cm (Kanayama *et al.*, 1992). De igual manera, Noguchi *et al.* (1975) determinaron el efecto combinado de diversas ácidos carboxílicos como el Na-citrato, Na-gluconato, Na-tartrato, entre otros y 5,0% de sorbitol, obteniéndose geles con alta fuerza de gel y buenos en la prueba de doblez, caracterizándose por ser elásticos, lisos y homogéneos en textura.

Kowata *et al.* (2003) estudiaron el efecto de inhibición de la desnaturalización por congelación de las proteínas miofibrilares sin el uso de polifosfatos, mediante la combinación de 5,0% de sorbitol o trehalosa y diversas sales, entre ellas el Na-citrato (0,2%) durante un periodo de almacenamiento en congelación de 1, 3 y 6 meses, encontrándose geles con grado A, B y C, respectivamente, en la prueba de doblez.

Es importante indicar que el efecto estabilizador del Na-citrato recae en sus tres grupos carboxilos, por lo cual se puede presentar como un fuerte agente supresor de la desnaturalización de la miosina en el almacenamiento congelado, pudiendo reemplazar al azúcar como agente crioprotector y haciendo posible la producción de un surimi sin el característico sabor dulce. Este efecto supresor se evidenció con la adición de 25 mM (0,645%) de Na-citrato, el cual notablemente suprimió la caída de la actividad Ca^{2+} -ATPasa y con 50 mM (1,27%) fue suficiente para mantener la mayor parte de la actividad sin cambios durante el almacenamiento congelado a -20°C por 30 días (Kuwahara y Konno, 2010). Otra sal orgánica como el Na-gluconato, aditivo alimentario que posee una estructura química análoga a la del sorbitol, también ejerció un efecto supresor sobre la desnaturalización de la proteína causado por el calentamiento y congelamiento (Ooi *et al.*, 2002).

En el Cuadro 16 y en la Figura 25 se muestran los puntajes y el grado obtenidos en la prueba de doblez de los geles hechos con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl a partir del surimi de manto de pota del lote B.

Cuadro 16. Prueba de doblez de los geles elaborados con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote B)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%)		Determinaciones ⁽¹⁾			Puntaje	Grado
		Na-citrato	NaCl	AA	A	B		
B	BS	0,25	1,5	32 (84,21)	6 (15,79)	0	4,84	AA
	B1	0,25	0,0	38 (95,00)	1 (2,50)	1 (2,5)	4,93	AA
	B2	1,27	0,0	35 (97,22)	1 (2,78)	0	4,97	AA
	B3	1,50	0,0	40 (93,02)	3 (6,98)	0	4,93	AA
	B4	2,00	0,0	39 (90,70)	4 (9,30)	0	4,91	AA

⁽¹⁾ Los valores en paréntesis denotan el porcentaje (%) de las determinaciones

Se observa que todos los geles alcanzaron un grado AA en la prueba de doblez, siendo los geles de B2 quienes obtuvieron el mayor puntaje (4,97), seguido de los geles de B1 (4,93), B3 (4,93), B4 (4,91) y BS (4,84). Se registraron para los geles de BS seis determinaciones para el grado A y los demás geles obtuvieron determinaciones entre 1 a 4 para el mismo grado. Sólo los geles de B1 alcanzaron una determinación para el grado B.

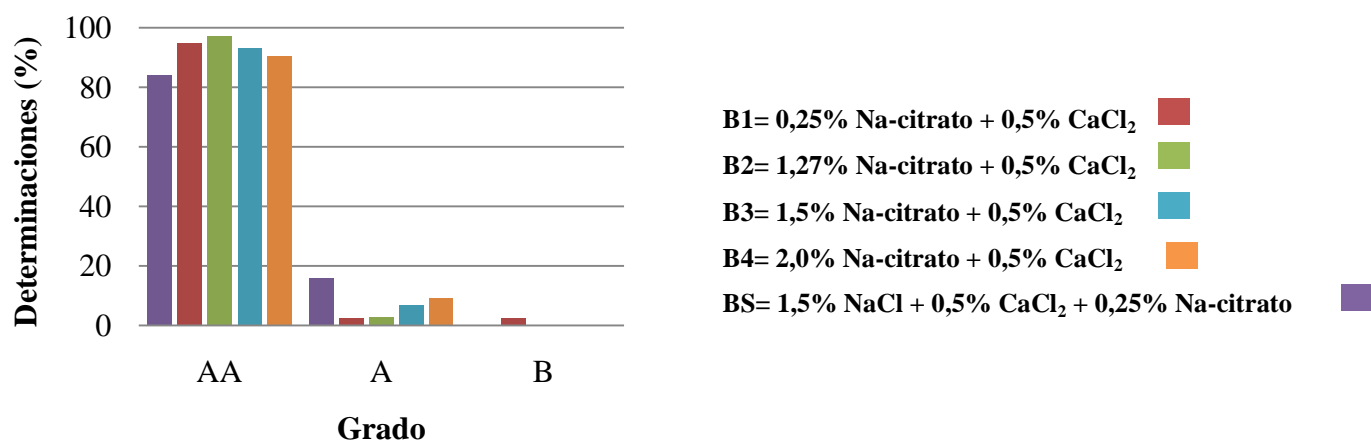


Figura25. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con diferentes cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl

Kuwahara *et al.* (2004) mostraron el efecto de las sales orgánicas, entre ellas el Na-citrato, sobre la dureza del gel de carne de calamar común japonés *Todarodes pacificus*. Se encontró que con una adición de Na-citrato entre 2,58%-6,45% (0,10 M-0,25 M), los valores de dureza del gel oscilaron entre 479 g y 508 g, respectivamente. En el presente estudio se emplearon cantidades de Na-citrato entre 0,25%-2,0% (0,01 M-0,078 M), mucho menores que las citadas anteriormente, y los geles exhibieron valores de dureza similares (entre 478,2 g y 568,2 g), incluso a las mismas condiciones de calentamiento de 90°C por 30 minutos. Maza *et al.* (2003) elaboraron geles de pota con adición de 2,7% de NaCl y 5,0% de almidón, calentados a 90°C por 20 minutos, obteniéndose valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel de 365,8 g, 6,7 mm y 243,9 g.cm, respectivamente, muy por debajo que los encontrados con la adición de Na-citrato.

Kuwahara y Osako (2003) determinaron el efecto de 10,9% (0,5 M) de Na-gluconato y 3,0% (0,5 M) de NaCl sobre la dureza del gel de calamar común japonés bajo varias condiciones de calentamiento. Los geles reticulados a 5°C y 10°C por 20 horas y aquellos reticulados a 20°C y 30°C por 2 horas, todos ellos calentados a 90°C por 30 minutos,

presentaron valores de dureza muy por debajo de aquellos obtenidos directamente a 90°C por 30 minutos. Es necesario precisar también que los geles con Na-gluconato presentaron una mayor dureza que los geles con NaCl.

Estos resultados evidencian que el proceso de gelificación en dos ciclos (reticulación o *suwari* en japonés o *setting* en inglés) no funciona con la carne de calamar o pota, probablemente esta conducta se atribuya a la alta actividad proteolítica del músculo del manto de calamar (Konno y Fukazawa, 1993; Dublán, 2001; Konno *et al.*, 2003), principalmente de las metal-proteinasas y/o serín-proteinasas, involucradas en el deterioro de los geles de carne de calamar a 35°C (Nagashima *et al.*, 1992). Por su parte, Nagashima *et al.* (1992) encontraron que el tratamiento de reticulación no favoreció ni perjudicó la obtención de geles de calamar más elásticos, incluso con la adición de inhibidores de proteasas como EDTA y PMSF. En cambio, Maza *et al.* (2003) observaron que la reticulación no ejerció ningún efecto sobre las propiedades de textura del gel de pota.

Para el presente estudio, las condiciones de temperatura y el tiempo de calentamiento (90°C por 25 minutos) podrían contribuir en las mejores propiedades de textura presentadas por los geles de pota con adición de Na-citrato. Se ha encontrado que los geles con Na-gluconato preparados mediante el cocinado a 90°C sin ningún cocinado previo, fueron considerablemente más duros (Okayama *et al.*, 2002). El Na-gluconato afecta la formación de enlaces tipo no covalente, como los enlaces hidrofóbicos entre las proteínas miofibrilares, durante el cocinado a través de la supresión de la desnaturalización térmica (Takeshita *et al.*, 2000; Okayama *et al.*, 2002; Ooizumi *et al.*, 2002; Ooi *et al.*, 2010). Esto se evidencia en la agregación de la cadena pesada de miosina, paramiosina y actina a través de interacciones hidrofóbicas durante la gelificación térmica a alta temperatura (90°C) a partir del homogeneizado de músculo de pota *Dosidicus gigas* (Gómez-Guillén *et al.*, 1998).

Entre muchos otros factores como el tipo y concentración de proteína y la temperatura de calentamiento, la fuerza iónica y el pH son factores críticos que influyen principalmente sobre las propiedades reológicas del gel final durante la gelificación inducida por el calentamiento (Alting, 2003).

La adición combinada de las diferentes cantidades de Na-citrato y 0,5% de CaCl₂, establecieron el pH y la fuerza iónica total (μ) en un rango de 7,4-7,8 y 0,2-0,6,

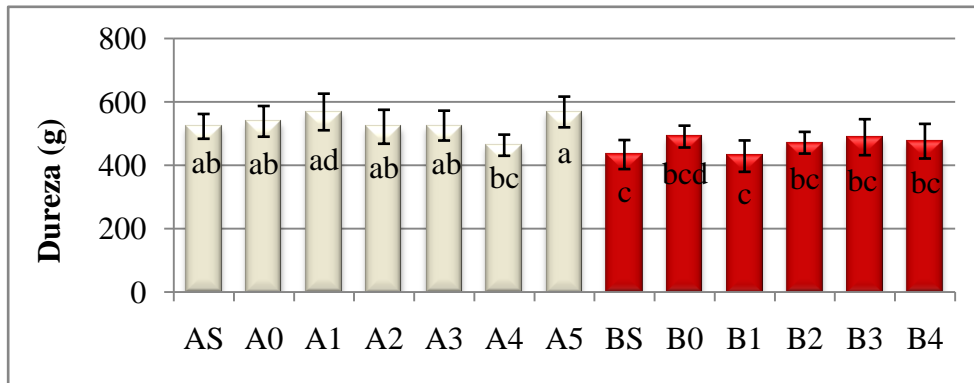
respectivamente; durante la elaboración del sol de surimi. Asimismo, la adición combinada de 1,5% de NaCl y 0,5% de CaCl₂, estableció un pH y fuerza iónica total(μ) de 7,3 y 0,4, respectivamente. A estos niveles de baja fuerza iónica ($\mu < 0,5$), la influencia que las sales ejercen sobre la estructura proteica está gobernada por interacciones de carácter electrostático con los grupos cargados y los grupos polares de la proteína que promueven una mayor solubilidad de las proteínas, efecto conocido como *salting in* (Thawornchinsombut, 2004; Carmona *et al.*, 2007). Damodaran (2010) señaló que el pH óptimo para la formación de geles es de 7,0-8,0, como ocurre en la mayor parte de las proteínas. Debido a esto, los geles formados a bajo pH son débiles y frágiles, mientras que los formados a alto pH son fuertes y elásticos (Foegeding *et al.*, 2010).

Es por ello que tanto el pH neutro como la baja fuerza iónica contribuyeron a la obtención de geles más compactos, uniformes y elásticos para Na-citrato y NaCl. Se debe acotar que los bajos contenidos de paramiosina en el músculo de los invertebrados, por lo general de 20% o más bajos, tal como dicen Sano *et al.* (1986), contribuyen a la mayor elasticidad y fuerza del gel, esto debido a la fuerte interacción de la paramiosina con las moléculas de miosina (Yoshioka *et al.*, 2005). Asimismo, Maza *et al.* (2003) comprobaron que las proteínas del tejido conectivo de pota influyen en la textura del gel haciéndolo más firme y duro.

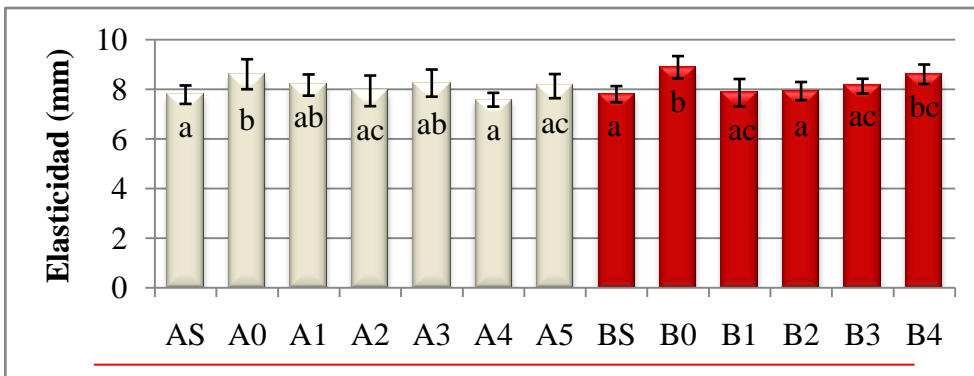
Para el presente estudio, se han empleado cantidades de Na-citrato desde 0,25% a 2,0% (0,01 M a 0,058 M) para la preparación de los geles. Estas bajas cantidades de Na-citrato permitieron la solubilización de las proteínas miofibrilares de pota, lo cual también se comprobó en el calamar común japonés *Todarodes pacificus*, con una solubilización completa de las proteínas miofibrilares alcanzada a cantidades más altas de 0,10 M y 0,25 M de Na-citrato (Kuwahara *et al.*, 2006).

Esta gran solubilidad de las proteínas miofibrilares puede explicarse por la alta fuerza iónica del Na-citrato, proveniente de su ácido trivalente y que es cinco veces mayor que la de NaCl a la misma molaridad, asumiendo una ionización completa del ión hidrógeno de los tres grupos carboxilos (Kuwahara *et al.*, 2006; Kuwahara y Konno, 2010). En el presente estudio, la fuerza iónica que alcanzó 0,05 M (1,27%) de Na-citrato correspondió aproximadamente a 0,25 M (1,5%) de NaCl.

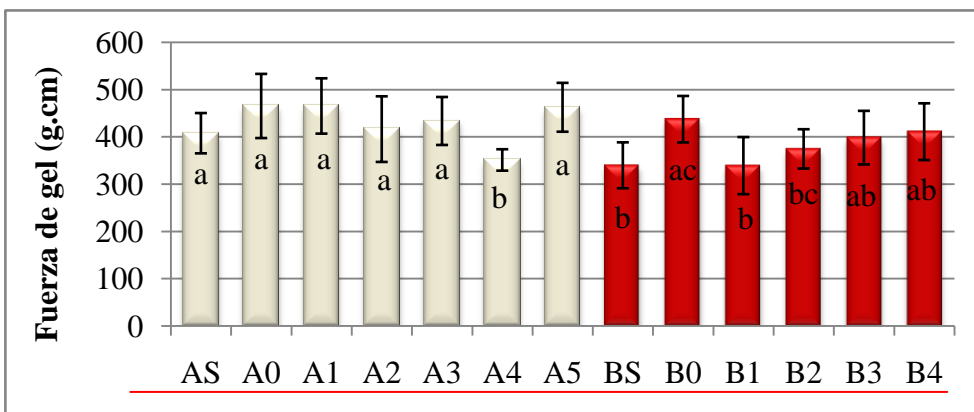
El Na-citrato posee una gran capacidad de solubilización de proteínas miofibrilares al igual que el NaCl, y además es particularmente insípido, pudiendo ser posible el reemplazo de NaCl con Na-citrato. Takeshita *et al.* (1999, 2000) indicaron que el Na-gluconato, sal orgánica monocarboxílica, solubiliza la proteína miofibrilar como el NaCl, además posee la quinta parte del sabor salado de ésta. Al igual que el Na-citrato, el Na-gluconato también podría reemplazar al NaCl (Okayama *et al.*, 2002).



a) Dureza



b) Elasticidad



c) Fuerza de gel

Figura 26. Dureza, elasticidad y fuerza de gel de los geles a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol; Lote B: 4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) con adición de Na-citrato y 1,5% de NaCl

En la Figura 26 se aprecian las propiedades de textura de los geles de surimi de manto de pota del lote A (4,0% de sorbitol) y del lote B (4,0% de sorbitol y 0,25% de Na-citrato) obtenidas con las diferentes cantidades de Na-citrato ensayadas (0,25%-2,0%) y NaCl (1,5%) en el presente estudio.

Es importante señalar que ambos lotes de surimi presentaron un contenido de humedad diferente, 74,5% para el surimi del lote A y 75,4% para el surimi del lote B. Al margen de ello, se estableció de igual modo las comparaciones de las propiedades de textura para los geles obtenidos con ambos lotes de surimi.

Los valores de dureza de los geles con 1,5% de NaCl (AS) no presentaron diferencias significativas con respecto a aquellos sólo con 0,25% de Na-citrato (A0 y B0). Además, entre estos últimos, no existieron diferencias significativas. La dureza de los geles con 1,27% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 (A3) fue significativamente mayor que con 1,5% de NaCl (BS). Incluso con 2,0% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 (A5), los geles presentaron un valor de dureza significativamente mayor con respecto a todos los geles de B, incluido el 1,5% de NaCl (BS). El valor de dureza para los geles sólo con 0,25% de Na-citrato (A0) fue significativamente mayor con respecto a los geles con 1,5% de NaCl (BS). Los geles sólo con 0,25% de Na-citrato (B0) no presentaron diferencias significativas en la dureza con respecto a todos los geles de B, incluido el 1,5% de NaCl (BS).

Los geles sólo con 0,25% de citrato (A0 y B0) exhibieron valores de elasticidad significativamente mayores que con 1,5% de NaCl (AS y BS). Además, entre estos últimos, no existen diferencias significativas. Los geles sólo con 0,25% de Na-citrato (A0 y B0) presentaron valores de elasticidad significativamente mayores con respecto a los geles de B1, B2, B3, A2, A4 y A5. Incluso con 2,0% de Na-citrato y 0,5% de CaCl_2 (B4), los geles presentaron un valor de dureza significativamente mayor que con 1,5% de NaCl (AS y BS).

Los geles con 1,5% de NaCl (BS) mostraron valores de fuerza de gel significativamente menores que aquellos sólo con 0,25% de Na-citrato (A0 y B0). Los geles con 1,5% de NaCl (AS) no presentaron diferencias significativas en la fuerza de gel con respecto a los geles sólo con 0,25% de Na-citrato (A0 y B0); inclusive, entre estos últimos, no existen diferencias significativas. Los geles con 0,25% (A2), 1,27% (A3) y 2,0% (A5) y 0,5% de CaCl₂ mostraron valores de fuerza de gel significativamente mayores que con 1,5% de NaCl (BS). Los geles sólo con 0,25% de Na-citrato (A0 y B0) no presentaron diferencias significativas en la fuerza de gel con respecto a los geles de A2, A3, A5, B2, B3 y B4.

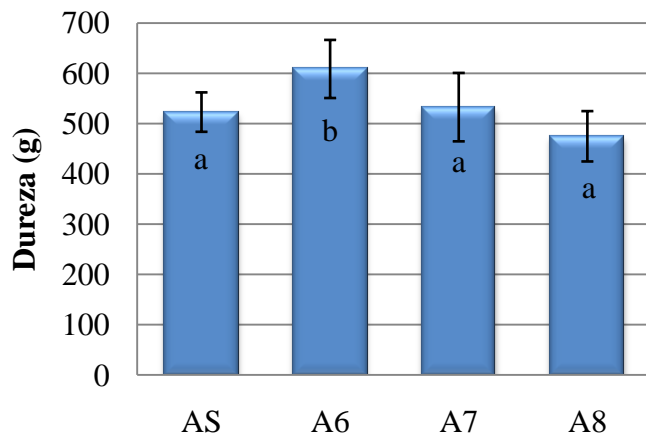
Según la clasificación de grados comerciales del surimi de Alaska pollock, la fuerza de gel entre 300-500 g.cm obtenida a partir del surimi de pota del lote A (4,0% de sorbitol) y del lote B (4,0% de sorbitol y 0,25% de citrato de sodio) se denomina de grado comercial KA/KB(350-500 g.cm) ó de segundo grado (FIS, 2011).

En el Cuadro 17 y en la Figura 27 se muestran los efectos que provocan las altas cantidades de Na-citrato (3,0% y 7,74%) y NaCl (1,5%) sobre las propiedades de textura (dureza, elasticidad y fuerza de gel) de los geles a partir de surimi de manto de pota del lote A (4,0% de sorbitol).

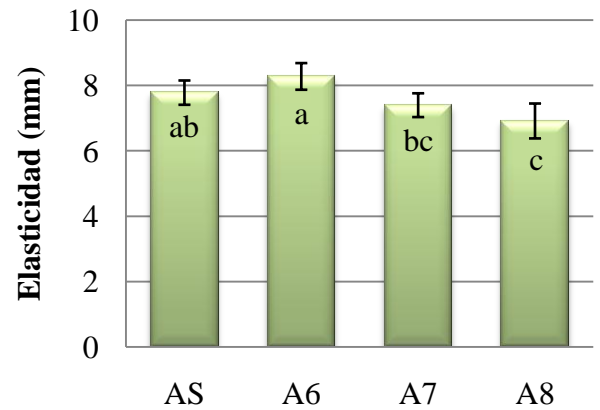
Cuadro 17. Valores de dureza (g), elasticidad (mm) y fuerza de gel (g.cm) de los geles elaborados con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

Lote de surimi	Tratamiento	Aditivos (%) por peso			Propiedades de textura ⁽¹⁾		
		Na-citrato	NaCl	CaCl ₂	Dureza (g)	Elasticidad (mm)	Fuerza de gel (g.cm)
A	AS	0,00	1,5	0,5	522,7±39 ^a	7,8±0,4 ^{ab}	407,5±43 ^a
	A6	3,00	0,0	0,5	608,5±58 ^b	8,3±0,4 ^a	505,1±67 ^b
	A7	7,74	0,0	0,5	532,6±68 ^a	7,4±0,4 ^{bc}	394,6±58 ^{ac}
	A8	7,74	0,0	0,0	474,6±50 ^a	6,9±0,5 ^c	330,2±59 ^c

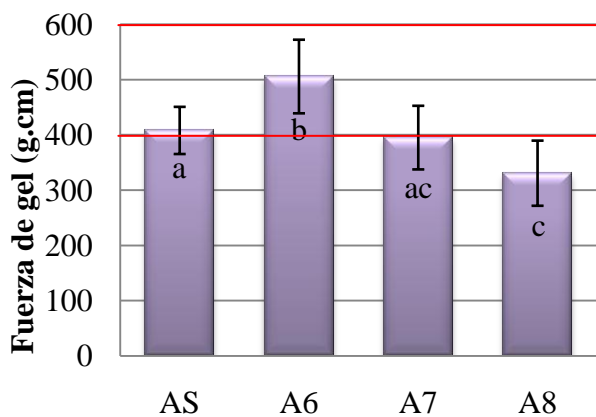
⁽¹⁾ Los valores son el promedio y desviación estándar de n=8. Las letras en la misma columna con diferente superíndice ^(a,b,c) denotan diferencias significativas (p<0,05)



a) Dureza



b) Elasticidad



c) Fuerza de gel

A6= 3,0% Na-citrato + 0,5% CaCl₂
 A7= 7,74% Na-citrato + 0,5% CaCl₂
 A8= 7,74% Na-citrato + 0% CaCl₂
 AS= 1,5% NaCl + 0,5% CaCl₂

Figura 27. Dureza, deformación y fuerza de gel de los gels a partir de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl

Se aprecia que los valores de dureza y fuerza de gel de los gels con la adición de 3,0% de Na-citrato fue significativamente mayor con respecto a la adición de 1,5% de NaCl. Kuwahara *et al.* (2006) señalaron que el Na-citrato solubilizó las miofibrillas de calamar común japonés *Todarodes japonicus* en un rango de 0,10 M (2,58%) a 0,25 M (6,45%), lo cual fue también observado con las concentraciones de 0,12 M (3,0%) y 0,3 M (7,74%) de Na-citrato presentadas en este estudio.

Sin embargo, con la adición de 7,74% de Na-citrato se vieron afectadas drásticamente todas las propiedades de textura del gel, incluso con o sin la adición de 0,5% de CaCl₂. La explicación podría estar basada en una aceleración de la autólisis como ocurre con el NaCl

debido a la disolución de los filamentos de miosina; sin embargo, no se ha encontrado tal efecto de aceleración de la autólisis pues ésta se suprimió casi totalmente con 8% (p/v) equivalente a 0,31 M de Na-citrato (Kuwahara *et al.*, 2006).

Como consecuencia de la elevada fuerza iónica total (μ) de 1,95, alcanzada por la adición combinada de 7,74% de Na-citrato y 0,5% de CaCl₂, las interacciones proteína-proteína se vieron favorecidas frente a las interacciones proteína-disolvente, por la hidratación preferencial de las sales debido a la alteración del agua que rodea a la proteína provocada por la sal, pudiendo producir la agregación de moléculas de proteínas tal como afirman Thawornchinsombut (2004) y Carmona *et al.*(2007).

La concentración de 0,3 M de Na-citrato provocaría el efecto de *salting out* o pérdida de solubilidad de las proteínas por exceso de sales o alta fuerza iónica. Se ha demostrado que todas las proteínas miofibrilares de calamar común japonés *Todarodes japonicus* alcanzaron el efecto de *salting out* a alrededor de 1 M (25,8%) de Na-citrato (Kuwahara *et al.*, 2006). Existe una tendencia de los iones citrato a disminuir la solubilidad, lo cual implicaría que el Na-citrato se convierta en un agente *salting out* (Carmona *et al.*, 2007).

En el Cuadro 18 y en la Figura 28 se muestran los puntajes y el grado obtenidos en la prueba de doblez de los geles hechos con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl a partir del surimi de manto de pota del lote A.

Cuadro 18. Prueba de doblez de los geles elaborados con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

Lote de surimi	Variable	Aditivos (%) por peso			Determinaciones ⁽¹⁾					Puntaje	Grado
		Na-citrato	NaCl	CaCl ₂	AA	A	B	C	D		
A	AS	0,00	1,5	0,5	31(83,78)	5 (13,51)	1 (2,7)	0	0	4,81	AA
	A6	3,00	0,0	0,5	38 (92,68)	3 (7,32)	0	0	0	4,93	AA
	A7	7,74	0,0	0,5	0	0	0	8 (32)	17 (68)	1,32	D
	A8	7,74	0,0	0,0	0	0	0	5 (25)	15 (75)	1,25	D

⁽¹⁾ Los valores en paréntesis denotan el porcentaje (%) de las determinaciones

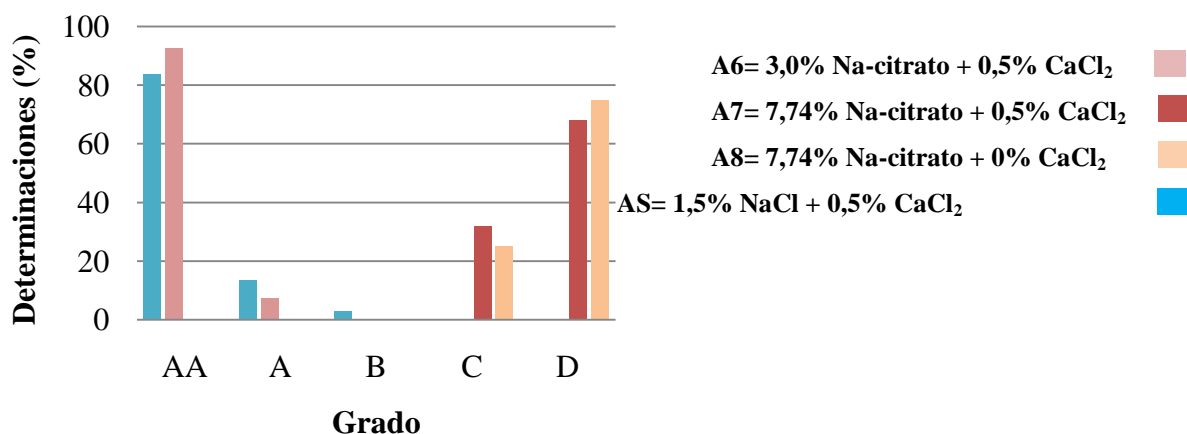


Figura 28. Determinaciones (%) y grado de los geles de surimi de manto de pota (Lote A: 4,0% de sorbitol) con altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl

Se puede apreciar que los geles A6 obtuvieron el mayor puntaje (4,93), seguido de los geles AS (4,81). Se registraron para los geles AS y A6, 5 y 3 determinaciones respectivamente, para el grado A. Sólo los geles AS alcanzaron una determinación para el grado B.

Los geles A7 presentaron un grado C y D con 8 y 17 determinaciones, respectivamente. De igual modo, los geles A8 obtuvieron un grado C y D con 5 y 15 determinaciones, respectivamente. Es preciso indicar también que ambos geles se desmoronaron cuando se realizaba la prueba de doblez, lo que demuestra el efecto del exceso de sales sobre las propiedades de textura del gel, especialmente en la elasticidad.

V. CONCLUSIONES

1. El efecto de citrato de sodio sobre la gelificación del surimi de pota se evidenció en las mejores propiedades de textura del gel como dureza (538,6 g), elasticidad (8,6 mm) y fuerza de gel (465 g.cm) alcanzadas con 0,25% de Na-citrato para las muestras del lote A. Las muestras del lote B con 0,25% de Na-citrato también presentaron buenas características de dureza (490,5 g), elasticidad (8,9 mm) y fuerza de gel (437,1 g.cm).
2. La adición de las mezclas de 0,25% de Na-citrato y CaCl₂(0,5%), 1,27% de Na-citrato y CaCl₂(0,5%), así como también la de 2,0% de Na-citrato y CaCl₂(0,5%) para las muestras

de lote A presentaron buenas características. De igual manera se encontró buenas propiedades de textura con la adición de las mezclas de 1,27% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$, 1,5% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$, así como también la de 2,0% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$ para las muestras de lote B.

3. Se observó una fuerte disminución de los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel en los geles elaborados con 0,25% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$ para las muestras del lote B y en los geles con 1,5% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$ para las muestras del lote A. Es conveniente señalar que, en ambos casos, la prueba de doblez mostró geles de grado AA.
4. Para las muestras del lote B, el incremento en la adición de Na-citrato, en presencia de una dosis única de $\text{CaCl}_2(0,5\%)$, resultó en un desmedro de la textura, la cual fue mejorando con una adición alta de Na-citrato (2,0%) (fuerza de gel de 410 g.cm); aunque mucho menor que la fuerza de gel de las muestras del lote A (mayores a 416 g.cm).
5. El aumento de Na-citrato a 3,0% y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$ en las muestras del lote A, incrementó la fuerza de gel (505 g.cm) pero a mayor cantidad como 7,74% de Na-citrato y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$ disminuyó a 394 g.cm y con sólo 7,74% de Na-citrato cayó aún más (330 g.cm).
6. Se determinó que la prueba de doblez no tiene relación directa con la fuerza de gel en la mayoría de las muestras con adición de Na-citrato hasta 3,0% y $\text{CaCl}_2(0,5\%)$.
7. Por los resultados obtenidos, se demostró que es posible reemplazar al NaCl por el Na-citrato en la elaboración de geles de pota debido a la alta fuerza de gel obtenida con las diferentes cantidades adicionadas de Na-citrato (0,25% a 2,0%).

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar la evaluación del efecto de conservación del surimi de manto de pota congelado empleando al Na-citrato como agente crioprotector durante un periodo de almacenamiento en congelación de 6 meses a 1 año.
2. Investigar acerca del posible efecto del Na-citrato durante el proceso de reticulación (*suwari* o *setting*) del surimi de manto de pota de acuerdo a los parámetros de temperatura y tiempo de reticulación adecuados.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abugoch, L.; Guarda, M.; Pérez, R. y Donghi, V. (1999). Caracterización funcional y bioquímica de la carne del manto de jibia (*Dosidicus gigas*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(4): 380-386.
2. Acton, J.; Ziegler, G. y Burge, D. (1983). Functionality of muscle constituents in the processing of comminuted meat products. CRC Critical Review in Food Science and Nutrition, 18(2): 99-121.
3. Alting, A.; Hamer, R.; De Kruif, C.; De Jongh, H.; Simons, J. y Visschers, R. (2003). Physical and chemical interactions in pH-induced aggregation and gelation of whey proteins. In Food Colloids, Biopolymers and Materials; Dickinson, E.; Van Vliet, T. (Edit.); The Royal Society of Chemistry: Cambridge, pp. 49-57.
4. Álvarez, C. (1993). Influencia de factores físico-químicos en la formación de geles elaborados con surimi de sardina (*Sardina pilchardus*). Tesis Dr. Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 149 p.
5. Asghar, A.; Samejima, K. y Yasui, T. (1985). Functionality of muscle protein in gelation mechanism of structured meat products. CRC Critical Review in Food Science y Nutrition, 22(1): 27-106.
6. Ayensa, M.; An, H.; Gómez-Guillén, M.; Montero, P. y Borderías, A. (1999). Partial protease activity characterization of squid (*Todaropsis eblanae*) mantle. Food Science and Technology International, 5(5): 391-396.
7. Badui, S. (2006). Química de los Alimentos. Ed. Pearson México D.F. 730 p.
8. Baird, A. y Van Slyke, D. (1922). The determination of three dissociation constants of citric acid. Journal of Biological Chemistry, 53(2): 269-276.
9. Baird, A.; McLean, F.; Eichelberger, L.; Lowell, J. y DaCosta, E. (1934). The ionization of calcium, magnesium, and strontium citrates. Journal of Biological Chemistry, 107(1): 351-370.
10. Belitz, H.; Grosch, W. y Schieberle, P. (2009). Aminoacids, Peptides, Proteins. Food Chemistry. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. p. 62-63.
11. Benjakul, S. y Bauer, F. (2000). Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles. Journal of the Science of Food Agriculture, 80(8): 1143-1150.
12. Benjakul, S.; Visessanguan, W. y Srivilai, C. (2001). Porcine plasma protein as proteinase inhibitor in bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) muscle and surimi. Journal of Science and Food Agriculture, 81(10): 1039-1046.
13. Bendall, J. (1951). The shortening of rabbit muscles during rigor mortis; its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and to muscular contraction. Journal of Physiology, 114 (1-2): 71-88.

14. Borderías, A. y Pérez-Mateos, M. (2005). Sucedáneos de productos pesqueros: tecnología de reestructuración. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 12(2): 61-70.
15. Branca, C.; Maagazu, S; Maisano, G.; Migliardo, P.; Villari, V. y Sokolov, A. (1999). The fragile character and structure-breaker role of alpha, alpha-trehalose: viscosity and Raman scattering findings. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 11(19): 3823–3832.
16. Calvo, E. (2001). Determinación del Índice K en muestras comerciales de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y su relación con indicadores que definen su calidad. Tesis Químico-Biólogo. Universidad de Sonora, Hermosillo. 65 p.
17. Campo-Deaño, L.; Tovar, C.; Pombo, M.; Solas, M. y Borderías, A. (2009). Rheological study of giant squid surimi (*Dosidicus gigas*) made by two methods with different cryoprotectants added. *Journal of Food Engineering*, 94(1): 26–33.
18. Campo-Deaño, L.; Tovar, C. y Borderías, A. (2010). Effect of several cryoprotectants on the physicochemical and rheological properties of suwari gels from frozen squid surimi by two methods. *Journal of Food Engineering*, 97(4): 457-464.
19. Carballo, B. y López de Torre, G. (1991). Manual de bioquímica y tecnología de la carne. Editorial Madrid Vicente. Madrid. 171 p.
20. Careche, M.; Sánchez, I. y Borderías, J. (2004). Procedimiento de elaboración de un concentrado proteico funcional a partir de músculo de cefalópodos y producto así obtenido. Patente ES 2 208 105. Revisado el 27 de Agosto del 2012. Disponible en: http://www.espatentes.com/pdf/2208105_a1.pdf
21. Careche, M.; Borderías, J. y Sánchez, I. (2006). Mejora del procedimiento de elaboración de un concentrado proteico funcional a partir de músculo de cefalópodos y producto así obtenido para ser utilizado en la elaboración de productos análogos y otros nuevos productos. Patente ES 2 231 023. Revisado el 27 de Agosto del 2012. Disponible en: http://www.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/23/10/ES-2231023_B1.pdf
22. Carrizoza, R. (2000). Determinación de los niveles de bases volátiles totales y amonio de muestras comerciales de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), fresco y cocido y su relación con el sabor ácido-amargo. Tesis Químico Biólogo, Universidad de Sonora, Hermosillo. 67 p.
23. Carmona, J.; Cordobés, F.; Guerrero, A.; Martínez, I. y Partal, P. (2007). Influencia del pH y de la fuerza iónica sobre la gelificación térmica de proteínas de la yema de huevo. *Grasas y aceites*, 58(3): 289-296.
24. Carvajal, P.; Lanier, T. y MacDonald, G. (2005). Stabilization of proteins in surimi. En: *Surimi and Surimi Seafood*. Park, J. (Ed.). Taylor and Francis Group. USA. p. 176-184.
25. Cortés-Ruiz, J.; Pacheco-Aguilar, R.; Lugo-Sánchez, M.; Carvallo-Ruiz, M. y García-Sánchez, G. (2008). Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation. *Food Chemistry*, 110(2): 486–492.

26. Chang, C. y Regenstein, J. (1997). Water uptake, protein solubility, and protein changes of cod mince stored on ice as affected by polyphosphates. *Journal of Food Science*, 62(2): 305–309.
27. Chen, H. y Huang, Y. (2008). Rheological properties of HPMC enhanced surimi analyzed by small- and large-strain tests—II: effect of water content and ingredients. *Food Hydrocolloids*, 22(2): 313–322.
28. Chen, H. y Xue, C. (2010). Effects of Washing Media and Thermal Treatment on Gel Properties of Painted Lizardfish (*Trachinocephalus myops*) Surimi. *Food Science*, 31(3): 11-18.
29. Choi, Y.; Kang, I. y Lanier, T. (2005). Proteolytic enzymes and control in surimi. En: *Surimi and surimi seafood*. Park, J. (Ed.). Taylor y Francis Group. USA. p. 227–277.
30. Chung, K. y Lee, C. (1991). Water binding and ingredient dispersion pattern effects on surimi gel texture. *Journal of Food Science*, 56(5): 1263-1266.
31. Damodaran, S. (2010). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En: *Química de los alimentos*. Damodaran, S., Parkin, K. y Fennema, O. (Ed.). Edit. Acribia S.A. Zaragoza. p. 466-469.
32. De la Fuente-Betancourt, G.; García-Carreño, F.; Navarrete del Toro, M.; Pacheco-Aguilar, R. y Córdova-Murueta, J. (2008). Effect of storage at 0°C on mantle proteins and functional properties of jumbo squid. *International Journal of Food Science y Technology*, 43(7): 1263-1270.
33. Ding, Y.; Liu, Y.; Yang, H.; Liu, R.; Rong, J.; Zhao, S. y Xiong, S. (2011). Effects of CaCl₂ on chemical interactions and gel properties of surimi gels from two species of carps. *European Food Research and Technology*, 233(4): 569-576.
34. Dublán, O. (2001). Evaluación de la actividad proteolítica del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Tesis Maestro en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. 145 p.
35. Ebina, H.; Nagashima, Y.; Ishizaki, S. y Taguchi, T. (1995). Myosin heavy chain-degrading proteinase from spear squid muscle. *Food Research International*, 28(1): 31-36.
36. Ehrhardt, N.; Solís, N.; Jacquemin, J.; Ortiz, C.; Ulloa R.; González, D. y García, B. (1986). Análisis de la Biología y Condiciones del Stock del Calamar Gigante *Dosidicus gigas* en el Golfo de California, México, durante 1980. *Ciencia Pesquera*, 5: 63-76.
37. Erickson, M. (2000). Chemical treatments to control enzymes in fishery products. En: *Seafood Enzymes: Utilization and influence on postharvest seafood quality*. Haard, N. y Simpson, B. (Ed.). Edit. Marcel Dekker. Nueva York, USA. p. 489-503.
38. FAO (1986). *Food and Nutrition Paper* pp. 205 T14/7.
39. FDA (American Food and Drug Administration). (2010). Listing of Food Additive Status. Revisado el 04 de Diciembre del 2011. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/FoodAdditives/ucm191033.htm>

40. FIS (2011). Especificación física y química del gel de surimi comercial. Revisado el 28 de Diciembre del 2012. Disponible en:
<http://www.fis.com>
41. Foegeding, E.; Lanier, T. y Hultin, H. (2010). Características de los tejidos musculares comestibles. En: Química de los alimentos. Damodaran, S., Parkin, K.L. y Fennema, O.R. (Ed.). Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España. p. 1053-1059.
42. Francis, B.; Seebart, C. y Kaiser, I. (1992). Citrate is an endogenous inhibitor of snake venom enzymes by metal ion chelation. *Toxicon*, 30(10):1239–1246.
43. Gómez-Guillén, M.; Borderías, J. y Montero, P. (1997). Salt, non muscle proteins and hydrocolloids affecting rigidity changes during gelation of giant squid (*Dosidicus gigas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3): 616–621.
44. Gómez-Guillén, M.; Montero, P.; Solas, M. y Borderías, A. (1998). Thermally induced aggregation of giant squid (*Dosidicus gigas*) mantle proteins. Physicochemical contribution of added ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3440–3446.
45. Hickson, D.; Dill, C.; Morgan, R.; Sweat, V.; Suter, V. y Carpenter, Z. (1982). Rheological properties of two heat-induced protein gels. *Journal of Food Science*, 47(3): 783-785.
46. Horie, N.; Tsuchiya, T. y Matsumoto, J. (1975). Studies on ATPase activity of actomyosin of squid mantle muscle. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 41(10): 1039-1045.
47. Hultin, H. y Kelleher, S. (1999). Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition. Patent US6005073. Revisado el 27 de Agosto del 2012. Disponible en:
<http://www.freepatentsonline.com/6005073.pdf>
48. Ibarra, L. (2006). Efectos sobre la calidad y funcionalidad del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) sometido al almacenamiento en hielo. Tesis Ingeniero Bioquímico. Instituto Tecnológico de Tepic. Nayarit. 67 p.
49. Iguchi, M. y Tsuchiya, T. (1981). Studies on the freeze denaturation of squid actomyosin. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47(11): 1499-1506.
50. Iida, H.; Nakamura, K. y Tokunaga, T. (1992). Non-protein nitrogenous compounds in muscle extract of oceanic cephalopods. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58(12): 2383-2390.
51. IMARPE-ITP. (1996). Compendio biológico tecnológico de las principales especies hidrobiológicas comerciales del Perú. 143 p.
52. ITP (2004). Manual del laboratorio físico-químico LABS-ITP.

53. Kanayama, T.; Nakashima, T.; Tomiyasu, K. y Matsuda, T. (1992). Production of frozen surimi. United States Patent Application Publication US005137746A. Revisado el 20 de Agosto del 2012. Disponible en: <http://www.google.com.pe/patents/US5137746>
54. Konno, K. (1991). Thermal denaturation of squid myofibrils: effects of calcium ion and EDTA. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(11): 2145-2149.
55. Konno, K. y Fukazawa, C. (1993). Autolysis of squid muscle protein as affected by storage conditions and inhibitors. *Journal of Food Science*, 58(6): 1198-1202.
56. Konno, K.; Young-ie, C.; Yoshioka, T.; Shinho, P. y Seki, N. (2003). Thermal denaturation and autolysis profiles of myofibrillar proteins of mantle muscle of jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *Fisheries Science*, 69(1): 204–209.
57. Kowata, T.; Sato, M.; Shimomura, T. y Yamashita, M. (2003). Inhibitory agent for protein denaturation kneaded meat with suppressed freezing-denaturation, process thereof, and process of fish and meat paste products. United States Patent Application Publication US006641853B1. Revisado el 20 de Agosto del 2012. Disponible en: <http://www.google.com.pe/patents/US6641853>
58. Kugino, M. y Kugino, K. (1994). Microstructural and rheological properties of cooked squid mantle. *Journal of Food Science*, 59(4): 792-796.
59. Kuwahara, K. y Osako, K. (2003). Effect of sodium gluconate on gel formation of Japanese common squid mantle muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 69(4): 637-642.
60. Kuwahara, K.; Osako, K. y Konno, K. (2004). Improved gel formation of japanese common squid muscle as a result of suppression of autolysis by some organic salt. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 70(6): 922–927.
61. Kuwahara, K.; Osako, K.; Okamoto, A. y Konno, K. (2006). Solubilization of myofibrils and inhibition of autolysis of squid mantle muscle by sodium citrate. *Journal of Food Science*, 71(6): 358-362.
62. Kuwahara, K. y Konno, K. (2010). Suppression of thermal denaturation of myosin and salt-induced denaturation of actin by sodium citrate in carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry* 122(4): 997-1002.
63. Lanier, T.; Carvajal, P. y Yongsawatdigul, J. (2005). Surimi Gelation Chemistry. En: *Surimi and surimi seafood*. Park, J. (Ed.). Taylor y Francis Group. USA. p. 437-477.
64. Lan, Y.; Novakofski, J.; Mccusker, R.; Brewer, M.; Carr, T. y Mckeith, F. (1995). Thermal gelation properties of protein fractions from pork and chicken breast muscle. *Journal of Food Science*, 60(4): 742-747.
65. Lee, N. y Park, J. (1998). Calcium compounds to improve gel functionality of Pacific whiting and Alaska pollock surimi. *Journal of Food Science*, 63(6): 969–974.

66. Li-Chan, E.; Nakai, S. y Wood, D. (1985). Relationship between functional (fat heating, emulsifying) and physicochemical properties of muscle proteins. Effects of heating, freezing, pH and species. *Journal of Food Science*, 50(4): 1034-1038.
67. Llorca, E. (2003). Modificaciones químicas y microestructurales en la elaboración de calamares rebozados congelados. Tesis Doctoral en Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. 233 p.
68. Markaida, U. (2001). Biología del calamar gigante *Dosidicus gigas* Orbigny, 1835 (*Cephalopoda: Ommastrephidae*) en el Golfo de California, México. Tesis Doctoral. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California. p. 387.
69. Matsumoto, J. y Noguchi, S. (1992). Cryostabilization of protein in surimi. En: *Surimi technology*. Lanier, T. y Lee, C. (Ed.). Marcel Dekker. New York. p. 357-388.
70. Maza, S. (2002). Información de pota: Aspectos tecnológicos. Instituto Tecnológico Pesquero. Lima. p. 1-8.
71. Maza, S.; Rosales, M. y Castro, R. (2003). Efecto de un proceso de lixiviación ácida salina sobre la calidad del surimi de *Dosidicus gigas* "pota". *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, Vol.5: 81-88.
72. Maza, S. y Rosales, M. (2004). Procesamiento de surimi de pota *Dosidicus gigas* por solubilización ácida-alcalina y precipitación isoeléctrica. *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, Vol.6: 1-7.
73. Maza, S. (2005). Nuevas alternativas de alimentos congelados a partir de pota (*Dosidicus gigas*). Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Lima.
74. Maza, S.; Solari, A. y Albrecht, M. (2007-2008). Reducción de la intensidad del sabor ácido amargo de la pota mediante lavados con soluciones ácidas y neutralizantes. *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, Vol.8: 23-29.
75. Morrissey, P.; Mulvihill, D. y O'Neil, E. (1986). Functional properties of muscle proteins. En *Developments in Food Proteins Vol.5*. Hudson, B. (Ed.). Elsevier Applied Science, London. p. 195-256.
76. Nagashima, Y.; Ebina, H.; Nagai, T.; Tanaka, M. y Taguchi, T. (1992). Proteolysis affects thermal gelation of squid mantle muscle. *Journal of Food Science*, 57 (4): 916-917/922.
77. Nigmatullin, Ch.; Nesis, K. y Arkhipkin, A. (2001). A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (*Cephalopoda: Ommastrephidae*). *Fisheries Research*, 54: 9-19.
78. Niwa, E., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1986). Setting and sort of ion. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52(12): 2121-2125.
79. Niwa, E. (1992). Chemistry of surimi gelation. En: *Surimi technology*. Lanier, T. y Lee, C. (Ed.). Marcel Dekker Inc., Nueva York. p. 389-420.

80. Noguchi, S. y Matsumoto, J. (1975). Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage- IV. Preventive effect of the carboxylic acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 41(3): 329-335.
81. Noguchi, S.; Shinoda, E. y Matsumoto, J. (1975). Studies on the control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage V. Technological application of cryoprotective substances on the frozen minced fish meat. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 41(7): 779-786.
82. Noguchi, S. y Matsumoto, J. (1978). Modification of thermal and non-thermal gelation of carp actomyosin by additive compounds. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44(3): 273-278.
83. Ochiai, Y. y Chow, C. (2000). Myosin ATPase. En: *Seafood Enzymes: utilization and influence on postharvest seafood quality*. Haard, N. y Simpson, B. (Ed.). Edit. Marcel Dekker. Nueva York, USA. p. 69-89.
84. Odell, G.; Ferry, P.; Vick, L.; Fenton, A.; Decker, L.; Cowell, R.; Ownby, C. y Gutiérrez, J. (1998). Citrate inhibition of snake venom proteases. *Toxicon* 36(12):1801–1806.
85. Ohno, T.; Kinoshita, Y. y Konno, K. (2011). Stabilizing effect of Ca^{2+} on myosin and myofibrils of squid mantle muscle as affected by heating conditions. *Fisheries Science*, 77(3):425-430.
86. Okada, M. (1964). Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 30(3): 255–261.
87. Okamoto, Y.; Fuchino, O.; Horiuchi, S.; Tamaya, T.; Matsumoto, J. y Tsuchiya, T. (1993). Purification and characterization of two metalloproteinases from squid mantle muscle, myosinase I and myosinase II. *Biochem. Biophys. Acta*.1161: 97-104.
88. Okamura, K. y Niitsu, Y. (1961). Effects of sodium citrate, di-ammonium citrate and potassium sodium tartrate. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 27(8): 742-747.
89. Okayama, T.; Ooizumi, T.; Takeshita, M.; Akahane, Y.; Abe, Y.; Kitakami, S.; Wada, T. y Shirai, J. (2002). Effect of Na-gluconate on the physical properties of preheated and two-step heated gel prepared from walleye pollack surimi. *Fisheries Science*, 68(1): 197-203.
90. Ooi, A.; Sakurai, Y.; Tamura, Y.; Yano, F.; Okagaki, T. y Shirai, J. (2002). Effect of gluconate salt on mechanical and structural properties of heat-induced myosin gel. *Fisheries Science*, 68(Suppl.): 1665-1666.
91. Ooi, A.; Tamura, Y. y Okagaki, T. (2010). Effect of gluconate on heat-induced gelation of myosin from red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 76(6): 1066-1072.
92. Ooizumi, T.; Nara, Y. y Arai, K. (1984). Protective effect of carboxylic acids, sorbitol and Na-glutamate on heat denaturation of chub mackerel myofibrils. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50(5): 875-882.

93. Ooizumi, T.; Okayama, T. y Akahane, Y. (2002). Effect of Na-gluconate on heat-induced gelation of salt-ground meat from walleye pollack. *Fisheries Science*, 68(2): 1537-1540.
94. Osako, K.; Hossain, M.; Kuwahara, K. y Nozaki, Y. (2005). Effect of trehalose on the gel-forming ability, state of water and myofibril denaturation of horse mackerel *Trachurus japonicus* surimi during frozen storage. *Fisheries Science*, 71(2): 367-373.
95. Otwell, W. y Giddings, G. (1980). Scanning electron microscopy of squid, raw, cooked and frozen mantle. *Mar. Fish. Rev.* 42(7-8): 67-73.
96. Park, J. (1994). Functional protein additives in surimi gel. *Journal of Food Science*, 59(3): 525-527.
97. Park, J. y Lin, T. (2005). Surimi: manufacturing and evaluation. En: *Surimi and surimi seafood*. Park, J.W. (Ed.). Taylor y Francis Group. USA. p. 35-47.
98. Pedreschi, F. (1993). Determinación de la composición proteica del músculo del manto de pota *Dosidicus gigas*. Tesis Ing. Pesquero, UNALM, Lima. 81 p.
99. PRODUCE-Viceministerio de Pesquería, (2012). Desembarque de recursos hidrobiológicos marítimos por tipo de utilización según especie. Revisado el 13 de Marzo del 2012. Disponible en: <http://www.produce.gob.pe/portal/portal/apsportalproduce/internapesqueria?ARE=3yJER=443>
100. PROMPERU, (2011). Desenvolvimiento del comercio exterior pesquero. Informe Anual 2010". Revisado el 27 de Agosto del 2012. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/sectoresproductivos/283857330rad5545C.pdf>
101. PROMPERU, (2012). Desenvolvimiento del comercio exterior pesquero. Informe Anual 2011. Revisado el 27 de Agosto del 2012. Disponible en: <http://media.peru.info/siicex/resources/sectoresproductivos/DESENVOLVIMIENTO%20DE%20COMERCIO%20EXTERIOR%20PESQUERO%202011%20SIICEX.pdf>
102. Rasco, B. y Bledsoe, G. (2006). Surimi and Surimi Analog Products. En: *Handbook of Food Science Vol. 4. Technology and Engineering*. Hui, Y. (Ed.). CRC Taylor y Francis Group. USA. p. 160-1:167-7.
103. Rocha-Estrada, J.; Córdova-Murueta, J. y García-Carreño, F. (2010). Functional properties of protein from frozen mantle and fin of jumbo squid *Dosidicus gigas* in function of pH and ionic strength. *Food Science and Technology International*, 16(5): 451-458.
104. Rosas, Z. (2007). Caracterización parcial de sólidos solubles presentes en el agua de cocción del musculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Tesis Ingeniero Bioquímico. Instituto Tecnológico de los Mochis. 71 p.
105. Samejima, K.; Ishioroshi, M. y Yasui, T. (1981). Relative roles of the head and tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *Journal of Food Science*, 46(5): 1412-1418.

106. Samejima, K.; Ishioroshi, M. y Yasui, T. (1982). Heat induced gelling properties of actomyosin: Effect of tropomyosin and troponin. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(2): 535-540.
107. Sánchez-Alonso, I.; Careche, M. y Borderías, A. (2007). Method for producing a functional protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Food Chemistry*, 100(1): 48–54.
108. Sánchez-Brámbila, G. (2002). Caracterización del sabor desagradable en el músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) del Golfo de California. Tesis Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. 121 p.
109. Sano, T.; Noguchi, S.; Tsuchiya, T. y Matsumoto, J. (1986). A new method to evaluate gel properties of fish meat gel products. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52(1): 109-114.
110. Sikorski Z. y Kolodziejska, I. (1986). The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*, 20(3): 213–224.
111. Shimizu Y.; Simidu, W. y Ikeuchi, T. (1954). Studies on jelly strength of kamaboko. III. Influence of pH on jelly strength. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 20(3): 209–212.
112. Smyth, A.; Smith, D. y O'Neill, E. (1998). Disulfide bonds influence the heat induced gel properties of chicken breast muscle myosin. *Journal of Food Science*, 63(4): 584-587.
113. Sompongse, E.; Itoh, Y. y Obataka, A. (1996). Effect of cryoprotectants and a reducing reagent on the stability of actomyosin during ice storage. *Fisheries Science*, 62(1): 73-79.
114. Sultanbawa, Y. y Li-Chan, E. (2001). Structural changes in natural actomyosin and surimi from ling cod (*Ophiodon elongatus*) during frozen storage in the absence or presence of cryoprotectants. *Journal of Agricultural y Food Chemistry*, 49(10): 4716–4725.
115. Tang, J.; Tung, M. y Zeng, Y. (1995). Mechanical properties of gellan gels in relation to divalent cations. *Journal of Food Science*, 60(4): 748-752.
116. Tanikawa, E.; Motohiro, T. y Akiba, M. (1985). *Marine products in Japan* (Revised ed.). Tokyo: Koseisha Koseikaku Co. Ltd.
117. Takeshita, M.; Ooizumi, T.; Akahane, Y. y Takenawa, S. (1999). Effects of sodium gluconate on thermal denaturation and solubilization of carp myofibrils. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 65(5): 886–891.
118. Takeshita, M.; Ooizumi, T.; Akahane, Y.; Abe, Y.; Kitakami, S.; Murakami, Y. y Takenawa, S. (2000). Effect of Na-gluconate on characteristics of two-step heated gel from walleye pollack surimi. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 66(2): 291–297.
119. Tian Y.; Umezawa, E.; Duan, R. y Konno, K. (2010). Three types of proteinases in Japanese common squid *Todarodes pacificus* hepatopancreas as studied by using carp myofibrils as substrate. *Fisheries Science*, 76(2): 365-373.

120. Thawornchinsombut, S. (2004). Biochemical and Gelation Properties of Fish Protein Isolate Prepared under Various pH and Ionic Strength Conditions. Tesis Doctoral en Ciencia de Alimentos y Tecnología. Universidad Estatal de Oregon. 158 p.
121. Totosaus, A. (1996). Funcionalidad de extractos proteicos musculares de cabra y res. Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento. Tesis Maestro en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa. 109 p.
122. Totosaus, A. (2004). Frozen meats: packaging and quality control. En: Handbook of Frozen Foods. Hui, Y.; Cornillon, P.; Guerrero-Legaretta, I.; Lim, M.; Murrell, K. y Nip, W. (Edit.). Marcel Dekker, Nueva York. p. 227-237.
123. Tsuchiya, T; Suzuki, H. y Matsumoto, J. (1977). Physicochemical and biochemical properties of squid actin. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 43(10): 1233-1240.
124. VanPutte, C.; Regan, J. y Russo, A. (2010). Muscular System. Seeley's Essentials of Anatomy y Physiology 7th Edition. Online Learning Center. Revisado el 08 de Marzo del 2012. Disponible en: http://highered.mcgrawhill.com/sites/0073525634/student_view0/chapter7/animation_breakdown_of_atp_and_crossbridge_movement_during_muscle_contraction.html
125. Visessanguan, W. y An, H. (2000). Effects of proteolysis and mechanism of gel weakening in heat-induced gelation of fish myosin. Journal of Agricultural y Food Chemistry, 48(4): 1024-1032.
126. Von Thun, S. (2011). Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI). En Tree of Life Web Project, (2009). *Dosidicus* Steenstrup 1857, *Dosidicus gigas* (Orbigny1835).Jumbo squid. Young, R. y Vecchione, M. Revisado el 13 de Marzo del 2012. Disponible en: <http://tolweb.org/Dosidicus/19945>
127. Xiong, Y.; Decker, E.; Robe, G. y Moody, W. (1993). Gelation of crude myofibrillar protein isolated from beef heart under antioxidative conditions. Journal of Food Science, 58(6): 1241-1244.
128. Xiong, Y. (1997). Structure-functionality relationships of muscle proteins. En: Food Proteins and Their Applications. Damoradan, S. y Paraf, A. (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York. p. 341-392.
129. Xiong, Y. (2004). Muscle proteins. En: Proteins in food processing. Yada, R. (Ed.). Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. p. 100-122.
130. Yamanaka, H.; Matsumoto, M.; Hatae, K. y Nakaya, H. (1995). Studies of components of off-flavors in the muscle of American Jumbo squid. Nippon Suisan Gakkaishi, 61(4): 612-618.
131. Yasui, T.; Ishioroshi, M. y Samejima, K. (1982). Effect of actomyosin on heat-induced gelation of myosin. Agricultural and Biological Chemistry, 46(4): 1049-1059.

132. Yoshioka, T.; Kinoshita, Y.; Kato, S.; Cho, Y. y Konno, K. (2005). Preparation of heavy meromyosin from the autolyzed squid mantle muscle homogenate. *Fisheries Science*, 71(1): 213-219.
133. Zayas, J. (1997). *Functionality of Proteins in Foods*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. New York. p. 310-358.
134. Ziegler, G. y Acton, J. (1984). Mechanisms of gel by protein of muscle tissue. *Food Technology*, 38(5): 77-82.
135. Ziegler, G. y Foegeding, E. (1990). The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*, 34: 203-298.
136. Zhou, A.; Benjakul, S.; Pan, K.; Gong, J. y Liu, X. (2006). Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia (*Sarotherodon nilotica*) surimi during frozen storage. *Food Chemistry* 96(1): 96–103.

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

Valores de contenido de humedad (%) y pH de los soles elaborados con adición de Na-citrato y CaCl₂ a partir de surimi de manto de pota congelado (-25°C)

Lote	Aditivos (%)		Sol ⁽¹⁾	
	Na-citrato	CaCl ₂	Humedad (%)	pH
A	0,25	0,0	73,8±0,0	6,9±0,00
	0,00	0,5	74,5±0,3	7,5±0,00
	0,25	0,5	74,0±0,1	7,4±0,07
	1,27	0,5	74,1±0,3	7,8±0,08
B	0,00	0,0	75,7±0,0	6,9±0,00
	0,00	0,5	75,7±0,3	7,4±0,02
	1,27	0,5	75,3±0,2	7,6±0,08

⁽¹⁾ El

contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 02

Contenido de humedad (%) y pH de los soles de surimi elaborados con adición de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

Aditivos (%)		Sol ⁽¹⁾	
Na-citrato	NaCl	Humedad (%)	pH
0,00	1,5	73,6±0,2	7,3±0,00
3,00	0,0	72,1±0,0	8,1±0,00
7,74	0,0	69,5±0,1	8,3±0,00
7,74 ^(*)	0,0	70,6±0,3	8,0±0,00

Aditivos (%)		Sol ⁽¹⁾	
Na-citrato	NaCl	Humedad (%)	pH
0,00	1,5	73,6±0,2	7,3±0,00
0,25	0,0	74,0±0,1	7,4±0,07
1,27	0,0	74,1±0,3	7,8±0,08
1,50	0,0	73,3±0,2	7,5±0,01
2,00	0,0	73,5±0,1	7,8±0,00

⁽¹⁾ El contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 03

Contenido de humedad (%) y pH de los soles de surimi elaborados con adición de altas cantidades de Na-citrato y 1,5% de NaCl (Lote A)

* Sin adición de 0,5% de CaCl₂

⁽¹⁾ El contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 04

Contenido de humedad (%) y pH de los geles de surimi elaborados con adición de diferentes cantidades de Na-citrato (Lote A)

Aditivos (%)		Gel ⁽¹⁾	
Na-citrato	NaCl	Humedad (%)	pH
0,00	1,5	70,2±0,2	7,1±0,00
0,25	0,0	71,9±0,1	7,1±0,00
1,27	0,0	71,1±0,0	7,3±0,01
1,50	0,0	70,3±0,1	7,3±0,01
2,00	0,0	70,5±0,0	7,5±0,00
3,00	0,0	71,2±0,0	7,5±0,01
7,74	0,0	67,3±0,0	8,2±0,00
7,74*	0,0	67,2±0,1	8,3±0,00

* Sin adición de 0,5% de CaCl₂

⁽¹⁾ El contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 05

Contenido de humedad (%) y pH de los soles de surimi elaborados con adición de Na-citrato y NaCl (Lote B)

Aditivos (%)		Sol ⁽¹⁾	
Na-citrato	NaCl	Humedad (%)	pH
0,00	1,5	74,4±0,3	7,1±0,02
0,25	0,0	75,7±0,3	7,4±0,02
1,27	0,0	75,3±0,2	7,6±0,08
1,50	0,0	75,0±0,3	7,6±0,00
2,00	0,0	74,7±0,3	7,8±0,00

⁽¹⁾ El contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 06

Contenido de humedad (%) y pH de los geles de surimi elaborados con adición de diferentes cantidades de Na-citrato y NaCl (Lote B)

Aditivos (%)		Gel ⁽¹⁾	
Na-citrato	NaCl	Humedad (%)	pH
0,00	1,5	72,0±0,3	6,8±0,00
0,25	0,0	72,7±0,3	6,9±0,04
1,27	0,0	72,4±0,2	7,1±0,00
1,50	0,0	72,7±0,3	7,1±0,00
2,00	0,0	72,3±0,2	7,2±0,00

⁽¹⁾ El contenido de humedad (%) y pH se obtuvo del promedio de 2 determinaciones.

ANEXO 07

Luminosidad (L*) e Índice de blancura (IB) de surimi de manto de pota congelado (-25°C) y gel cocinado a 90°C por 30 minutos (Lote B)

	Luminosidad (L*)	Índice de blancura (IB)
Surimi	75,28±0,27	74,68±0,07
Gel	82,96±0,21	80,85±0,27

ANEXO 08

Tabla ANOVA para Dureza según Concentración (Na-citrato y CaCl₂) Surimi lote A: 4% sorbitol

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	11590.79	3	3863.59	1.44	0.249
Intra grupos	85677.25	32	2677.41		
Total (Corr.)	97268.04	35			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Dureza en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 1.44, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las durezas medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: no existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen durezas diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Dureza según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración Frec. Media Grupos homogéneos

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A0	8	538.60	a
A1	8	568.20	a
A2	10	521.56	a
A3	10	525.16	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A0 – A1	- 29.60	70.07
A0 – A2	17.04	66.47
A0 – A3	46.64	66.47
A1 – A2	46.64	66.47
A1 – A3	43.04	66.47
A2 – A3	-3.60	62.67

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración A0 (0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato y CaCl₂.

ANEXO 09

**Tabla ANOVA para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2.02	3	0.67	2.16	0.11
Intra grupos	9.98	32	0.31		
Total (Corr.)	12.01	35			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Elasticidad en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 2.16, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las elasticidades medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: no existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen elasticidades diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A0	8	8.61	a
A1	8	8.17	a
A2	10	7.94	a
A3	10	8.25	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A0 – A1	0.44	0.76
A0 – A2	0.67	0.72
A0 – A3	0.23	0.72
A1 – A2	0.23	0.72
A1 – A3	- 0.08	0.72
A2 – A3	- 0.31	0.68

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración A0 (0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato y CaCl₂.

ANEXO 10

**Tabla ANOVA para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	15932.74	3	5310.91	1.39	0.14
Intra grupos	122684.96	32	3833.91		
Total (Corr.)	138617.70	35			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 1.39, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las fuerzas de gel medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: no existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen fuerzas de gel diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
A0	8	465.04	a
A1	8	465.09	a
A2	10	416.13	a
A3	10	433.37	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A0 – A1	- 0.05	83.84
A0 – A2	48.91	79.54
A0 – A3	48.96	79.54
A1 – A2	48.96	79.54

A1 – A3	31.71	79.54
A2 – A3	- 17.25	74.99

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración A0 (0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato y CaCl₂.

ANEXO 11

**Tabla ANOVA para Dureza según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	13335.67	2	6667.84	4.49	0.024
Intra grupos	31161.33	21	1483.87		
Total (Corr.)	44496.99	23			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Dureza en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 4.49, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las durezas medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen durezas diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Dureza según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
---------------	-------	-------	-------------------

B0	8	490.53	a
B1	6	428.83	b
B2	10	471.10	ab

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B0 – B1	*61.69	52.37
B0 – B2	19.43	46.00

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B0 (0.25% Na-citrato) es diferente (es significativa) con respecto a la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato), mientras que con la concentración B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato) es similar (no es significativa).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B1 – B2	- 42.27	50.07

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato).

ANEXO 12

**Tabla ANOVA para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	5.19	2	2.59	13.07	0.00021
Intra grupos	4.17	21	0.19		
Total (Corr.)	9.36	23			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Elasticidad en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 13.07, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las elasticidades medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen elasticidades diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B0	8	8.89	a
B1	6	7.86	b
B2	10	7.93	b

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B0 – B1	*1.03	0.61
B0 – B2	*0.96	0.53

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración B0 (0.25% Na-citrato) es diferente (es significativa) con respecto a la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato) y B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B1 – B2	- 0.06	0.58

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato).

ANEXO 13

**Tabla ANOVA para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	35550.89	2	17775.45	7.36	0.0038
Intra grupos	50710.36	21	2414.78		
Total (Corr.)	86261.25	23			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 7.36, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las fuerzas de gel medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y CaCl₂ se obtienen durezas diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Fuerzas de gel según Concentración (Na-citrato y CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
T	8	437.11	a
B1	6	338.94	b
B2	10	374.30	b

Contraste	Diferencias	+/- Límites
T - B1	*98.17	66.81
T - B2	*62.80	58.68

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración (T) control (0.25% Na-citrato) es diferente (es significativa) con respecto a la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato) y B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B1 - B2	- 35.37	63.88

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración B1 (0.5% CaCl₂ y 0.25% Na-citrato) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B2 (0.5% CaCl₂ y 1.27% Na-citrato).

ANEXO 14

**Tabla ANOVA para Dureza según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	55718.83	4	13929.71	6.90	0.00020
Intra grupos	90873.53	45	2019.41		
Total (Corr.)	146592.36	49			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Dureza en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 6.90, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las durezas medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen durezas diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Dureza según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
AS	10	522.74	a
A2	10	521.56	a
A3	10	525.16	a
A4	10	463.34	b
A5	10	568.22	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
AS – A2	1.18	57.13
AS – A3	- 2.42	57.13
AS – A4	*59.40	57.13
AS – A5	-45.48	57.13

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración AS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A2=0.25%, A3= 1.27%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A2 – A3	-3.60	57.13
A2 – A4	*58.22	57.13
A2 – A5	-46.66	57.13

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración A2 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A3= 1.27%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A3 – A4	*61.82	57.13
A3 – A5	-43.06	57.13

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración A3 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂), mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A4 – A5	*-104.88	57.13

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 15

**Tabla ANOVA para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2.86	4	0.71	3.15	0.023
Intra grupos	10.22	45	0.23		
Total (Corr.)	13.07	49			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Elasticidad en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 3.15, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las elasticidades medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen elasticidades diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
AS	10	7.78	ab
A2	10	7.94	ab
A3	10	8.25	a
A4	10	7.58	b
A5	10	8.13	ab

Contraste	Diferencias	+/- Límites
AS – A2	-0.16	0.61
AS – A3	-0.47	0.61
AS – A4	0.20	0.61
AS – A5	-0.34	0.61

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración AS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A2=0.25%, A3= 1.27%, A4=1.5%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A2 – A3	-0.31	0.61
A2 – A4	*0.36	0.61
A2 – A5	-0.19	0.61

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración A2 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A3= 1.27%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A3 – A4	*0.67	0.61
A3 – A5	0.12	0.61

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración A3 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂), mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A4 – A5	-0.55	0.61

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativo) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 16

**Tabla ANOVA para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	67353.54	4	16838.38	6.80	0.00023
Intra grupos	111509.50	45	2477.99		
Total (Corr.)	178863.04	49			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 6.80, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las fuerzas de gel medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen fuerzas de gel diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración Frec. Media Grupos homogéneos

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
AS	10	407.52	a
A2	10	416.13	a
A3	10	433.37	a
A4	10	350.92	b
A5	10	462.31	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
AS – A2	-8.60	63.28
AS – A3	-25.85	63.28
AS – A4	-56.61	63.28
AS – A5	-54.79	63.28

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración AS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A2=0.25%, A3= 1.27%, A4= 1.5%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A2 – A3	-17.25	63.28
A2 – A4	*65.21	63.28
A2 – A5	-46.18	63.28

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración A2 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (A3= 1.27%, A5= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A3 – A4	*82.46	63.28
A3 – A5	-28.94	63.28

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración A3 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂), mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A4 – A5	*-111.39	63.28

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración A4 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es diferente (es significativo) con respecto a la concentración A5 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 17

**Tabla ANOVA para Dureza según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	24405.96	4	6101.49	2.56	0.053
Intra grupos	97753.48	41	2384.23		
Total (Corr.)	122159.44	45			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Dureza en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 2.56, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las durezas medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: no existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen durezas diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Dureza según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
BS	10	433.78	a
B1	6	428.83	a
B2	10	471.10	a
B3	10	488.59	a
B4	10	475.96	a

Contraste	Diferencias	+/- Límites
BS – B1	4.95	71.85
BS – B2	-37.32	62.23
BS – B3	-54.81	62.23
BS – B4	-42.18	62.23

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración BS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B1=0.25%, B2= 1.27%, B3= 1.5%, B4= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B1 – B2	-42.27	71.85
B1 – B3	-59.76	71.85
B1 – B4	-47.13	71.85

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B1 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B2= 1.27%, B3= 1.5%, B4= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B2 – B3	-17.49	62.23
B2 – B4	-4.86	62.23

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B2 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B3= 1.5%, B4= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B3 – B4	12.63	62.23

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B3 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 18

**Tabla ANOVA para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	4.07	4	1.02	7.08	0.00019
Intra grupos	5.89	41	0.14		
Total (Corr.)	9.97	45			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Elasticidad en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 7.08, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0.05, hay diferencia estadísticamente significativa entre las elasticidades medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen elasticidades diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Elasticidad según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey			
Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
B5	10	7.80	a
B1	6	7.86	a
B2	10	7.93	a
B3	10	8.13	ab
B4	10	8.61	b

Contraste	Diferencias	+/- Límites
BS – B1	-0.06	0.56
BS – B2	-0.12	0.48
BS – B3	-0.32	0.48
BS – B4	*-0.80	0.48

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración BS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B1=0.25%, B2= 1.27%, B3= 1.5%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B1 – B2	-0.06	0.56
B1 – B3	-0.26	0.56
B1 – B4	*-0.74	0.56

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración B1 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B2= 1.27%, B3= 1.5%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B2 – B3	-0.20	0.48
B2 – B4	*-0.68	0.48

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración B2 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B3 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂), mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B3 – B4	-0.48	0.48

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la elasticidad para la concentración B3 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 19

**Tabla ANOVA para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	38402.08	4	9600.52	3.38	0.018
Intra grupos	116333.90	41	2837.41		

Total (Corr.) 154735.99 45

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 3.38, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las fuerzas de gel medias de un nivel de concentración a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: no existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con al menos una de las cantidades de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen fuerzas de gel diferentes en los geles.

**Contraste Múltiple de Rango para Fuerza de gel según Concentración (Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% Na-citrato**

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

Concentración Frec. Media Grupos homogéneos

Concentración	Frec.	Media	Grupos homogéneos
BS	10	339.64	a
B1	6	338.94	ab
B2	10	374.30	ab
B3	10	398.07	ab
B4	10	410.74	b

Contraste Diferencias +/- Límites

BS – B1	0.71	78.39
BS – B2	-34.66	67.88
BS – B3	-58.43	67.88
BS – B4	*-71.10	67.88

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la fuerza de gel para la concentración BS (1.5% NaCl y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B1=0.25%, B2= 1.27%, B3= 1.5%) y todos con 0.5% CaCl₂, mientras que es diferente (es significativo) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

Contraste Diferencias +/- Límites

B1 – B2	-35.37	78.39
B1 – B3	-59.14	78.39
B1 – B4	-71.80	78.39

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B1 (0.25% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B2= 1.27%, B3= 1.5%, B4= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste Diferencias +/- Límites

B2 – B3	-23.77	67.88
B2 – B4	-36.44	67.88

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B2 (1.27% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a los otras concentraciones de Na-citrato (B3= 1.5%, B4= 2.0%) y todos con 0.5% CaCl₂.

Contraste	Diferencias	+/- Límites
B3 – B4	-12.67	67.88

* indica una diferencia significativa.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la dureza para la concentración B3 (1.5% Na-citrato y 0.5% CaCl₂) es similar (no es significativa) con respecto a la concentración B4 (2.0% Na-citrato y 0.5% CaCl₂).

ANEXO 20

**Tabla ANOVA para Humedad del sol (Mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0.4153	3	0.1384	3.070.153	
Intra grupos	0.1800	4	0.0450		
Total (Corr.)	0.59587				

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 3.07, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las humedades medias del sol de un nivel a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con todas las mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen humedades iguales en los soles.

ANEXO 21

**Tabla ANOVA para Humedad del sol (Mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% de Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0.2386	2	0.1193	2.930.196	
Intra grupos	0.1218	3	0.0406		
Total (Corr.)	0.36045				

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 2.93, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las humedades medias del sol de un nivel a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con todas las mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ se obtienen humedades iguales en los soles.

ANEXO 22

**Tabla ANOVA para Humedad del sol (Mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ versus 1.5% de NaCl)
Surimi lote A: 4% sorbitol**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1.8390	4	0.4597	2.220	0.201
Intra grupos	1.0309	5	0.2061		
Total (Corr.)	2.86999				

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 2.22, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las humedades medias del sol de un nivel a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con todas las mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ versus 1.5% de NaCl se obtienen humedades iguales en los soles.

ANEXO 23

**Tabla ANOVA para Humedad del sol (Mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ versus 1.5% NaCl)
Surimi lote B: 4% sorbitol y 0.25% de Na-citrato**

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2.0635	4	0.5158	5.190	0.054
Intra grupos	0.4697	5	0.0939		
Total (Corr.)	2.53329				

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Fuerza de gel en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos. El F-ratio, que en este caso es igual a 5.19, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las humedades medias del sol de un nivel a otro para un nivel de confianza del 95.0%.

Conclusión: existe suficiente evidencia estadística para aceptar que con todas las mezclas de Na-citrato y 0.5% CaCl₂ versus 1.5% de NaCl se obtienen humedades iguales en los soles.