



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

**INFLUENCIA DE FACTORES FISICO-QUIMICOS EN
LA FORMACION DE GELES ELABORADOS CON
SURIMI DE SARDINA
*(Sardina pilchardus)***



CRISTINA ALVAREZ GOMEZ DE SEGURA

Madrid, 1993

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

**INFLUENCIA DE FACTORES FISICO-QUIMICOS EN
LA FORMACION DE GELES ELABORADOS CON
SURIMI DE SARDINA
*(Sardina pilchardus)***

Memoria que para optar al grado de

DOCTOR EN VETERINARIA

presenta

CRISTINA ALVAREZ GOMEZ DE SEGURA

INSTITUTO DEL FRIO

MADRID, 1993

AGRADECIMIENTOS

Al someter a la consideración del tribunal este trabajo de Tesis, quiero manifestar mi profundo agradecimiento a todas aquellas personas sin las cuales no hubiera sido posible su realización, para ellas mi gratitud y amistad.

Ante todo he de expresar a la Investigadora Dra. Margarita Tejada Yábar directora de esta Tesis, mi sincero agradecimiento por sus consejos y rigor científico que espero formen parte de mi formación.

A los miembros del Instituto del Frío del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, dirección, personal científico, técnico, de apoyo, administrativo, becarios y contratados, sin cuya ayuda, como en todo trabajo de esta índole, no hubiera sido posible esta tesis.

Agradezco a la Dra. Carmen San José y a la Dra. Rosario Martín de Santos, del Departamento de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, el aceptar la ponencia de esta Tesis y el interés mostrado en todo momento.

Deseo agradecer a Dña. Isabel Couso Tapia su amistad así como su colaboración como experta en el campo de la microscopía.

Al Centro de Microscopía de la Universidad Complutense de Madrid dirigido por el Dr. Carlos Barba, por los recursos humanos y materiales puestos a mi disposición.

Al Departamento de Biología Molecular de la Facultad de Biológicas y en especial a la Dra M^a Teresa Solas por su colaboración en la preparación de muestras.

Al Centro de Cálculo del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y concretamente a Dña. Laura Barrios por su valiosa ayuda en lo referente al análisis estadístico de los resultados obtenidos.

Este estudio ha sido financiado por medio de los Proyectos de Investigación nº43 1 216 PEI de la Comunidad Europea, ALI 91-0899-C03-01 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT).

INDICE

Capítulo 1 - INTRODUCCION GENERAL	1
INTRODUCCION GENERAL	2
1.1 INTRODUCCION	2
1.2 JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DE LA TESIS	11
1.3 DISEÑO GENERAL DEL EXPERIMENTO	16
Capítulo 2 - MATERIALES Y METODOS GENERALES	18
2.1 MATERIALES	19
2.1.1 <i>Surimi</i>	19
2.1.2 Ingredientes alimentarios, aditivos químicos empleados en la elaboración de los geles y reactivos utilizados	19
2.1.3 Medios Instrumentales	20
2.1.3.1. Elaboración de los geles	20
2.1.3.2 Determinaciones analíticas	21
2.2 METODOS	22
2.2.1 Condiciones de conservación del <i>surimi</i>	22
2.2.2 Elaboración de los geles de <i>surimi</i>	22
2.2.3 Conservación de los geles previa a su estudio	23
2.3 ANALISIS EFECTUADOS	23
2.3.1 Análisis efectuados en <i>surimi</i>	23
2.3.1.1 Análisis elementales	23
2.3.1.1.1 pH	24
2.3.1.1.2 Proteína bruta	24
2.3.1.1.3 Grasa bruta	24
2.3.1.1.4 Humedad	24
2.3.1.1.5 Cenizas	24
2.3.1.2 Propiedades funcionales	25
2.3.1.2.1 Viscosidad	25

2.3.1.2.2 Capacidad de emulsión	25
2.3.1.2.3 Capacidad de formar gel	25
2.3.2 Análisis efectuados en los geles de <i>surimi</i>	25
2.3.2.1 Humedad	26
2.3.2.2 Análisis instrumental de la textura	26
2.3.2.2.1 Ensayos mecánicos empíricos	26
2.3.2.2.1.1 Ensayo de penetración	26
2.3.2.2.1.2 Determinación del módulo de rigidez	27
2.3.2.2.2 Ensayos mecánicos imitativos	28
2.3.2.2.2.1 Ensayo de ciclos de compresión	28
2.3.2.2.3 Prueba de plegado	29
2.3.2.3 Determinación del color	29
2.3.2.4 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua	29
2.3.2.5 Estudio microscópico	30
2.3.2.6 Obtención de los extractos proteicos analizados	30
2.3.2.6.1 Estudio de los enlaces formados	30
2.3.2.6.2 Determinación de solubilidad proteica	31
2.3.2.6.3 Determinación de grupos -SH	31
2.3.2.6.4 Estudio electroforético	32
2.4 ANALISIS ESTADISTICO	32

Capítulo 3. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE GELIFICACION

DEL <i>SURIMI</i> DE SARDINA	33
3.1 INTRODUCCION	34
3.1.1 Humedad final del gel	35
3.1.2 Tiempos de amasado	35
3.1.3 Concentración de sal	36
3.1.4 Temperaturas de calentamiento	37
3.1.5 Tiempos de calentamiento	38
3.2 RESULTADOS Y DISCUSION	39
3.2.1 Análisis efectuados en <i>surimi</i>	39
3.2.2 Influencia de la humedad final de los geles	40

3.2.3	Influencia de los tiempos de amasado	41
3.2.4	Influencia de la concentración de sal, temperaturas y tiempos de calentamiento	42
Capítulo 4.	ESTUDIO DE LOS GELES FORMADOS EN DISTINTAS CONDICIONES TERMICAS	45
4.1	INTRODUCCION	46
4.2	MATERIALES Y METODOS	49
4.2.1	Diseño del experimento	49
4.2.2	Elaboración de los geles	50
4.3	RESULTADOS Y DISCUSION	50
4.3.1	Determinación de la resistencia del gel	50
4.3.1.1	Geles tipo <i>suwari</i>	50
4.3.1.2	Geles tipo <i>kamaboko</i>	52
4.3.2	Capacidad de retención de agua	55
4.3.2.1	Geles tipo <i>suwari</i>	55
4.3.2.2	Geles tipo <i>kamaboko</i>	56
4.3.3	Determinación de distintos parámetros de textura por ciclos de compresión	57
4.3.3.1	Dureza	57
4.3.3.2	Elasticidad	58
4.3.3.3	Cohesividad	58
4.3.3.4	Gomosidad	59
4.3.3.5	Adhesividad	60
4.3.4	Determinación del módulo de rigidez	61
4.3.5	Efecto de distintos tratamientos termicos en la solubilidad de los geles <i>kamaboko</i> y <i>suwari</i> . Influencia de diferentes agentes quimicos	63
4.3.5.1	Perfil electroforético y solubilidad proteica	64
4.3.5.2	Determinación de grupos SH en las fracciones solubles	68
4.3.6	Microscopía	69

Capítulo 5. EFECTO DEL ALMIDON EN LOS GELES DE <i>SURIMI</i> DE SARDINA	71
5.1 INTRODUCCION	72
5.1.1 Definición	72
5.1.2 Estructura	72
5.1.3 Propiedades químicas y físicas	73
5.1.4 Gelatinización del almidón	74
5.1.5 Utilización del almidón en alimentos	75
5.1.6 Utilización del almidón en <i>surimi</i> y productos derivados del <i>surimi</i>	75
5.2 MATERIALES Y METODOS	77
5.2.1 Diseño del experimento	77
5.2.2 Elaboración de geles de <i>surimi</i> con almidón	78
5.3 RESULTADOS Y DISCUSION	79
5.3.1 Textura	79
5.3.2 Capacidad de retención de agua	82
5.3.3 Microscopía	83
5.3.4 Color	84
 Capítulo 6. EFECTO DE LA CLARA DE HUEVO EN LOS GELES DE <i>SURIMI</i> DE SARDINA	 85
6.1 INTRODUCCION	86
6.1.1 Definición	86
6.1.2 Estructura	86
6.1.3 Propiedades químicas y físicas	87
6.1.4 Formación del gel	88
6.1.5 Utilización de la clara de huevo en alimentos	89
6.1.6 Utilización de la clara de huevo en <i>surimi</i> y productos alimenticios derivados del <i>surimi</i>	89
6.2 MATERIALES Y METODOS	91
6.2.1 Diseño del experimento	91
6.2.1 Elaboración de geles de <i>surimi</i> con clara de huevo	92

6.3 RESULTADOS Y DISCUSION	93
6.3.1 Textura	93
6.3.2 Capacidad de retención de agua	97
6.3.4 Microscopía	98
6.3.5 Color	99
Capítulo 7. EFECTO DEL AISLADO DE SOJA EN LOS GELES DE <i>SURIMI</i> DE SARDINA	100
7.1 INTRODUCCION	101
7.1.1 Definición	101
7.1.2 Estructura y propiedades químicas de las proteínas de soja	101
7.1.3 Formación del gel de proteína de soja	102
7.1.4 Aplicación del aislado de soja en alimentos	103
7.1.5 Utilización del aislado de soja en geles de <i>surimi</i> y productos alimenticios derivados del <i>surimi</i>	104
7.2 MATERIALES Y METODOS	105
7.2.1 Diseño del experimento	105
7.2.2 Elaboración de los geles con aislado de soja	106
7.3 RESULTADOS Y DISCUSION	107
7.3.1 Textura	107
7.3.2 Capacidad de retención de agua	111
7.3.3 Microscopía	112
7.3.4 Color	114
7.4 EFECTO DE LA ADICION DE ALMIDON, ALBUMINA Y SOJA EN LA TEXTURA DE GELES DE <i>SURIMI</i> DE SARDINA. (CAPITULOS 5,6 Y 7)	115
Capítulo 8. EFECTO DE LOS KAPPA E IOTA CARRAGENATOS EN LOS GELES DE <i>SURIMI</i> DE SARDINA	118
8.1 INTRODUCCION	119
8.1.1 Definición	119
8.1.2 Estructura	120

8.1.3 Propiedades químicas y físicas	120
8.1.4 Formación del gel	121
8.1.4.1 kappa carragenato	121
8.1.4.2 iota carragenato	122
8.1.5 Aplicación de los carragenatos en alimentos	123
8.1.6 Utilización de carragenatos en <i>surimi</i> y productos alimenticios derivados del <i>surimi</i>	123
8.2 MATERIALES Y METODOS	125
8.2.1 Diseño del experimento	125
8.2.2 Elaboración de los geles con kappa e iota carragenatos	126
8.3 RESULTADOS Y DISCUSION	127
8.3.1 Textura	127
8.3.2 Capacidad de retención de agua	128
8.3.3 Microscopía	129
8.3.4 Color	129
Capítulo 9 - CONCLUSIONES	131
Capítulo 10 - BIBLIOGRAFIA	135

Capítulo 1 - INTRODUCCION GENERAL

Capítulo 1.

INTRODUCCION GENERAL

1.1 INTRODUCCION

Se conoce como *surimi* al concentrado de proteína miofibrilar obtenido a partir del músculo de pescado picado, lavado al que se añaden diferentes crioprotectores para prolongar su "vida útil" en congelación. Posee un elevado valor nutricional y sobre todo funcional principalmente por la elevada capacidad gelificante y capacidad de retención de agua.

El procedimiento de elaboración de diferentes productos y fundamentalmente geles a partir del *surimi* era prácticamente desconocido en Europa y Estados Unidos antes de 1979, mientras que en Japón la técnica de elaboración de estos productos era conocida desde hacía aproximadamente 1000 años si bien el desarrollo industrial no tuvo lugar hasta los años 60 cuando se descubrió la forma de mantener el *surimi* estable en estado congelado mediante la adición de crioprotectores (Suzuki 1981; Lee, 1984; Tanikawa, 1985; Pigott, 1986; Sano, 1988; Roussel, 1988).

Aparecen con frecuencia en la literatura tres términos que conviene diferenciar: *surimi*, pescado picado y productos derivados del *surimi*. Al extraer del pescado el músculo separándolo de las rasas y de la piel se obtiene "pasta de pescado picado". Este producto además de servir como ingrediente para elaborar algunos productos como hamburguesas o pudines de pescado constituye la materia prima de la cual se parte para obtener "*surimi*". Este producto se obtiene al lavar el músculo con agua o soluciones acuosas para eliminar proteínas sarcoplásmicas, sustancias solubles y grasa que además de acelerar el deterioro del *surimi* durante su posterior conservación interfieren en el proceso de gelificación. Aún eliminando estas sustancias la funcionalidad se pierde rápidamente al conservar el *surimi* en congelación por lo que se añaden crioprotectores. Así el *surimi* internacionalmente se comercializa en

forma de bloques congelados de fácil manejo que mantienen un buen grado de funcionalidad durante un periodo prolongado.

Tradicionalmente la propiedad funcional más importante del *surimi* es la capacidad de gelificación. Para elaborar geles a partir de *surimi* denominados genericamente *kamaboko*, el *surimi* se mezcla con sal y otros ingredientes para ser posteriormente texturizado en forma de fibras o moldeado dependiendo del producto que se quiera obtener. Después se somete a un calentamiento hasta obtener un producto gelificado con la textura definitiva. Generalmente son productos que se someten a un proceso de pasteurización o esterilización previo a su comercialización.

La tecnología para obtener productos análogos a otros productos pesqueros a partir de *surimi*, se desarrolló en Japón con la elaboración del análogo de pata de cangrejo aunque actualmente se fabrican en muchos países de Europa, Estados Unidos, Canadá, Corea, Nueva Zelanda, etc. En muchos países la introducción de esta nueva tecnología ha revitalizado la industria alimentaria y abierto nuevos mercados. La competencia actual ha favorecido la investigación y desarrollo de nuevos productos con una gran variedad sensorial. En España concretamente la comercialización de diferentes productos a partir de *surimi* ha crecido en los últimos años con la aparición de numerosos productos importados y de alguno de fabricación nacional como el análogo de angula (Patente nº 2010637). La importancia del *surimi* se ve reflejada por las numerosas publicaciones, reuniones, congresos y revisiones realizadas sobre el tema. El congreso celebrado en Aberdeen (Reino Unido) en 1979 es el primero en Europa en donde se hace referencia al *surimi* como un producto de gran interés y con una creciente expansión fuera de Japón (Steinberg, 1979) y desde entonces son muchos los congresos celebrados en Europa y Estados Unidos sobre ciencia y tecnología de los alimentos en los cuales ocupa un lugar destacado la tecnología destinada a la elaboración de *surimi* y productos derivados. El congreso celebrado en Seattle (Estados Unidos) en 1985 representa casi un monográfico sobre el *surimi* y productos derivados. Recientemente ha sido publicada una monografía sobre tecnología del *surimi* editada por T.C. Lanier y C.M. Lee (1992).

En la base de datos de la Oficina Española de Patentes y Marcas se han recuperado 17 documentos, entre solicitudes y concesiones, que hacen referencia a la obtención de *surimi* o a productos elaborados utilizando esta técnica /o a productos que lo contienen. De estos 9 corresponden a solicitantes o titulares japoneses, 5 a españoles, 2 son de nacionalidad francesa y 1 suiza. En relación a las empresas y organismos solicitantes, la empresa Angulas de Aguinaga ostenta la titularidad de 4 patentes, seguida por la compañía japonesa Sugiyo Co. Ltd. con 2 y por el resto de los solicitantes con una patente cada uno. Entre estos últimos se encuentran el C.S.I.C., Nestlé, IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer), Takeda Chemical Industries. Los trabajos de Investigación que dieron lugar a las patentes cuya titularidad ostenta la empresa Angulas de Aguinaga se han desarrollado en el Instituto del Frío (CSIC) por medio de contratos de Investigación entre la Industria y el CSIC.

De todas las especies de pescado el abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) ha sido la más utilizada para la elaboración de geles de *surimi*. Se trata de una especie magra con enormes posibilidades de captura por su abundancia y accesibilidad (AFDF, 1987) y aunque no es la óptima porque su conservación en estado congelado y refrigerado es mediocre, este problema está actualmente subsanado con la incorporación de eficaces crioprotectores (Suzuki, 1981; Roussel, 1988). Industrialmente los crioprotectores más utilizados son la sacarosa y el sorbitol en concentraciones del 4% cada uno y 0,2% de polifosfatos (Suzuki, 1981; Lee, 1984). También para la fabricación industrial del análogo de pata de cangrejo se han utilizado otros pescados como la faneca (*Trisopterus luscus*). Todas estas producen un *surimi* blanco y de sabor y olor neutro. Sin embargo las especies grasas de pescado como la sardina (*Sardina spp*) y el jurel (*Trachurus spp*) producen un *surimi* de color grisáceo y de aroma algo más pronunciado que el de pescados magros que hasta ahora solo ha sido una materia prima adecuada para productos de charcutería y otros donde el color del *surimi* no suponga un inconveniente.

Como ya se ha apuntado, la capacidad de gelificación es la propiedad funcional mas importante del *surimi* y en la que se ha basado el desarrollo espectacular en los últimos años de esta industria. La clasificación del *surimi* en categorías, se hace en gran parte en función

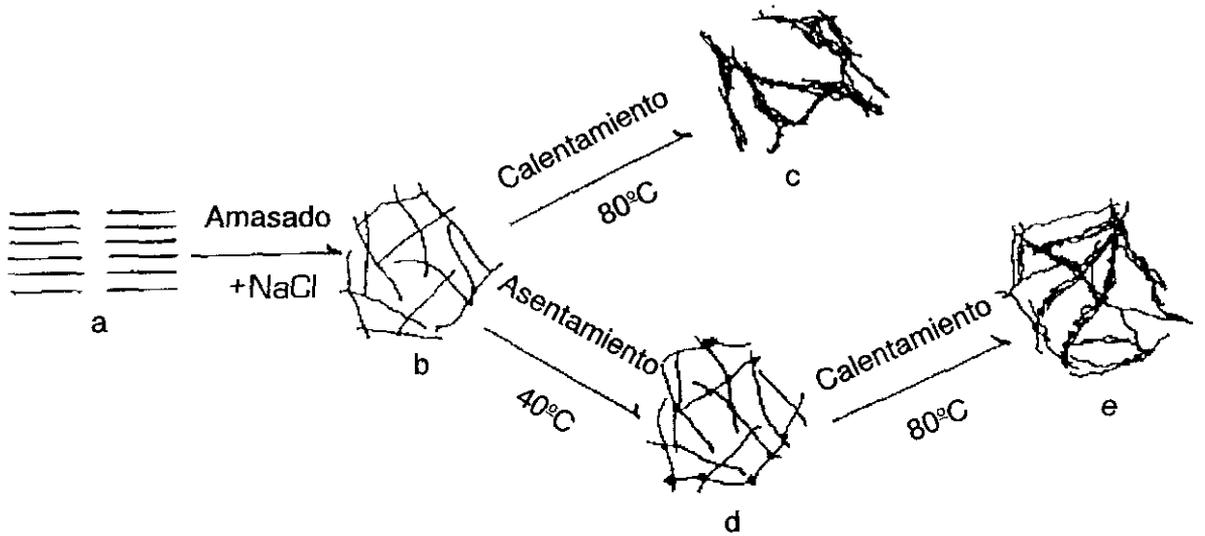


Fig 1.1 Cambios estructurales de las miofibrillas durante la transformación de sol a gel. a, surimi picado; b, masa de surimi con sal; c, gel calentado sin asentarse; d, gel asentado; e, gel calentado con asentamiento previo (de Niwa, 1992).

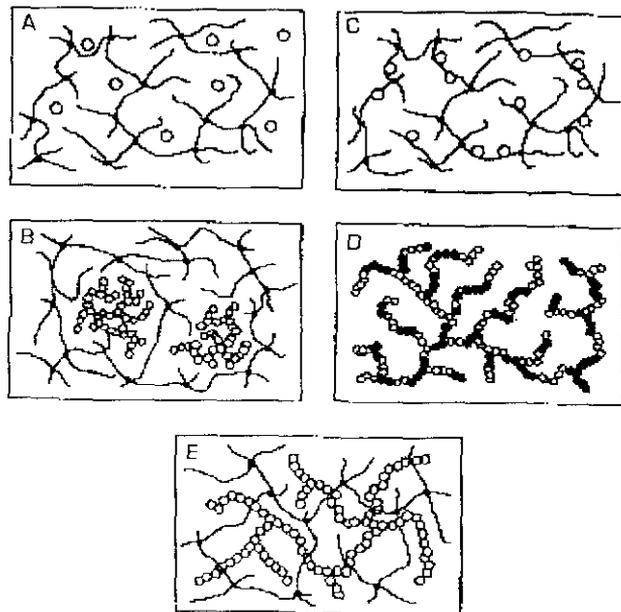


Fig 1.2 Modelos que explican el comportamiento de los ingredientes gelificantes o no durante la gelificación de la proteína (de Ziegler y Foegeding, 1990).

de su capacidad de formación de gel, aplicando las pruebas de calidad desarrolladas por la industria japonesa (OFCF, 1984. Suzuki, 1981) o los propuestos por otros grupos (Lanier y col., 1985b). Como pruebas fundamentales de calidad propuestos por los investigadores y la industria japonesa se encuentran la determinación de la resistencia del gel y la prueba de plegado.

La capacidad que tienen las proteínas de pescado obtenidas como *surimi* de formar geles homogéneos y termoestables ha sido extensamente estudiada (Okada, 1963; Suzuki, 1981; Lee, 1984; Lanier, 1986; Roussel, 1988). Se forman geles a temperaturas relativamente bajas debido a la mayor termolabilidad que presentan las proteínas de pescado frente a las de otras especies.

Para que se formen los geles a partir de proteína miofibrilar es necesario que la miosina y F-actina se solubilizan. La solubilización parcial de las proteínas se produce al añadir sal e interaccionar con residuos ácidos y básicos de los aminoácidos. Se produce así la ruptura de enlaces iónicos entre proteínas miofibrilares y las proteínas incrementan su afinidad por el agua y se disuelven (Niwa, 1985 y 1992). A medida que se van solubilizando las proteínas, tiene lugar el fenómeno de repolimerización de la actomiosina por la interacción de la miosina con los filamentos de actina, que determina la gelificación (Niwa, 1992). Al solubilizar la proteína miofibrilar amasándola con sal se forma una pasta viscosa (sol), para posteriormente establecerse diferentes tipos de enlaces responsables de la formación del gel. El amasado del *surimi* con la sal debe realizarse a bajas temperaturas para evitar fenómenos de desnaturalización. El cambio estructural de las miofibrillas en el proceso de transformación del sol al gel queda reflejado en la Fig 1.1.

La formación del gel definitivo se consigue una vez solubilizada la proteína por la aplicación de un tratamiento térmico aunque si este no se realiza se puede llegar a formar un gel utilizando temperaturas incluso de refrigeración durante tiempos prolongados. Dependiendo de la temperatura y del tiempo utilizados se establecen diferentes tipos de enlaces que dan lugar a la formación de distintos tipos de gel final.

De los diferentes estudios realizados se ha demostrado que los enlaces implicados son iónicos (Niwa; 1985), puentes de hidrógeno (Suzuki, 1981; Beas y col, 1988), interacciones hidrofóbicas (Niwa, 1975; Niwa y col, 1981; Sano, 1988; Beas y Crupkin, 1990), enlaces covalentes (no disulfuro) (Seki y col., 1990) y puentes disulfuro (Itoh y col., 1979; Ishiroshi y col., 1981; Niwa y col., 1981; Niwa, 1985; Sano, 1988; Roussel, 1988; Roussel y Cheftel, 1990).

Cuando comienza el calentamiento, la proteína pierde su conformación natural y comienza a desplegarse exponiendo residuos de aminoácidos hidrofóbicos. Por interacción con otros residuos se establecen nuevas interacciones intermoleculares de tipo hidrofóbico. También se establecen uniones de tipo covalente no disulfuro entre las moléculas de miosina, lo que ha sido atribuido a la acción de transglutaminasas (Sano, 1988; Seki y col., 1990; Leinot, 1991; Niwa, 1992). Aunque inicialmente se consideró que los enlaces iónicos y los puentes de hidrógeno intermoleculares tenían una gran importancia en la formación de los geles se les adjudica actualmente un papel secundario. Al aumentar la temperatura o el tiempo de calentamiento se forman puentes disulfuro intermoleculares por oxidación de residuos de cisteína (Sano, 1988).

A temperaturas por debajo de 50°C denominadas temperaturas de asentamiento, se obtiene un gel translúcido y blando en el que ha tenido lugar una formación no muy masiva de enlaces flexibles intermoleculares que confieren un cierto grado de elasticidad al gel. Aunque las proteínas están desnaturalizadas el gel formado tiene una alta capacidad de retención de agua. Este tipo de gel se denomina gel tipo *suwari*. Por encima de las temperaturas de asentamiento comunmente utilizadas (entre 4 y 50°C) se produce en muchas especies un fenómeno de destrucción de la red denominado *modori*.

A medida que se aumenta la temperatura y se prolonga el tiempo de calentamiento, continúa la formación de puentes disulfuro. Además el desplegamiento de la proteína por inestabilidad de los puentes de hidrógeno a elevadas temperaturas, provoca la exposición de aminoácidos hidrofóbicos causando la formación de un gran número de interacciones hidrofóbicas entre las cadenas. En este punto se produce la coagulación de las proteínas y el

gel libera agua. Este tipo de gel es más opaco y posee una consistencia más rígida que el gel *suwari* y se denomina gel de tipo *kamaboko*. Si el incremento de la temperatura ocurre de forma muy rápida también se forma un gel *kamaboko* por calentamiento directo. El desdoblamiento y coagulación casi inmediata de la proteína hace en ese caso que la estructura del gel resulte diferente, con un gel definitivo opaco, más heterogéneo, con una mayor intensidad de coagulación y una menor retención de agua.

Cuando el *surimi* se presenta en un alimento como componente mayoritario, la textura del producto final puede resultar gomosa para el gusto occidental y su conservación en estado congelado no puede ser muy prolongada porque sus propiedades sensoriales tienden a modificarse (Alvarez y col., 1990; Niwa, 1992). Se añaden por ello diversos ingredientes que además de abaratar, incrementar aún más la posibilidad de obtener productos con texturas muy diferentes. También sirven para mejorar su capacidad de conservación al modificar el contenido de agua libre del producto. Sin embargo resulta difícil predecir el efecto de un determinado ingrediente en un medio y ante un proceso de gelificación tan complejo. En la mayor parte de los casos, este comportamiento no es fácilmente predecible a partir de la funcionalidad individual de cada ingrediente (Burgarella y col., 1985b).

El gel de *surimi* es un hidrogel. Se trata de un polímero disperso en agua e inducido a gelificar formando una matriz continua con agua atrapada en su interior (Ziegler y Foegeding, 1990; Niwa, 1992). Por lo tanto queda clasificado como un sólido viscoelástico desde el punto de vista reológico. En la mayor parte de los casos los ingredientes que se añaden quedan atrapados en el interior de la matriz haciendo de "relleno" del gel. El efecto del ingrediente en el gel puede ser de tres tipos (Lee y col, 1992):

1. Influencia directa en la formación de la matriz del gel durante el proceso de gelificación.
2. Modificación de las propiedades físico-químicas de la fase acuosa del gel.
3. Modificación de la textura del gel en función de la proporción y propiedades físicas del ingrediente (distribución en el gel y propiedades reológicas).

Ziegler y Foegeding (1990) consideran que existen cinco modelos de gel diferentes, tal y como se presentan en la Figura 1.2. La clasificación está realizada en función del grado de interacción del ingrediente al que denominan coingrediente (gelificante o no) con la proteína del *surimi*.

Los dos primeros modelos se llaman "simples" (Ziegler y Foegeding, 1990) o "pasivos" (Ring y Stainsby, 1982) (Fig 1.2A, B) porque el ingrediente en ningún caso llega a interactuar con la matriz proteica. En el primero de ellos (A) el ingrediente se encuentra solubilizado en el fluido intersticial de la matriz proteica, mientras que en el segundo modelo (B) se encuentra disperso. Los modelos de las Fig 1.2C y D son denominados "complejos" (Ziegler y Foegeding, 1990) o "activos" (Ring y Stainsby, 1982). En estos casos el ingrediente interactúa con la matriz proteica y puede hacerlo asociándose a ella en puntos aislados (C) o formando una red heterogénea continua (D). En el caso (C) esta asociación puede interferir en la gelificación del *surimi* modificando sus propiedades. En el caso D es necesario que el *surimi* y el ingrediente posean la capacidad de interactuar y formar enlaces químicos entre sus respectivas moléculas y que las condiciones para que se establezcan esas uniones sean las mismas para los dos componentes. Tales coincidencias hacen que este modelo se presente en muy raras ocasiones.

En un quinto modelo la textura final del gel se debe a la formación de dos redes diferentes que no interactúan químicamente entre sí, sino que se entrecruzan (Fig 1.2E). Este modelo sería más frecuente que el modelo expuesto en la Fig 1.2D ya que no es necesario en este caso que ambos componentes, el *surimi* y el ingrediente, tengan las mismas condiciones de gelificación.

Todos estos modelos de posibles interacciones *surimi*-ingrediente pueden dar lugar a muy diferentes texturas dependiendo de las propiedades de los componentes y del tipo de interacción que se establezca entre ellos (Chung y Lee, 1990). Además la incorporación del ingrediente al sol de actomiosina (AM) podría implicar unas condiciones de humedad, fuerza iónica, etc en las que el ingrediente quizás no presente las mismas propiedades funcionales que disperso en agua. Así mismo, el tratamiento térmico puede modificar su comportamiento

en la gelificación. Es necesario por lo tanto ensayar el efecto del ingrediente en las condiciones de utilización.

La mayor parte de los ingredientes añadidos al *surimi* para elaborar productos *kamaboko* precisan de una cantidad mínima de agua a partir de la cual ejercen un efecto positivo en la textura del gel. Diferentes cantidades de agua disponible determinan cambios importantes en la textura del gel. La textura es precisamente la principal propiedad física conferida por el *surimi* a los productos en los que interviene como ingrediente ya sea en forma mayoritaria o a baja concentración. Es bien sabido que la textura, es uno de los factores de mayor importancia en la aceptabilidad del alimento, junto con la apariencia y aroma (Bourne, 1978). Szczesniak (1963) realizó una clasificación de diferentes conceptos de textura, con el fin de hacer objetivas las comparaciones entre productos y estableció una correlación entre medidas de textura obtenidas mediante el análisis sensorial y parámetros reológicos.

La reología se define como la "ciencia o rama de la Física que estudia deformaciones y flujos" (Hamman y MacDonald, 1992). El estudio reológico de los geles de *surimi* o de geles que contengan *surimi*, incluye dos tipos de pruebas: uno de ellos sería el referente a "ensayos de pequeñas deformaciones" (se deforma únicamente un pequeño porcentaje de la muestra necesaria hasta provocar una rotura en la misma) y los "ensayos a grandes deformaciones" que incluirían hasta daños irreversibles en la estructura. Ambos tipos de ensayos proporcionan una buena información acerca de la estructura de red formada mediante el establecimiento de diferentes tipos de enlaces. En geles *kamaboko* los ensayos a grandes deformaciones están bien correlacionados con el análisis sensorial para averiguar la aceptabilidad del producto final (Montejano y col., 1985; Hamann y MacDonald, 1992). Así pues, el estudio reológico de los geles proporciona indirectamente información referente a la aceptabilidad del producto, lo cual es importante para el control de calidad. También es posible relacionar los resultados reológicos con el mecanismo químico de formación de la red durante el calentamiento del sol en diferentes condiciones. Esto permite controlar el grado de formación de determinadas estructuras, necesarias para obtener las características de textura deseadas.

Además de los métodos objetivos directos entre los que incluyen los ensayos reológicos también se utilizan para evaluar la textura de los alimentos métodos objetivos indirectos entre ellos químicos y microscópicos. Los análisis químicos permiten evaluar las variaciones cuantitativas que experimentan los componentes principales de un alimento como son el contenido en humedad, grasa y proteínas. La electroforesis y las pruebas de solubilidad proteica dan por otra parte amplia información sobre el mecanismo de formación de la red y sobre las proteínas implicadas. Es también evidente el valor de los métodos microscópicos, ya que existe una correlación estrecha entre las modificaciones microestructurales del alimento y sus cambios de textura (Stanley y Tung 1976; Acevedo, 1991). Se emplean además ensayos subjetivos, en los que se utilizan los sentidos (gusto, tacto) como instrumento para evaluar la textura de los alimentos. Bourne (1982) ha propuesto la siguiente clasificación de diferentes tipos de ensayos para determinar la textura de los alimentos.

OBJETIVOS		SUBJETIVOS	
DIRECTOS	INDIRECTOS	ORALES	NO ORALES
Fundamentales	Opticos	Mecánicos	Prueba de plegado
Empíricos	Químicos	Geométricos	
Imitativos	Acústicos	Químicos	
	Otros		

Los ensayos objetivos se basan en la aplicación de diferentes técnicas instrumentales. Se pueden subdividir a su vez en directos, que determinan la textura real del alimento y los indirectos, que miden otras propiedades físicas que se correlacionan bien con las características de textura. En este apartado quedarían incluidos los ensayos a grandes y pequeñas deformaciones propuestos por Hamman y MacDonald (1992). Los ensayos subjetivos se clasifican en orales (se realizan masticando un alimento) y no orales.

En la clasificación de métodos objetivos directos está incluida la realizada por Szczesniak (1963):

Ensayos fundamentales

Son técnicas clásicas que se emplean para ver el comportamiento mecánico de diferentes materiales. Fueron desarrolladas por científicos e ingenieros. Se aplican mucho en materiales de construcción, textil etc y no tienen buena correlación con la evaluación sensorial de la textura de los alimentos (viscosidad, módulo de elasticidad etc).

Ensayos empíricos

Tienen una buena correlación con la evaluación sensorial aunque no son aplicables a todo tipo de alimentos. Son técnicas varias que surgen de la experiencia de trabajar con alimentos. Los alimentos se someten así a una deformación mecánica mediante técnicas de extrusión, tensión, compresión etc. Las condiciones de este tipo de test son bastante arbitrarias quedando muchos parámetros fuera de uso por su difícil interpretación. Sólo son comparables los resultados cuando las experiencias tienen lugar en unas condiciones muy específicas.

Ensayos de imitación

El objetivo es reproducir de forma instrumental el movimiento y la deformación que tiene lugar cuando se mastica un alimento y asumir que las fuerzas de reacción desarrolladas representan las reacciones humanas ante la masticación. Es un test que sirve de puente entre los principios fundamentales de la reología y la terminología popular y que además puede aplicarse a una gran variedad de alimentos.

Muchos estudios experimentales refrendan la utilidad del empleo combinado de varios métodos instrumentales de evaluación de la textura ya que uno solo no suele proporcionar suficiente información acerca de las propiedades mecánicas del alimento.

La medida de la capacidad de retención de agua (CRA) es otro método físico indirecto para la evaluación de la textura de los alimentos (Trout, 1988); también con este método se puede obtener información sobre el papel del agua en la formación del hidrogel de *surimi* y su intervención en las propiedades mecánicas y sensoriales del gel. Como en cualquier otro sistema alimentario, en el gel de *surimi* hay agua libre y agua ligada. Estos dos conceptos tienen aquí un significado peculiar; en los geles de *surimi*, el agua "libre" es la que se evapora fácilmente durante el tratamiento térmico aplicado para formar el gel definitivo.

El agua "ligada" se encuentra unida mediante puentes de hidrógeno a la proteína que forma la matriz o bien quedando atrapada en su interior (Niwa, 1992). Akahane y Shimizu (1989 a y b; 1990) distinguen cuatro categorías diferentes de agua al determinar la CRA en geles de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) por un método de presión: geles de agua libre, debilmente atrapada, fuertemente atrapada e inmovilizada. Estos autores encuentran una elevada correlación inversa entre el agua libre y la dureza del gel. El agua añadida al *surimi* para elaborar los geles, se comporta como agua libre siendo esta la de mayor proporción en el gel (Akahane y col., 1988).

Recientemente ha crecido el interés entre los países occidentales por adaptar la tecnología de elaboración de los productos derivados del *surimi* a una gran variedad de pescados con el fin de optimizar y dar salida a los recursos pesqueros propios de cada país y también para reducir la dependencia de otros países en la adquisición del *surimi*. La sardina (*Sardina pilchardus*) es una especie con un gran potencial de captura en las costas europeas y de bajo coste en el mercado aunque únicamente un 1% de la producción mundial de *surimi* está destinada a la producción de *surimi* de sardina. Por ello ha sido la especie elegida para el desarrollo desde 1985 de un programa de investigación por iniciativa del laboratorio francés Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) (Nantes, Francia) y con la participación de otros laboratorios de Francia, Portugal, Italia y España. Los objetivos propuestos para ser desarrollados en el Instituto del Frío (CSIC) se han basado en el estudio del proceso de gelificación del *surimi* y del pescado picado.

Para la elaboración del *surimi* a partir de sardina hay que tener en cuenta que en la funcionalidad influyen además de factores entre los que destacan la condición fisiológica del pez, la composición química y las condiciones de conservación previas a su utilización, otros propios de esta especie (Huidobro y col., 1990; Leinot y Cheftel, 1990; Leinot, 1991; Nunes y col., 1990) que representan un inconveniente a la hora de fabricar *surimi*, fundamentalmente debido al descenso del pH *post mortem*, el elevado contenido graso estacional, la presencia de músculo rojo y la posible presencia de enzimas digestivos durante el picado del músculo.

En cuanto al contenido en lípidos, estudios de Nunes y col. (1990) hacen referencia a variaciones de contenido lipídico en sardinas capturadas en diferentes áreas de la costa Portuguesa siendo el contenido menor durante los meses de Marzo-Abril alcanzando los máximos niveles en Septiembre-Octubre.

Por otra parte la disminución *post mortem* del pH del músculo de sardina a comienzos del verano a niveles de 5.5-6.0, produce una acidificación que afecta a la proteína muscular reduciendo su funcionalidad (Ishikawa, 1977; Huidobro y col., 1990; Nunes y col., 1990; Leinot y Cheftel, 1990). Este descenso del pH se debe a un mayor contenido en ácido láctico por existir mayores reservas de glucógeno en el músculo (Shimizu y col., 1992).

La sardina, al igual que otras especies pelágicas grasas, posee una elevada proporción de músculo rojo (24%) y las peculiares características bioquímicas de este tejido condicionan algunos aspectos de su aptitud para la transformación (Roussel, 1988). El músculo rojo tiene mayor vascularización y contenido en mioglobina que el músculo blanco lo que explica la diferencia de color entre ambos. El músculo rojo contiene además mayor proporción de lípidos, proteínas sarcoplásmicas solubles y componentes de elevado peso molecular que el músculo blanco, lo que supone un inconveniente, ya que algunos de estos componentes son difíciles de extraer con agua. Las dificultades del lavado del músculo para obtener *surimi* de buena calidad constituyen pues un problema tecnológico (Suzuki, 1981; Roussel, 1988; Leinot 1991; Shimizu y col., 1992).

El *surimi* fundamentalmente está compuesto por proteínas miofibrilares que son solubles en soluciones de fuerza iónica elevada ($\mu=0,6$) y representan en la sardina un 60% de las proteínas musculares totales (Shimizu y col., 1976). Esta fracción proteica denominada "miofibrilar" está constituida por proteínas contráctiles (actina y miosina), proteínas reguladoras (tropomiosina, troponina I, T y C, proteína C) y proteínas del citoesqueleto (α y β actinina, proteína M, proteína Z, conectina). La miosina del músculo blanco de la sardina contiene dos cadenas pesadas de peso molecular (PM) de 200000 Dalton y cuatro cadenas ligeras de PM de 20000 Dalton (Roussel, 1988).

Entre los diferentes factores que influyen en la funcionalidad de las proteínas miofibrilares, el grado de frescura del pescado es uno de los más importantes. Trabajos realizados por Leinot y Cheftel (1989) con sardina dan como resultado una disminución de la resistencia del gel de hasta un 35% en el caso de sardina almacenada durante 20 horas a 0°C y del 65% cuando se almacena a 20°C. Después de 40 horas las proteínas miofibrilares no gelifican cuando se almacenó la muestra a la temperatura de 20°C. Huidobro y col. (1990 y 1992) también obtuvieron una menor funcionalidad de la proteína de sardina (*Sardina pilchardus*) al disminuir el grado de frescura del pescado y también al utilizar determinados procedimientos de conservación del pescado.

Roussel (1988) y Leinot (1991) estudiaron en *surimi* de sardina (*Sardina pilchardus*) la obtención y propiedades gelificantes en función de la estación de captura y de la conservación del pescado en diferentes condiciones de refrigeración y congelación, sin embargo no hay estudios sistemáticos de gelificación de *surimi* de sardina.

1.2 JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DE LA TESIS

Las especies pelágicas de pescado entre las que se encuentra la sardina tienen un volumen de capturas importante en España. Este elevado volumen permite además del consumo directo, su utilización para la elaboración de diferentes productos como aceites y harina de pescado, lo que representa una clara infrutilización del músculo con una repercusión económica importante. Este hecho ha despertado un interés creciente por el aprovechamiento del potencial proteico del músculo y de su funcionalidad para la elaboración de diferentes productos.

La elaboración de diferentes productos a partir de *surimi* representa una respuesta al aprovechar la funcionalidad del músculo de pescado. El *surimi* elaborado a partir de especies magras de pescado esta siendo utilizado y comercializado desde hace décadas. Sin embargo, la dependencia del mercado del *surimi* de especies tales como el abadejo de Alaska y de las fluctuaciones del precio en el mercado internacional, plantea una serie de inconvenientes por lo que en muchos países se ha tendido a la búsqueda de otras especies autóctonas adecuadas

para fabricar surimi. Así en Japón y actualmente en Europa se están llevando a cabo numerosos proyectos de investigación destinados a optimizar el proceso de elaboración de *surimi* de sardina intentando solventar los inconvenientes derivados de las características del músculo de esta especie como son el color y la presencia de lípidos con resultados que parecen indicar la existencia de un potencial importante de *surimi* de buena calidad en donde los inconvenientes antes citados se encuentran subsanados o paliados.

Sin embargo, a pesar de ser la capacidad de gelificar la propiedad funcional de mayor importancia para la elaboración de productos a partir de *surimi*, no se encuentran estudios claros ni sobre el proceso de gelificación ni acerca de las condiciones óptimas de utilización del *surimi* de sardina para formar geles de buena calidad. Esto se debe fundamentalmente a que los estudios realizados se han desarrollado en diferentes especies de pescado y los resultados no se pueden aplicar a otras especies directamente, todo ello acompañado por la falta de un estudio sistemático que pueda hacer comparativos los resultados.

Asimismo, un campo sobre el que tampoco hay un estudio que refleje una idea clara es el que contempla el efecto de diferentes ingredientes en las características de los geles de *surimi* de sardina. Los trabajos publicados hasta el momento se han realizado en unas condiciones físico-químicas diferentes y en *surimi* de distintas especies y calidades. Al actuar estos factores como variables, no es posible interpretar correctamente los resultados. Otro factor que dificulta la interpretación es la enorme variedad de ingredientes y la diferente forma de utilizarlos. Se hace necesario por lo tanto sistematizar el estudio fijando el mayor número de variables de tal forma que los resultados obtenidos sean comparativos para los distintos ingredientes.

Se han fijado dos objetivos fundamentales:

- (I) Buscar las condiciones tecnológicas más adecuadas para obtener geles con una resistencia máxima a partir de *surimi* de sardina.

(II) Estudiar el efecto de diferentes ingredientes en la gelificación de sistemas mixtos *surimi*- ingrediente en sistemas de variables conocidas y establecer una comparación entre ellos.

1.3 DISEÑO GENERAL DEL EXPERIMENTO

Para cubrir los objetivos se ha subdividido el trabajo en dos etapas diferentes:

En la primera de ellas se estudia la influencia en la textura final de los geles de parámetros tales como la humedad final del gel, tiempos de amasado, concentración de sal y tiempos y temperaturas de asentamiento y calentamiento. Para la elección de las condiciones óptimas y teniendo en cuenta que el número de variables es amplio, se realiza un tratamiento estadístico de bloques aleatorizados para un completo estudio de todas las variables en conjunto. Esta parte del trabajo se desarrolla en el Capítulo 3.

En el Capítulo 4, debido a la gran importancia del tratamiento térmico en los geles tanto por el tiempo como por la temperatura empleados, se han realizado estudios por separado de geles *suwari* y *kamaboko* con y sin asentamiento previo utilizando un amplio rango de temperaturas de asentamiento. Se determinan diferentes parámetros de textura para todas las temperaturas y tiempos estudiados y se realiza un estudio microscópico y electroforético de algunos geles seleccionados para determinar el tipo de red y el tipo de enlaces implicados en la formación de la red de AM.

En los Capítulos 5, 6, 7 y 8 se estudia la influencia de distintos ingredientes (almidón, clara de huevo, aislado de soja e iota y kappa carragenatos) en la textura, capacidad de retención de agua, ultraestructura y color de los geles mixtos de *surimi*-ingrediente asentados y sin asentar en las condiciones de gelificación óptimas del *surimi*. Este estudio se realiza en dos sistemas diferentes con concentraciones de ingrediente variables manteniendo constante o no la sustancia seca de los geles. El estudio se efectuó en cuatro concentraciones de

ingrediente en geles con almidón, clara de huevo y aislado de soja y dos para los geles con carragenatos por existir una limitación legal para su uso.

**Capítulo 2 -
MATERIALES Y METODOS GENERALES**

Capítulo 2.

MATERIALES Y METODOS

2.1 MATERIALES

2.1.1 *Surimi*

El *surimi* de sardina (grado AA) congelado en bloques de 10Kg y 10 cm de espesor fue suministrado por la empresa SCOMA (Lorient, Francia) y transportados con nieve carbónica por avión en envases de poliestireno. La especie utilizada fue *Sardina pilchardus* capturada en las costas del Atlántico (zona de Lorient, Francia). Una vez en el laboratorio se conservó durante el tiempo que duró la experiencia a $-18^{\circ}\text{C}(\pm 1)$ por ser la temperatura máxima admitida por la legislación española para pescados congelados (BOE nº 201, 1984). Se utilizaron un total de 50 Kg de cuatro lotes diferentes de *surimi* todos ellos de grado AA.

2.1.2 **Ingredientes alimentarios, aditivos químicos empleados en la elaboración de los geles y reactivos utilizados**

Todos los geles se elaboraron con cloruro sódico de Sigma Chemical Co. distribuido por Ramón Cornet S.A. (Madrid)

El almidón de maíz ceroso Clearam CH-20 de Roquette Freres fué suministrado por LAISA, Barcelona. Se trata de un almidón de maiz ceroso modificado (adipato de dialmidón acetilado).

Clara de huevo en polvo de Protein Technologies International (Barcelona).

Proteína aislada de soja PP500 de Protein Technologies International (Barcelona).

Iota carragenato "Gelcarin" XO-8000 de Litex S.A (Dinamarca)

Kappa carragenato "Secagel E" de Hispanagar S.A Barcelona.

Los reactivos utilizados se obtuvieron de las casas comerciales MERCK (Alemania), CARLO ERBA (Italia), PANREAC (España) y PROBUS (España); los patrones electroforéticos fueron suministrados por PHARMACIA IBERICA (España).

2.1.3 Medios Instrumentales

2.1.3.1. Elaboración de los geles

Stephan UM12 y UM5 homogeneizadoras cortadoras con sistema de refrigeración y vacío de 5 y 12 litros de capacidad. Ambas de A. Stephan y Söhne GmbH & Co. (Alemania).

Baño Julabo F10 provisto de un programador de temperatura Julabo PRG1 (Julabo Labortechnik, Gmbm, Seelbach. (Alemania)).

Horno Rational Combi-Master CM6 de Rational Groesküchentechnik GmbH (Alemania) con regulación de temperatura y humedad ambiental

Homogenizadora Sorvall Omni-Mixer modelo 17.106 con vasos de acero inoxidable (EE.UU.) y en homogenizadoras Osterizer modelo Pulse-Matic-16 (EE.UU.).

El almacenamiento del *surimi* y geles en congelación se realizó en cámaras frigoríficas Polymar e Industrias J-M a $-18^{\circ}\text{C}(\pm 1)$ y en arcones horizontales de congelación a temperaturas de $-18^{\circ}\text{C}(\pm 1)$ marca Zannussi-420 (España). El almacenamiento en refrigeración se realizó en cámara Polymar e Industrias J-M a $4^{\circ}\text{C}(\pm 1^{\circ}\text{C})$.

Envasadora a vacío marca Electromecánica Urbano (España). Para envasar las muestras se utilizaron bolsas Cryovac BB-1 con una permeabilidad al oxígeno de $6\text{cm}^3/24\text{h}/\text{m}^2/\text{at}$ a 23°C

Cortadora mecánica marca Braher, modelo F2, (Nordischer Masd, Alemania)

2.1.3.2 Determinaciones analíticas

Las centrifugaciones se han llevado a cabo en centrífugas refrigeradas Sorvall RT60008 y Sorvall RC-5B de Du Pont Co, Delaware (USA).

Agitación en agitadores IKA VIBRAX VXR de Janke y Kunkel (Alemania)

Las medidas espectrofotométricas se realizaron en dos modelos de espectrofotómetro. Varian, modelo SuperScan 3 (Holanda) e Hitachi, modelo 100-4004 digital UV-VIS (Japón). Se utilizaron cubetas de cuarzo 3 ml de capacidad y 1 cm de paso de luz y de 6 ml de capacidad y 2 cm de paso de luz, según la técnica.

pHmetro de la casa Radiometer, modelo PHM 63 Digital (Dinamarca).

Digestor 1007 y un destilador semimicro marca Tecator, modelo 1002, Assens Llofin (Suecia).

Viscosímetro rotatorio Brookfield modelo LVTD, MAB Industrial (Inglaterra).

La capacidad de emulsión del *surimi* se ha realizado en un aparato diseñado en el Instituto del Frío (modelo de utilidad 295.170. MU, 1986).

Las electroforesis (SDS-PAGE) fueron desarrolladas en un sistema horizontal Phastsystem (Pharmacia).

La determinación de color se realizó en un colorímetro Hunterlab D25-9 (Reston, Virginia). Se trata de un colorímetro diferencial triestímulo, el cual identifica el color situándolo en un espacio de tres dimensiones. Uno de los ejes tridimensionales es el índice fotométrico L, que varía entre 0 (negro) y 100 (blanco). Los otros ejes corresponden a los índices cromáticos, a y b: +a representa el color rojo, -a el verde, +b el color amarillo y -b el azul.

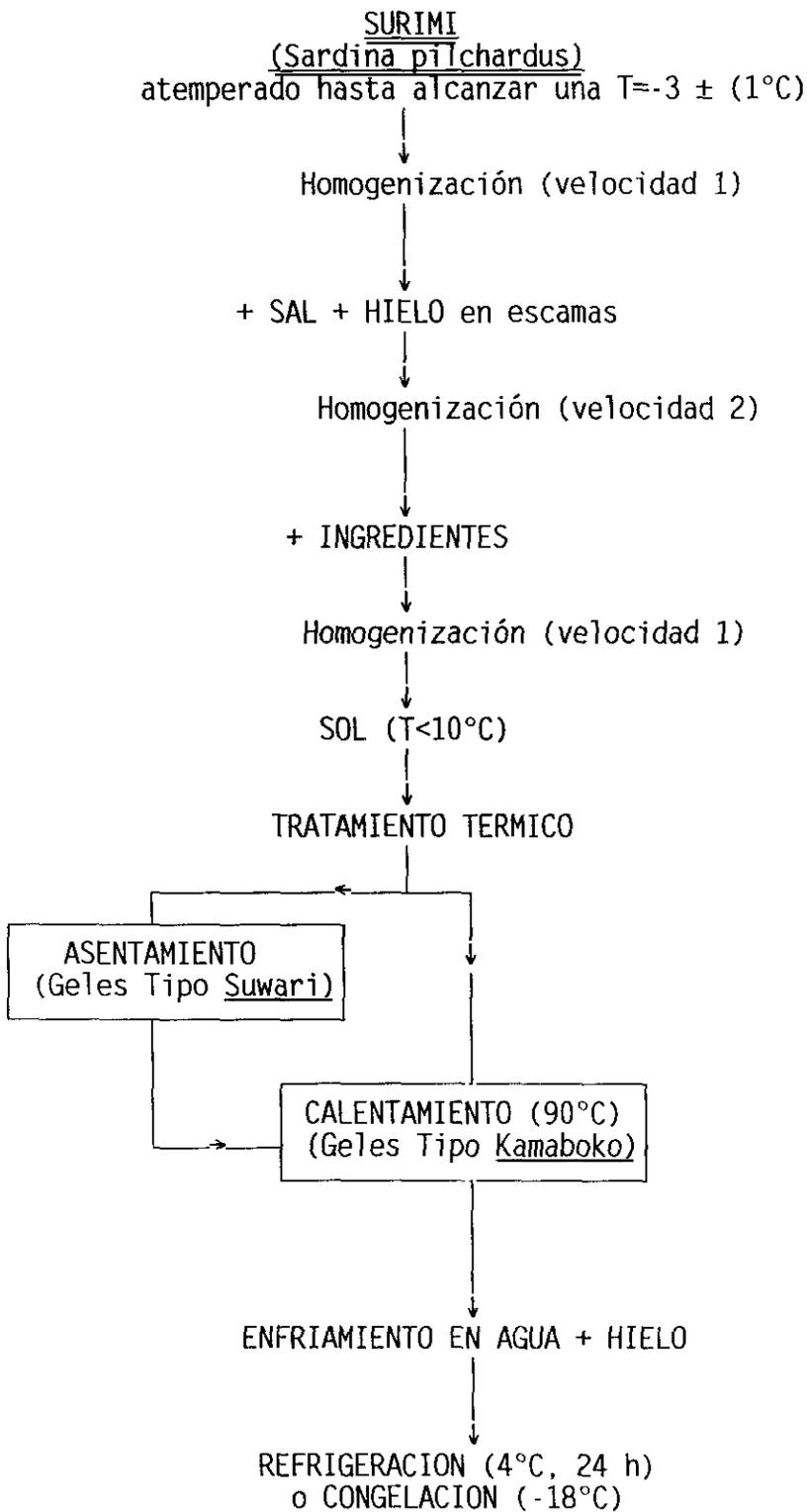


Fig 2.1 Esquema de elaboración de los geles de *surimi*

Para las determinaciones objetivas de textura se ha utilizado un Texturómetro Universal Instron modelo 4501 (Instron Engineering Corp., Canton, MA, EEUU) utilizando un ordenador Hewlett Packard, Mod Vectra ES/12.

Microscopio de barrido Jeol Scanning Microscope (JSM 6400).

Desecador Balzer modelo CPDO30.

Metalizadora Balzer modelo SCDOO4.

2.2 METODOS

2.2.1 Condiciones de conservación del *surimi*

Los bloques de *surimi* congelados se cortaron en bloques de unos 500 g aproximadamente. Seguidamente se envasaron a vacío, obteniéndose en el interior de la bolsa una presión de 80 Torr. y se almacenaron en cámaras frigoríficas a una temperatura de -18°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$)

2.2.2 Elaboración de los geles de *surimi*

La elaboración de los geles de *surimi* se ha realizado siguiendo el protocolo general descrito en la Figura 2.1.

Previamente a elaborar los geles, los bloques de *surimi* se atemperaron durante 12 horas a 4°C hasta alcanzar una temperatura de -3°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). Los geles se prepararon en una cortadora homogenizadora marca Stephan en condiciones de vacío (salvo excepciones) (0.1 bar con respecto a la presión atmosférica) a -5°C (± 1) con el líquido refrigerante recirculando.

Los bloques de *surimi* se cortaron en porciones más pequeñas que se trituraron durante un minuto a velocidad rápida (velocidad 1). Se añadió después el cloruro sódico junto con

agua en forma de hielo en escamas (necesario para ajustar a la humedad deseada) y se mezcló durante un tiempo que varió en función de la velocidad lenta (velocidad 2). Si se elaboran geles con ingredientes alimentarios estos se mezclaron a velocidad rápida durante el tiempo requerido. Para la mayor parte de los ingredientes se estableció un tiempo de dos minutos.

La masa obtenida se sometió a tratamiento térmico en cilindros individuales de acero inoxidable de 30 mm de diámetro interior y 30 mm de altura, diseñados específicamente para este trabajo. Los cilindros se cierran herméticamente mediante rosca con junta de goma lo que evita modificaciones de volumen y entrada de agua que se podrían producir durante el tratamiento térmico.

El tratamiento térmico de los geles se realizó en horno con vapor a saturación cuando se utilizaron temperaturas de 90°C. Para el resto de las temperaturas empleadas se utilizó el baño.

2.2.3 Conservación de los geles previa a su estudio

Una vez obtenido el gel se enfrió en hielo con agua y se mantuvieron durante 24 horas en cámara de refrigeración a 4°C antes de la realización de los análisis correspondientes. Parte de las muestras se congelaron a -18°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) para su estudio ultraestructural.

2.3 ANALISIS EFECTUADOS

2.3.1 Análisis efectuados en *surimi*

2.3.1.1 Análisis elementales

En los lotes de *surimi* congelados y por triplicado se analizó pH contenido en proteína bruta, grasa bruta, humedad y cenizas. Estos parámetros fisicoquímicos se realizaron con objeto de fijar las condiciones de trabajo con diferentes *surimis* en condiciones homogéneas

y complementar e interpretar las modificaciones de textura y del comportamiento mecánico causadas por los distintos factores a estudiar.

2.3.1.1.1 pH

El pH se determinó según la técnica recomendada por Vyncke (1981), a temperatura ambiente.

2.3.1.1.2 Proteína bruta

Se utilizó el método Kjeldahl, siguiendo la técnica oficial de la AOAC 24024 (1975). El porcentaje de proteína bruta se calculó a partir del porcentaje de nitrógeno total, utilizando el factor de conversión 6,25 (Lillevik, 1970). Los resultados se expresan en porcentaje de proteína bruta respecto al *surimi*.

2.3.1.1.3 Grasa bruta

Se determinó por el método de Bligh y Dyer (1959) modificado por Knudsen y col. (1985). Este método se considera de elección para determinar en músculo niveles bajos de grasa. Los resultados se expresan en porcentaje respecto a *surimi*.

2.3.1.1.4 Humedad

Se siguió el método recomendado por la AOAC (1975), técnica n° 24.003, expresando el resultado en porcentaje respecto a *surimi*.

2.3.1.1.5 Cenizas

Se determinaron según técnica 18.021 de la AOAC (1975). Los resultados se expresan en porcentaje respecto a *surimi*.

2.3.1.2 Propiedades funcionales

2.3.1.2.1 Viscosidad

Se determinó según la técnica descrita por Borderías y col. (1985) utilizando un viscosímetro Brookfield modelo LV, a una velocidad de 12 rpm; se hicieron lecturas cada tres minutos. Los valores obtenidos se expresan en centipoises (cP).

2.3.1.2.2 Capacidad de emulsión

Se siguió la técnica descrita por Tejada y col. (1987) utilizando un sistema automático de incorporación de aceite. La capacidad de emulsión se expresa como gramos de aceite emulsionado por gramo de *surimi*.

2.3.1.2.3 Capacidad de formar gel

Se siguió el protocolo descrito en el apartado 2.2.2 utilizando 200 g de *surimi* aproximadamente. Los geles se sometieron a un tratamiento térmico con asentamiento a 40°C durante 30 minutos seguido de un calentamiento a 90°C durante 30 minutos, ambos en un baño de agua. Pasadas las 24 horas en refrigeración se cortaron rodajas de 3 mm de grosor, se doblaron por la mitad y a su vez por la mitad con objeto de determinar la calidad del gel mediante la prueba de resistencia al plegado. Suzuki (1981) clasifica la calidad de los geles por este método de acuerdo a los siguientes cinco grados:

Grado 5 (AA):	después de doblar dos veces no se observa rotura
Grado 4 (A):	después de doblar una vez no se observa rotura
Grado 3 (B):	cuando se esta doblando una vez existe rotura gradual
Grado 2 (C):	cuando se dobla se rompe inmediatamente
Grado 1 (D):	se rompe con la sola presión de los dedos

2.3.2 Análisis efectuados en los geles de *surimi*

2.3.2.1 Humedad

El mismo método que el descrito para *surimi*, expresando el resultado en porcentaje respecto a gramos de gel.

2.3.2.2 Análisis instrumental de la textura

La evaluación objetiva de la textura de un alimento sólido requiere de la medida de las magnitudes fuerza, deformación y tiempo (Voisey 1976). Para ello el sistema de medida debe poseer un mecanismo para deformar la muestra de forma controlada, un sistema de registro de la fuerza, tiempo y deformación y una célula de ensayo en la que se coloca y deforma la muestra.

La utilización de diferentes células de ensayo, determinará la manera en que las fuerzas son aplicadas al producto y cómo se distribuyen estas en el mismo, así como que tipo de reacción resultante predominará: tracción, compresión o corte.

Para este trabajo mediante ensayos previos se han seleccionado las células y rangos para medir la textura de los geles. De igual modo para cada ensayo se han determinado la velocidad de deformación y cabezal y rango para medir la textura.

Todos los ensayos se realizaron en las probetas de gel de 30 mm de altura y 30 mm de diámetro atemperadas hasta que la probeta alcanza la temperatura de 20°C ($\pm 1^\circ\text{C}$).

2.3.2.2.1 Ensayos mecánicos empíricos

2.3.2.2.1.1 Ensayo de penetración. Determinación de la resistencia del gel

Se trata de una prueba sencilla muy utilizado como medida objetiva de la textura de los geles de *surimi*. Es el método standar que utiliza la industria para el control de calidad

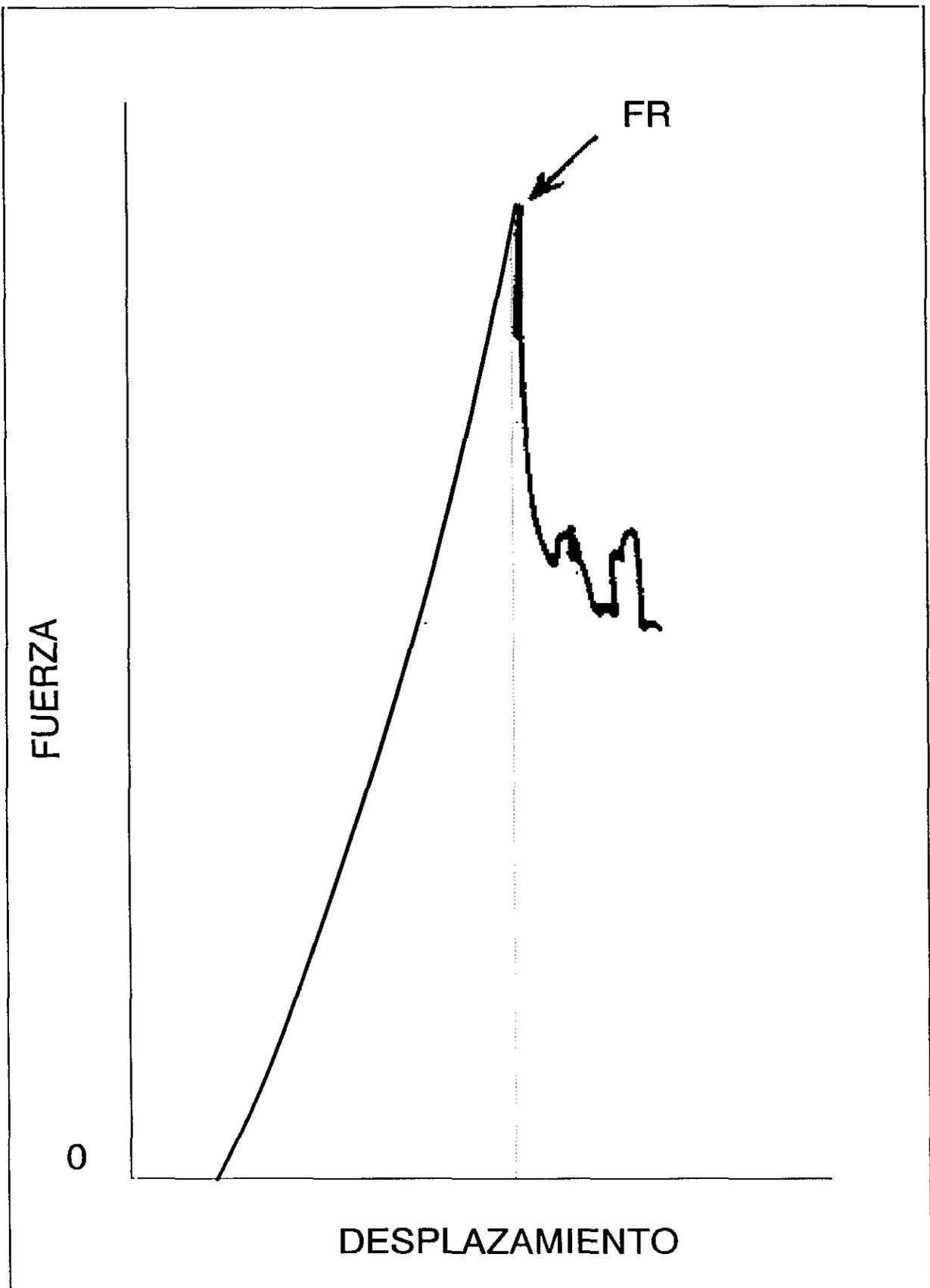


Fig 2.2 Ensayo de Penetración

del *surimi* (Okada, 1963; Suzuki, 1981; OFCF, 1984; Lanier y col., 1985a y b; Sonu 1986; Lanier 1992) y se correlaciona significativamente con las propiedades sensoriales de los geles (Hamann y Macdonald 1992).

La medida se obtuvo penetrando el gel con una sonda de 5 mm de diámetro y de punta esférica. La velocidad de la cruceta fué de 10 mm/min utilizando la célula de carga de 100N.

La resistencia del gel (Fig 2.2) se registró en función de la distancia de penetración obteniéndose valores de fuerza máxima a la rotura del gel (FR) (en Newtons (N)) y deformación hasta el momento de la rotura del gel (DR) (en milímetros (mm)). La resistencia del gel (RG) se obtuvo como el producto de los dos valores.

2.3.2.2.1.2 Determinación del módulo de rigidez

Se determinó el **módulo de rigidez** de la masa registrando la rigidez mediante un barrido térmico (*thermal scanning rigidity monitor* (TSRM)) basado en el modelo propuesto por Hamann (1987) y modificado por Carballo y col. (1992). La muestra se evaluó en un cilindro interno que se ajustaba a una cámara cilíndrica de doble pared para recircular agua, de 2cm de diámetro y 7,5 cm de altura que forma parte del accesorio para muestras pequeñas del viscosímetro rotacional Brookfield. Esta cámara fué montada en el texturómetro. Un vástago ranurado de punta plana de 18 mm de diámetro se fijó a una célula de 100 N conectada al texturómetro. Las muestras fueron cargadas en la cámara que a su vez se conectó a un baño provisto de un programador de temperaturas. La superficie de la muestra se cubrió con unas gotas de aceite para evitar la deshidratación y formación de película (Montejano y col., 1984). La muestra se calentó desde 10 a 90°C a una velocidad de 1°C/minuto. Se utilizó un ordenador Hewlett Packard Mod. Vectra ES/12 para mover el cabezal 0.2mm a una velocidad de 0,5 mm/min a intervalos de 2 minutos.

El **módulo de rigidez** se calculó por medio de la ecuación $G = [F \ln(R_1/R_2)]/2\pi DL$; donde F es fuerza máxima (N); D es el desplazamiento del vástago (0.0002 m, L es la

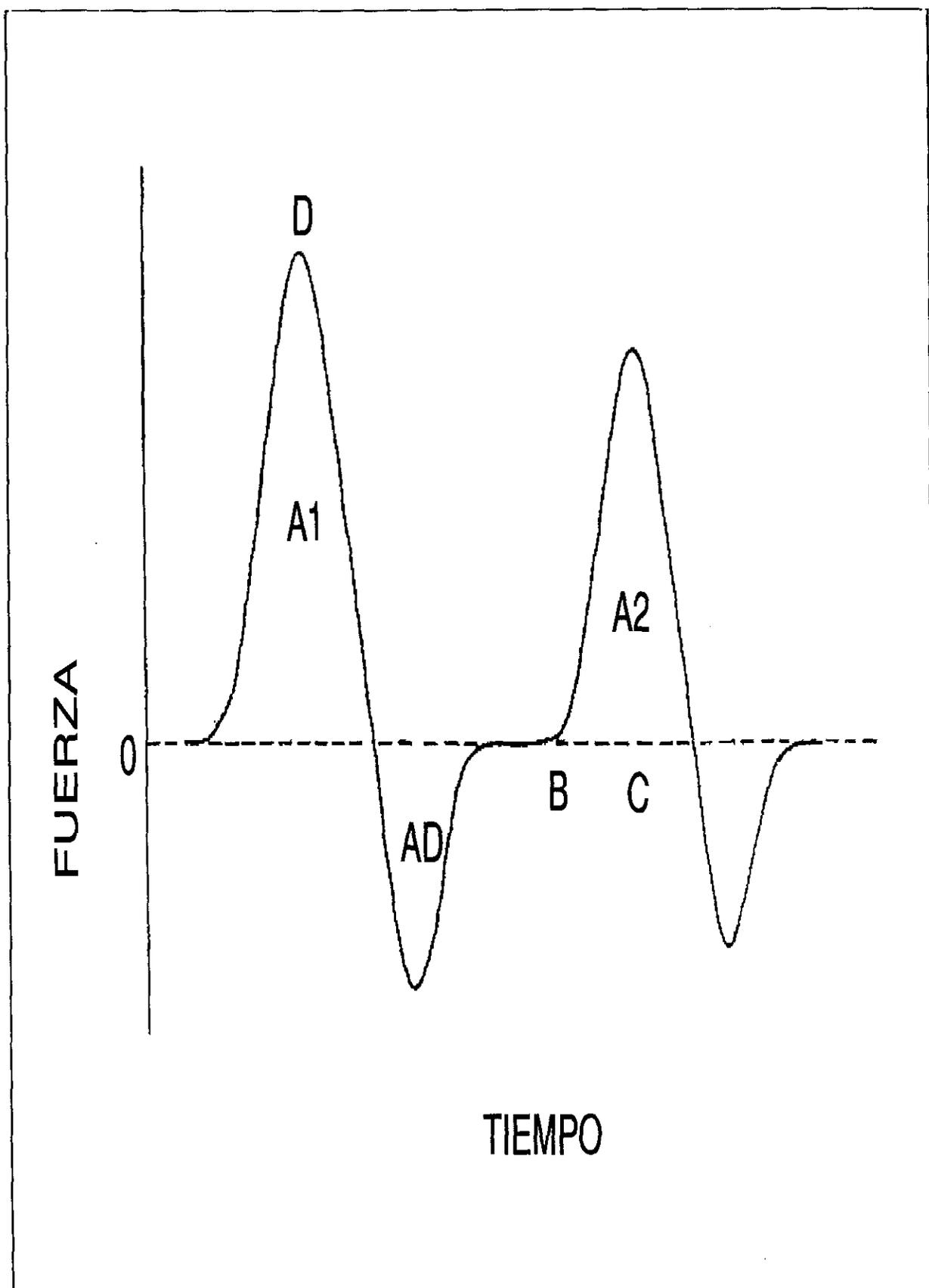


Fig 2.3 Ensayo de Ciclos de Compresión

longitud del vástago en contacto con la muestra (0,05 m), R_1 es el radio del vástago (0,009 m) y R_2 es el radio interior del cilindro (0,022 m). La medida se efectuó en KPa.

2.3.2.2.2 Ensayos mecánicos imitativos

2.3.2.2.2.1 Ensayo de ciclos de compresión

Para una correcta determinación de todos los parámetros, se realizaron pruebas previas de compresión a rotura con el fin de unificar para cada tipo de gel (*suwari* o *kamaboko*) el porcentaje de compresión que debía ser aplicado en el ensayo, estableciendo utilizar compresión al 30% para los geles tipo *suwari* y del 50% para los geles *kamaboko*. Se trata de los porcentajes de compresión máximos que se pueden aplicar sin que tenga lugar una destrucción macroscópica en la mayoría de los geles.

Para los ciclos de compresión uniaxial de las probetas que constituyen la muestra a ensayar, estas se colocan en la placa plana del texturómetro. A la célula de carga se le adapta un yunque cilíndrico de 36 mm de diámetro, realizándose la compresión a una velocidad de deformación de 50 mm/min utilizando una célula de carga de 5 KN. Para la realización del ensayo se comprime dos veces la misma probeta obteniendo la curva que se representa en la Figura 2.3. Para cada tipo de gel se han realizado un mínimo de tres repeticiones.

Los parámetros medidos han sido los siguientes:

Dureza (D): altura del primer pico que aparece en la primera compresión

Cohesividad (A_2/A_1): relación entre las áreas positivas de la segunda y primera compresión.

Adhesividad (AD): área negativa de la primera compresión que representa el trabajo necesario para vencer las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de otro material

Elasticidad (BC): distancia que se registra entre el final de la primera compresión y el máximo de fuerza de la segunda. Se interpreta como la capacidad que tiene un cuerpo una vez deformado de volver a su estado anterior

Gomosidad: energía requerida para desintegrar un alimento semisólido para poder tragarlo. Está relacionado con los parámetros primarios de dureza y cohesividad. Se calcula multiplicando los resultados de dureza por los de cohesividad

2.3.2.2.3 Prueba de plegado

Se realizó según se indica en el apartado **2.3.1.2.3**

Todas las determinaciones de la prueba de plegado (TP) se realizaron al menos por triplicado.

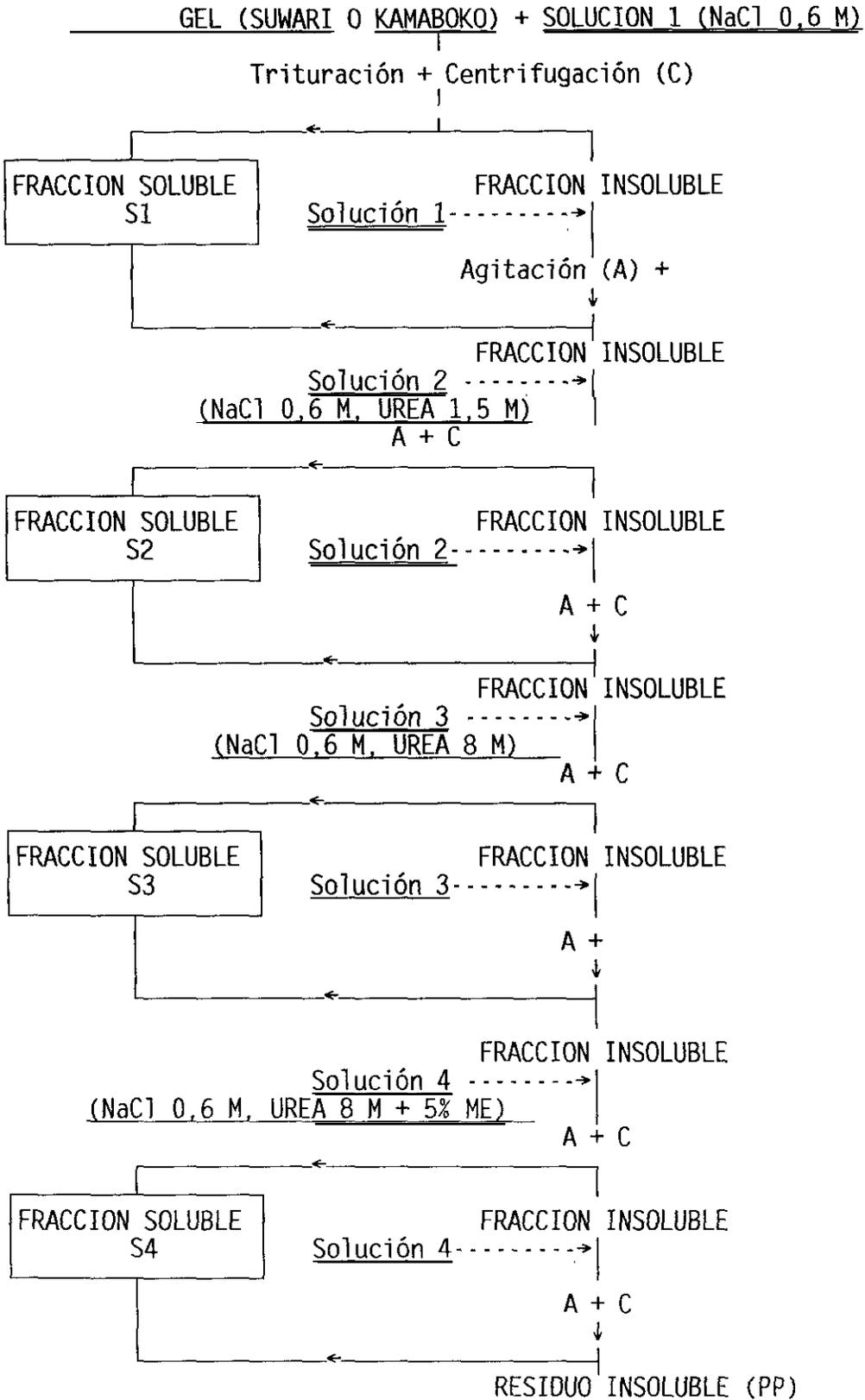
2.3.2.3 Determinación del color

Los geles se cortaron en rodajas de 13 mm de grosor y se introdujeron en placas petri de 11 cm de diámetro. El instrumento se calibró frente al color negro y frente al color blanco, de coordenadas $X=82,51$, $Y=84,53$, $Z=101,23$. Los resultados se expresan en coordenadas L^* , a^* , b^* .

Todas las determinaciones se realizaron al menos por triplicado.

2.3.2.4 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua

Se realizó según la técnica descrita por Roussel y Cheftel (1988, 1990) modificada por Alvarez y col. (1992). Se cortaron en trozos pequeños dos gramos de muestra atemperada a 20°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). Se envolvieron en papel de filtro Whatman n°1 de 11 cm de diámetro y se procedió a centrifugar en una centrifuga Sorvall RT60008 a 3000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente. La capacidad de retención de agua (CRA) se expresa como porcentaje de agua retenida por cada 100g de agua presente en el gel antes de centrifugar.



En todas las fracciones solubles se determinaron la concentración de proteína y perfil electroforético y en las fracciones S1, S2 y S3 grupos SH. En el residuo insoluble se realizó el perfil electroforético. A=Agitación; C=Centrifugación (5000 rpm).

Fig 2.4 Obtención de las fracciones S1, S2, S3, S4 y PP

2.3.2.5 Estudio microscópico

El estudio microscópico se ha realizado en el Centro de Microscopía Electrónica de la UCM.

Para la observación microscópica se cortaron los geles seleccionados en cubos de 2 a 3 mm de lado del centro de los geles. Las muestras fueron fijadas en glutaraldehído (2%) en tampon fosfato (pH 7,3). Posteriormente se deshidrataron en series crecientes de acetona (de 40% hasta el 100%) y fueron montadas sobre portamuestras de cobre. La desecación posterior se realizó en el punto crítico con CO₂ como fluido de transición en una desecadora. Seguidamente se sometieron a un sombreado metálico con oro coloidal en columna metalizadora. Las muestras se conservaron en desecador hasta el momento de su observación. Finalmente se observaron con un microscopio de barrido a una tensión de 20Kv. De cada gel se obtuvieron micrografías a 50, 500, 6000, 10000 y 20000 aumentos.

2.3.2.6 Obtención de los extractos proteicos analizados

2.3.2.6.1 Estudio de los enlaces formados

Los geles proteicos obtenidos según el apartado 2.2.2 se trataron con agentes seleccionados por su capacidad de romper tipos de enlaces específicos.

Para determinar la incidencia de cada tipo de enlace, los geles se solubilizaron parcial y sucesivamente con 0,6 M NaCl (Solución 1), 0,6 M NaCl 1,5 M de urea (Solución 2), 0,6 M NaCl, 8 M de urea (solución 3) y 0,6 M NaCl, 8 M de urea y 5% de β -mercaptoetanol (ME) (solución 4), que rompen los enlaces de tipo iónico, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y puentes disulfuro respectivamente (Tsuchiya y col., 1979; Wall y Huebner, 1981) siguiendo el protocolo descrito en la Figura 2.4. Para ello se trocearon cantidades adecuadas de los respectivos geles se pesaron 0.9 g y se trituraron en mortero con 10 ml de 0,6 M NaCl, durante 5 minutos a temperatura ambiente. A continuación se centrifugaron a 5000 rpm durante 30 minutos. Se recogieron precipitado (PP) y sobrenadante (S), y se midió

el volumen de este último. Se transfirieron a tubos de centrifugación recogiendo la muestra con otros 10 ml de solución. Se centrifugaron a 5000 rpm durante 30 minutos. Se recogieron las fracciones insolubles (PP) y sobrenadantes (S) y se midió el volumen de estos últimos. Posteriormente se agitaron durante 24 horas a temperatura ambiente. Al precipitado obtenido después del tratamiento con la primera solución, se añadieron 20 ml de la solución 2, se agitaron enérgicamente los tubos y se dejaron en agitación mecánica 24 horas. El protocolo se siguió sucesivamente hasta separar precipitado y sobrenadante con la solución 4, obteniéndose las fracciones S1, S2, S3 y S4 correspondiendo a la proteína solubilizada por las soluciones 1, 2, 3, y 4 respectivamente y la fracción PP que quedó como residuo insoluble.

2.3.2.6.2 Determinación de solubilidad proteica

La concentración de proteína en las fracciones S (1-4) (Fig 2.4) se determinó mediante el método de microbiuret (Itahaki y Gill, 1964). Debido a la interferencia de ME en la técnica 1 ml de las fracciones de S4 se precipitaron primero con 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 24%, se dejaron reposar 1 hora en hielo centrifugándolas posteriormente a 5000 rpm durante 10 minutos. Estos precipitados obtenidos se trataron con 5 mL de TCA al 12% repitiéndose el paso anterior. El precipitado obtenido se solubilizó con 0,6 M de NaCl 8 M de Urea (solución 3) y se procedió a la determinación de proteína como en los casos anteriores utilizando curvas patrón específicas para cada disolución. Los resultados se expresaron en mg de proteína solubilizada en 0.9 g de muestra (104 mg de proteína).

2.3.2.6.3 Determinación de grupos -SH

Los grupos -SH de las fracciones S (1-4) se determinaron según el método de Hardham (1981). Los resultados se expresaron en micromoles de -SH por proteína soluble.

2.3.2.6.4 Estudio electroforético

Se utilizaron geles de poliacrilamida al 12,5% y en gradiente del 4-12,5%. Las concentraciones de proteína utilizadas fueron diferentes dependiendo de las distintas fracciones y oscilaron entre 0,05 y 1,6 mg/mL de proteína para las fracciones solubles y 0,1 g de fracción insoluble. Las muestras se calentaron a 100°C durante 5 minutos. Se aplicó 1 μ l de muestra. Todas las electroforesis se realizaron a 4 mA/gel y 5°C. La tinción de las bandas de proteínas se hizo con azul de coomassie brillante.

2.4 ANALISIS ESTADISTICO

Se realizaron análisis de varianza de 2 vías en función de las distintas variables a estudiar utilizando el programa Statgraphics STSC Inc. (USA). La diferencia de medias entre pares se resolvió mediante los intervalos de confianza realizados con una prueba de rango LSD. El nivel de significación se estableció para $P < 0,05$.

Capítulo 3

Capítulo 3.

ESTUDIO DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE GELIFICACION DEL *SURIMI* DE SARDINA

3.1 INTRODUCCION

El proceso de gelificación del surimi solubilizado con sal ha sido ampliamente estudiado y aun así resulta complejo, ya que en el intervienen numerosos factores.

Para determinar inicialmente las condiones óptimas de gelificación del surimi de sardina al solubilizar la actomiosina (AM) con sal se realizó un tratamiento estadístico de bloques aleatorizados. Se intentó de esta manera obtener la información necesaria acerca de la gelificación del surimi de sardina con el fin de poder hacer un estudio adecuado de la incorporación de diferentes ingredientes seleccionados por su capacidad gelificante, según datos bibliográficos o trabajos previos realizados en nuestro laboratorio. Para dicho estudio se tuvieron en cuenta los parámetros que se consideran más importantes en la gelificación:

- 3.1.1 humedad final del gel
- 3.1.2 tiempos de amasado del surimi con sal
- 3.1.3 concentración de sal
- 3.1.4 temperaturas de calentamiento
- 3.1.5 tiempos de calentamiento

Para cada porcentaje de humedad, tiempo de amasado y concentración de sal se estudió el efecto de diferentes tiempos y temperaturas de asentamiento y distintos tiempos de calentamiento a 90°C.

3.1.1 Humedad final del gel

Uno de los factores que más afectan a la textura final de los geles es la humedad (Hamann 1990, AFDF 1987, Lanier 1986, Lee 1984). Por tratarse de un hidrogel (geles con agua atrapada entre la malla), el contenido en agua del gel incide de forma directa en la gelificación. Generalmente la RG disminuye a medida que aumenta el contenido en agua (Lee 1984, Hamann 1990) ya que disminuyen tanto la DR como la FR. Sensorialmente cambios de contenido en agua reflejan cambios en firmeza, elasticidad y jugosidad de los geles. Como resultado de estudios previos realizados en nuestro laboratorio con surimi de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Alvarez y col., 1990) se vió tanto por la estructura como por la microestructura que existía una humedad óptima del 78% que favorecía una correcta gelificación de la proteína miofibrilar obteniendo valores altos de RG.

Para el estudio en *surimi* de sardina se eligieron inicialmente tres niveles de humedad del 76%, 78% y 80%. El 80% de humedad es una humedad elevada para considerarla como humedad óptima de gelificación del *surimi* pero se introdujo con el fin de hacer un estudio de la textura de los geles para tenerlo en cuenta cuando se incorporan ingredientes ya que muchos requieren agua para gelificar.

3.1.2 Tiempos de amasado

El tiempo de amasado es un factor relacionado con la temperatura de amasado ya que con tiempos largos se genera calor. Es necesario encontrar tiempos de amasado con los que la temperatura del sol no sea tan elevada que provoque una temprana insolubilización de las proteínas seguido de la formación de polímeros de cadenas pesadas de miosina (Kato y col, 1989a). Lee y Toledo (1976) hacen un estudio sobre la influencia de este parámetro y recomiendan para una especie de caballa (*Scomberomorus maculatus*) solubilizar la proteína a temperaturas inferiores a 16°C. Ishikawa (1978) encuentra que en sardina la insolubilización de la proteína comienza cuando la temperatura alcanza los 15°C y Wu (1992) y Lee (1984) sin embargo encuentran que para el *surimi* de abadejo de Alaska la insolubilización comienza

a los 10°C. Según este último autor, las especies de aguas templadas como la caballa y corbina pueden tolerar temperaturas más elevadas que las especies de aguas frías como el abadejo de Alaska todo ello debido a que la termoestabilidad de la actomiosina está íntimamente relacionada con la temperatura del pez y por tanto de la temperatura del medio que habita. Así mismo, tiempos prolongados de amasado sin sobrepasar los 10°C incrementan la RG (Wu, 1992).

Los tiempos elegidos cinco, siete y diez minutos se consideran suficientes para una correcta solubilización de la proteína con la sal. Estos tiempos se seleccionaron teniendo en cuenta resultados previos obtenidos en el laboratorio en las mismas condiciones de trabajo con *surimi* de abadejo de Alaska. Utilizando la mezcladora Stephan UM12 en las condiciones de temperatura y de vacío ya descritas en el apartado 2.2.2 del capítulo 2 se establecieron unos tiempos mínimos necesarios para solubilizar la proteína (de 5 minutos). Con 7 y 10 minutos se pretende hacer un estudio de la influencia de la prolongación de los tiempos de amasado en la RG ya que al incorporar diferentes ingredientes es necesario mezclar estos con la masa durante más tiempo. La temperatura de la masa nunca sobrepasó los 10°C. Durante el homogeneizado se emplearon condiciones de vacío de 0.1 bar con respecto a la presión atmosférica ya que la RG es mayor cuando se elaboran en condiciones de vacío debido a que aumenta la densidad del gel (Babbitt y Reppond, 1988).

3.1.3 Concentración de sal

Se considera que los geles son más elásticos y fuertes a medida que se incrementa la concentración de sal (Sano 1988).

La cantidad mínima de sal para extraer la proteína miofibrilar del músculo a pH 7 es de aproximadamente un 2% (0.4M) del peso del músculo (Suzuki 1981). Comercialmente, para la elaboración de diferentes productos tipo *kamaboko* se suele utilizar un rango de concentraciones del 2.5% al 4%. Concentraciones más bajas producen geles blandos y más elevadas sabores excesivamente salados (Okada y col 1973). Además, si la concentración de

sal es demasiado alta se produce el fenómeno denominado "salting out" y las proteínas no se disuelven en la solución salina por lo que no se forma el gel (Suzuki 1981).

En sardina y caballa tiene lugar un descenso del pH en el estado de rigor hasta 5,6-5,8, lo que no ocurre en pescados magros. Por este motivo, para hacer kamaboko es necesario aumentar la fuerza iónica hasta 0.6M ya que cuando disminuye el pH la concentración de sal necesaria para solubilizar la AM es mayor (Suzuki 1981).

Se eligieron tres niveles: 2.5, 3 y 3.5 g/100 g de *surimi*.

3.1.4 Temperaturas de calentamiento

El calentamiento de los geles puede hacerse con asentamiento previo a temperaturas inferiores a 50°C o calentandolos directamente a temperaturas entre 80–100°C.

Los geles de *surimi* pueden calentarse a temperaturas más elevadas que los de carne roja o de pollo sin reducir su capacidad de retención de agua o su fuerza del gel (Hamann 1990).

La temperatura óptima de asentamiento depende de la especie (Kim y col., 1986). Así, para el abadejo de Alaska son 25°C, para el Atlantic croaker 35-40°C (Lanier y col., 1982) y para la trucha (*Cynoscion arenarius*) de 40°C (Kim y col., 1986). Otras especies de agua fría parecen comportarse igual que el abadejo (Hamann 1990). En el caso de la sardina, Ishikawa (1978) encuentra que 30°C es la temperatura de setting con la cual obtiene mejores geles y Roussel (1988) a temperaturas de 4°C y 37°C. La sardina es una especie con una gran capacidad de formar geles tipo *suwari*, sin embargo se considera que forma los geles tipo *kamaboko* blandos y poco elásticos (Suzuki, 1981).

Según la bibliografía consultada (Okada, 1963; Suzuki, 1981; Niwa y col., 1987; Niwa y col., 1988a y b; Ishikawa, 1978; Roussel, 1988; Sano, 1988; Lanier y col., 1982) y también en base a nuestra propia experiencia de trabajos preliminares con *surimi* de abadejo de Alaska, se establecieron en este estudio diferentes temperaturas de asentamiento de los geles que cubren un rango óptimo para sardina y otras especies. Las temperaturas elegidas para este estudio fueron de 25°C, 35°C, 40°C. No se tuvieron en cuenta en esta fase temperaturas superiores por encontrarse estas cercanas al fenómeno de "*modori*" (entre 50°C y 60°C) (Sano 1988) pudiendo interferir seriamente en la formación del gel.

Como temperatura de calentamiento posterior al asentamiento y de calentamiento directo se eligió 90°C.

En estudios previos se vió como las temperaturas de calentamiento comprendidas en un rango entre los 80°C y 100°C nos daban resultados similares lo que no ocurre con las temperaturas de asentamiento en donde variaciones más pequeñas producen importantes cambios en la textura final de los geles ya que se favorecen diferentes tipos de enlaces que hacen que la textura final del gel sea diferente.

3.1.5 Tiempos de calentamiento

El tiempo de calentamiento es un factor importante para la formación de la red proteica. Se necesita un tiempo para que la red se forme, que se relaciona inversamente con la temperatura, sin embargo tiempos prolongados aumentan la deshidratación y los geles son más frágiles y por tanto menos cohesivos (Lanier y col 1982).

Niwa (1992) y Sano (1988) han demostrado que si el asentamiento de los geles tiene lugar a una elevada temperatura y durante un tiempo suficiente, se pueden llegar a formar incluso puentes disulfuro, enlaces que tradicionalmente se pensaba solo se formaban a temperaturas más elevadas. A temperaturas de 25°C se ha descrito la formación de enlaces covalentes debido a la acción de transglutaminasas (Sano, 1988; Seki y col., 1990; Tsukamasa y Shimizu 1990).

Tabla 3.I Analisis elementales y pH de cuatro lotes diferentes de *surimi*.

LOTES DE <i>SURIMI</i>	% PROTEINA BRUTA	% GRASA BRUTA	% HUMEDAD	% CENIZAS	pH
1	13.13	3	75.8	0.6	6.6
2	12.32	3.3	77.4	0.6	7.3
3	17.34	1.4	74.0	0.6	7.2
4	11.88	3.5	77.8	1	7.4

Tabla 3.II Determinación de viscosidad, capacidad de emulsión, test de plegado (TP) y resistencia del gel (RG) de cuatro lotes diferentes de *surimi*.

LOTES DE <i>SURIMI</i>	VISCOSIDAD (cP)	CAPACIDAD DE EMULSION g aceite/ g <i>surimi</i>	TEST DE PLEGADO
1	8900	42.11	5
2	1316	45.58	5
3	13300	40.87	5
4	2110	40.87	5

Tabla 3.III Porcentaje de proteína total y sólidos totales en geles con 76, 78 y 80% de humedad final

% HUMEDAD	% PROTEINA TOTAL	% SOLIDOS TOTALES
76	11.89	24
78	10.69	22
80	9.90	20

Como tiempos de calentamiento se eligieron 40, 60 y 90 minutos para las temperaturas de asentamiento y 40 y 60 minutos para las temperaturas de calentamiento. Para estudios posteriores se eligieron tiempos de asentamiento de 30 minutos ya que los resultados obtenidos mostraron valores muy similares. Se pretende con este estudio ver el efecto de tratamientos de tiempo prolongados a las diferentes temperaturas.

La selección de parámetros para realizar el diseño estadístico ha sido la siguiente:

HUMEDAD FINAL DEL GEL	76, 78 Y 80%
TIEMPOS DE AMASADO	5, 7 Y 10 MINUTOS
CONCENTRACION DE SAL (NaCl)	2,5, 3 Y 3,5 g/100g de <i>SURIMI</i>
TEMPERATURAS DE ASENTAMIENTO	25, 35 Y 40°C
TEMPERATURA DE CALENTAMIENTO	90°C
TIEMPOS DE ASENTAMIENTO	40, 60 Y 90 MINUTOS
TIEMPOS DE CALENTAMIENTO	40 Y 60 MINUTOS

3.2 RESULTADOS Y DISCUSION

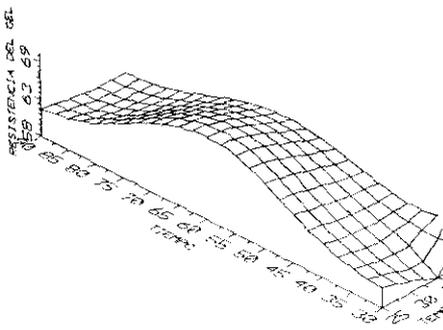
Debido al gran número de resultados obtenidos en este estudio, las gráficas muestran para cada variable únicamente las condiciones para las que se consiguieron mayor número de resultados y en donde se observa una tendencia clara de los mismos.

3.2.1 Análisis efectuados en *surimi*

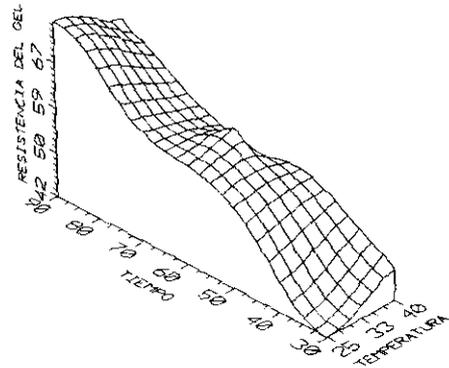
Los resultados obtenidos de los análisis efectuados en los distintos lotes de *surimi* de sardina (*Sardina pilchardus*) se muestran en las tablas 3.I y 3.II.

En la tabla 3.I se observa que para los lotes 1, 2 y 4 hay muy poca variabilidad en su composición siendo los resultados muy similares. El lote 3 presenta un mayor contenido

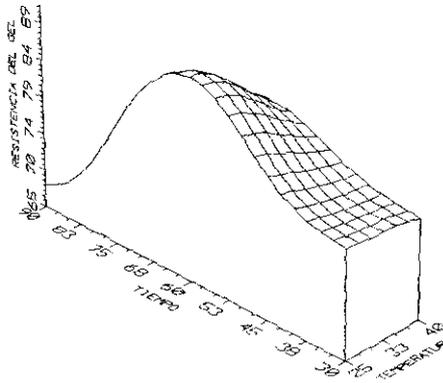
A) 76% humedad



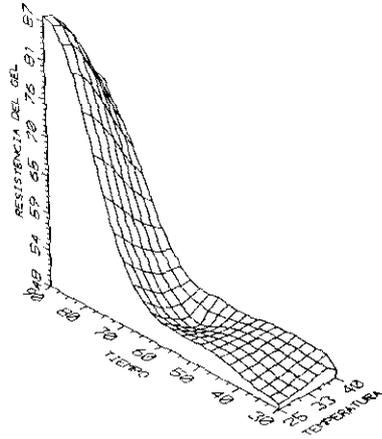
B) 76% humedad



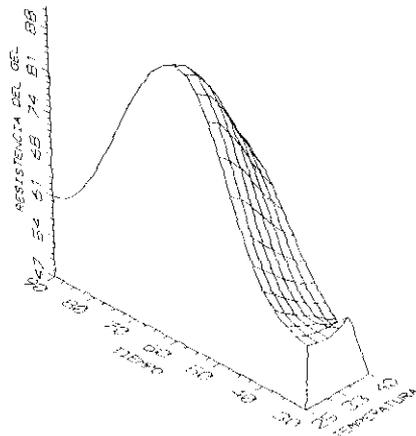
C) 78% humedad



D) 78% humedad



E) 80% humedad



F) 80% humedad

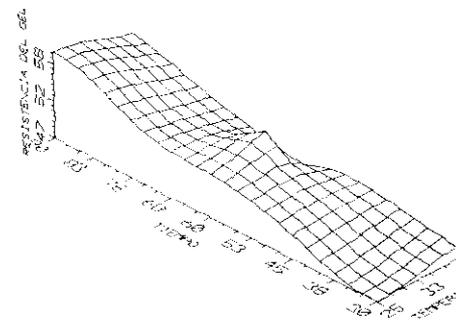


Fig. 3.1 Curvas de superficie de geles con 2,5g NaCl/100g de *surimi* calentados a 90°C durante 40 minutos (A,C y E) y 60 minutos (B, D y F).

en proteína y un más bajo contenido en lípidos y humedad. El lote 1 obtuvo el valor de pH más bajo de todos los lotes.

En cuanto a los resultados de las diferentes pruebas de funcionalidad (tabla 3.II) se aprecian pocas variaciones entre los distintos lotes para las determinaciones de capacidad de emulsión y test de plegado. En lo referente a la viscosidad sí existen mayores diferencias en función del lote estudiado con los valores máximos para el lote 3 lo que se relaciona en parte con la mayor cantidad de proteína en este lote. Para el resto de los lotes las diferencias encontradas en viscosidad no parecen deberse a variaciones en la cantidad de proteína ya que todos ellos tienen un contenido proteico similar. Las diferencias en viscosidad por lo tanto podrían ser indicativas del estado de alteración de la proteína en el *surimi* como han observado otros autores en estudios realizados con pescado entero o picado sometido a diferentes tratamientos y en refrigeración o congelación (Careche, 1988; Huidobro, 1990; Huidobro y col., 1990). Sin embargo los diferentes lotes de *surimi* no mostraron diferencias en la prueba de plegado.

Los valores de viscosidad no se correlacionan con los de capacidad de emulsión, y aunque las diferencias en capacidad de emulsión son pequeñas, esta falta de correlación se podrían explicar según lo indicado por Huidobro y Tejada (1993) quienes demuestran que puede haber una capacidad de emulsión elevada incluso con una proteína en avanzado estado de agregación.

3.2.2 Influencia de la humedad final de los geles

De las tres humedades finales estudiadas la del 78% es la que alcanza valores más altos de RG (Fig 3.1) y de DR (Fig 3.2) mientras que la FR es también más alta para los geles con 76% de humedad (Fig 3.3).

Según varios autores, la FR aumenta al incrementar la concentración de sólidos en el gel mientras que los valores de DR dependen en mayor grado de la funcionalidad intrínseca del *surimi* (Lanier, 1986; AFDF, 1987; Hamann, 1990). Sin embargo, en base a nuestros

DEFORMACION A ROTURA

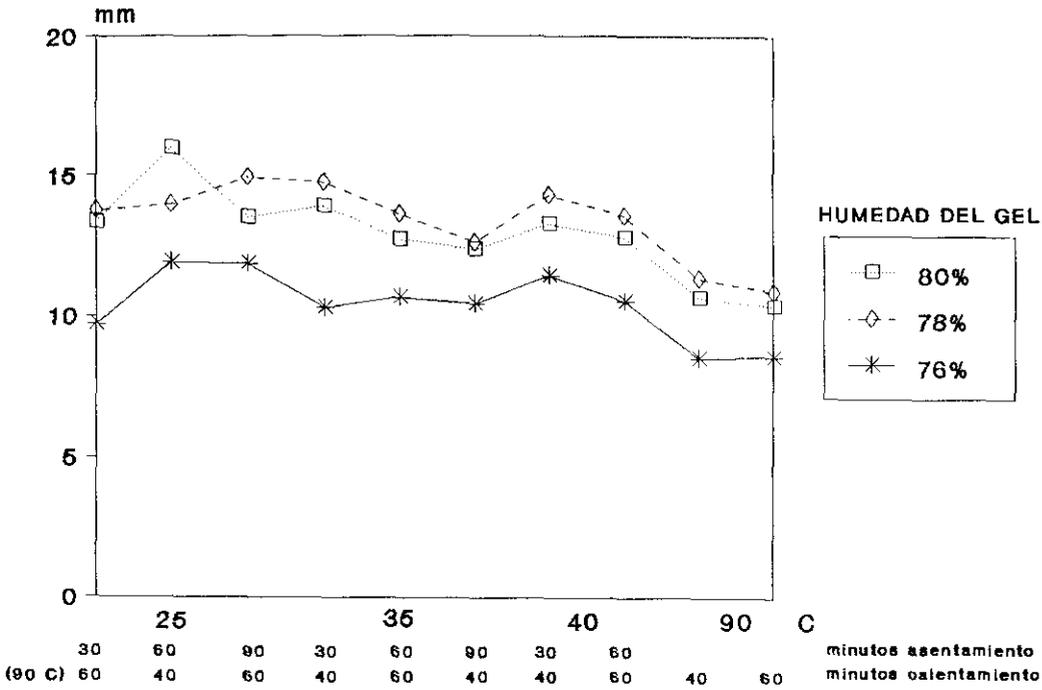


Fig. 3.2.- Deformación a rotura (mm) de geles con diferentes humedades (76%, 78% y 80%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

FUERZA MAXIMA A ROTURA

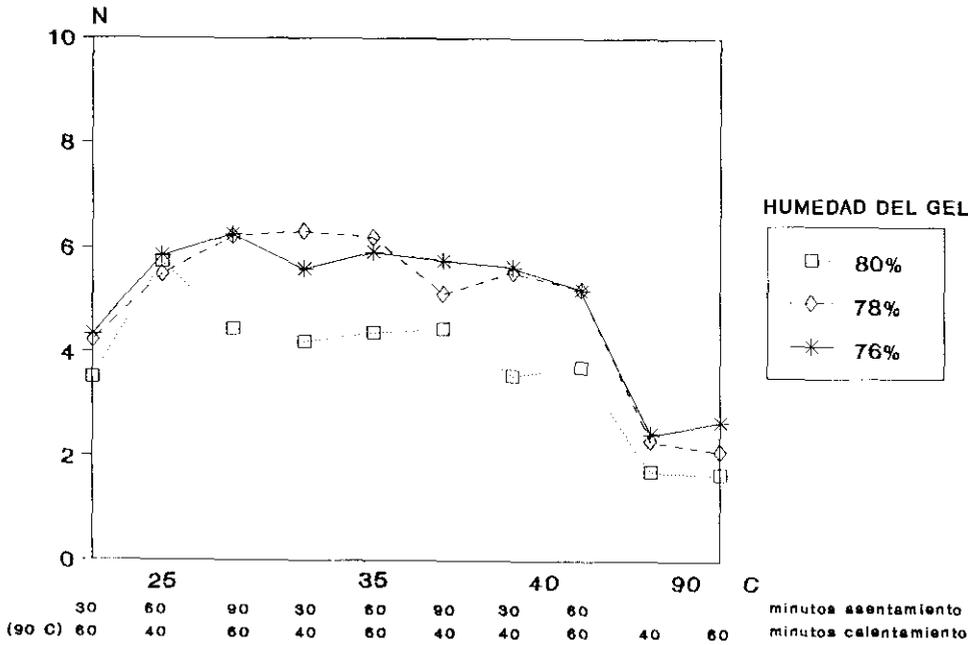


Fig. 3.3.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles con diferentes humedades (76%, 78% y 80%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

resultados, tenemos en general un óptimo de humedad al 78% para valores de RG, DR e FR que no se corresponde con los valores más altos de concentración de sólidos o de proteína total (Tabla 3.III).

En función del calentamiento a 90°C durante 40 minutos o 60 minutos se observan distintos valores de RG como se muestra en la Figura 3.1. Existe un óptimo para las 3 humedades estudiadas que en las condiciones especificadas en la gráfica se corresponden con un asentamiento en la zona de 25°C durante 60 minutos cuando calentamos a 90°C durante 40 minutos pero diferente cuando calentamos 60 minutos en donde el óptimo esta alrededor de 25°C durante 90 minutos.

La CRA es mayor cuando los geles tienen un 76% de humedad (Fig 3.4) y se relaciona con el hecho de que el agua retenida es mayor al serlo el contenido en sólidos totales.

3.2.3 Influencia de los tiempos de amasado

Los valores más altos de RG se obtienen en geles amasados durante 10 minutos (Fig 3.5). Estos tiempos se consideran demasiado prolongados cuando se incorporan posteriormente ingredientes ya que resulta difícil mantener la temperatura por debajo de 10°C (± 1). Las diferencias no son tan marcadas cuando se amasa durante 5 y 7 minutos, no encontrando grandes variaciones en la RG entre los tiempos estudiados. Lee y Toledo (1976) encuentran en una especie de caballa (*Scomberomorus maculatus*) disparidad entre diferentes tiempos de amasado disminuyendo la RG de los geles a partir de 8 minutos. No obstante hay que considerar que en ese caso la temperatura de la masa subió a 10-15°C. El efecto puede ser debido a la temperatura, ya que a partir de esta temperatura disminuye la RG de forma progresiva. Babbit y Reppond (1988) también observan una disminución de la RG cuando la temperatura final de la masa oscila entre los 10 y los 15°C que se aprecia más en la rigidez de los geles. En los trabajos de Kato y col. (1989a) se observa la influencia una vez más de la especie de pescado utilizado, obteniéndose los valores más altos de RG con temperaturas

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA

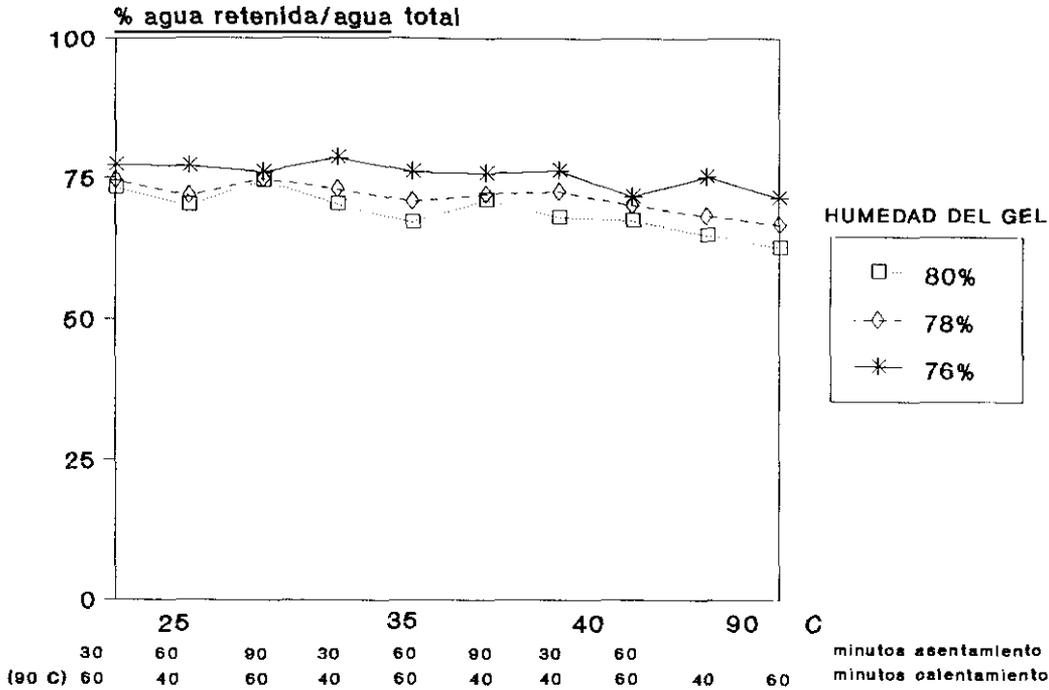


Fig. 3.4.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles con diferentes humedades (76%, 78% y 80%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

RESISTENCIA DEL GEL

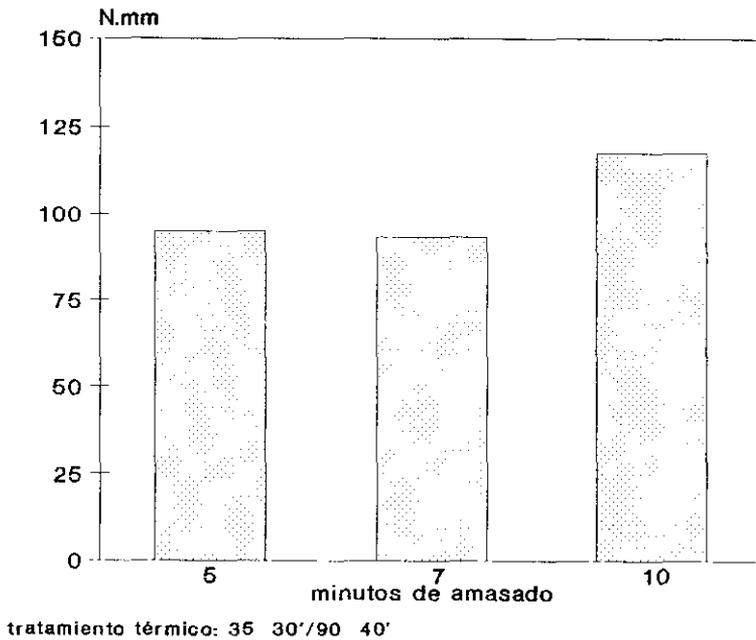
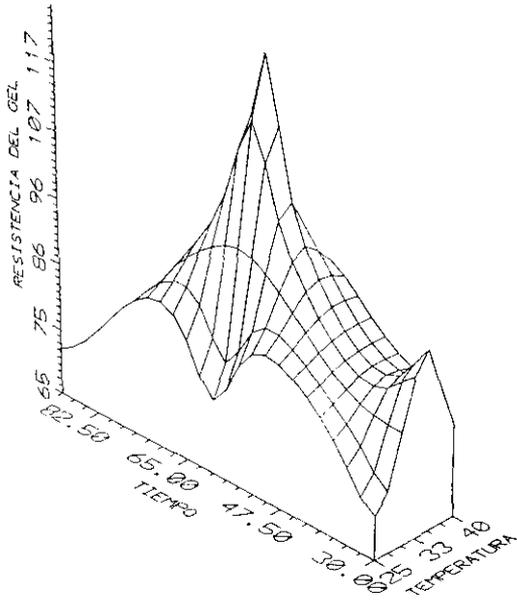
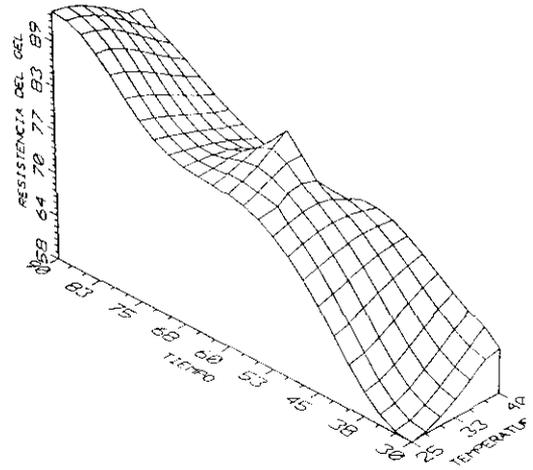


Fig. 3.5.- Resistencia del gel (N.mm) de geles obtenidos con distintos tiempos de amasado

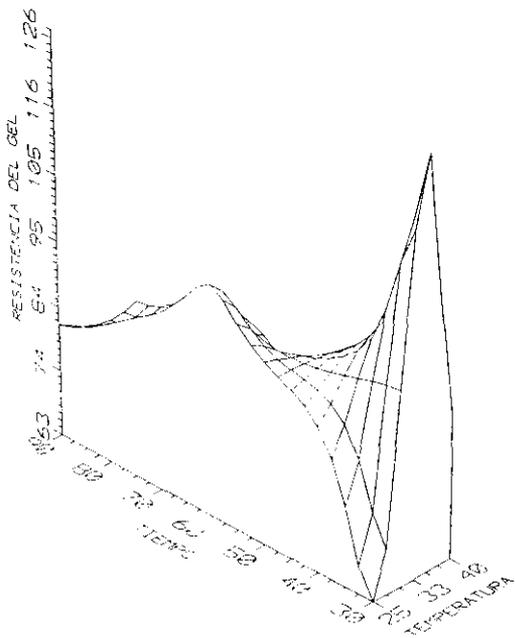
A) 90°C 40 min. 3g NaCl/100g *surimi*



B) 90°C 60 min. 3g NaCl/100g *surimi*



C) 90°C 40 min. 3,5g NaCl/100g *surimi*



D) 90°C 60 min. 3,5g NaCl/100g *surimi*

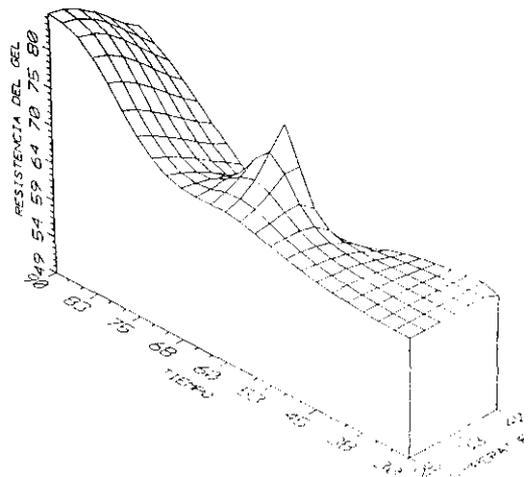


Fig. 3.6 Curvas de superficie de geles de 78% de humedad final y siete minutos de amasado.

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA

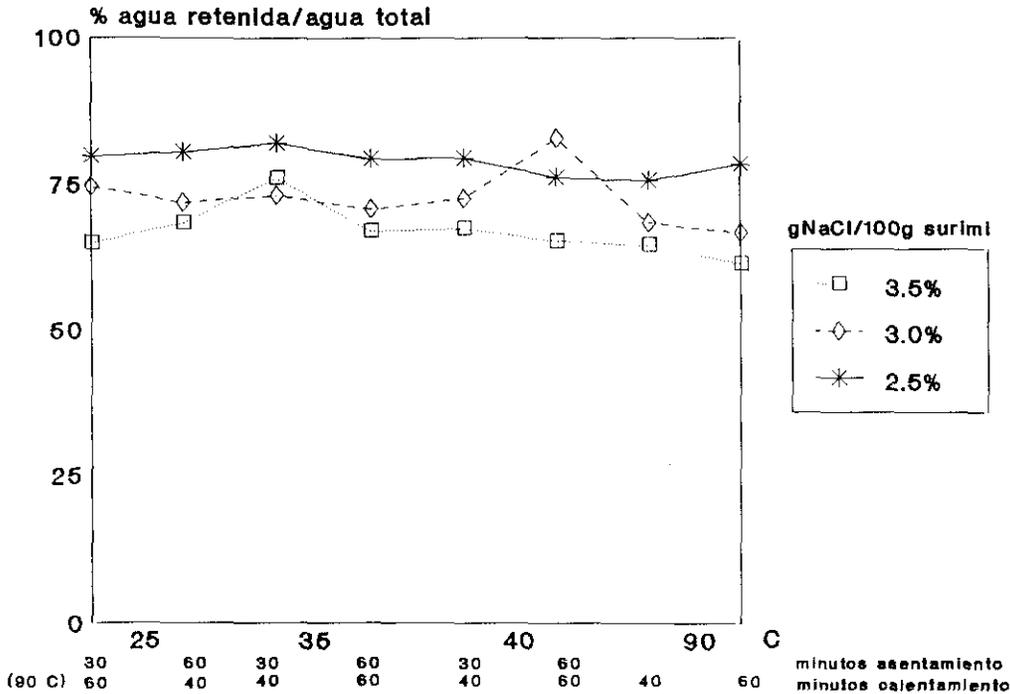


Fig. 3.7.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles con diferentes concentraciones de NaCl (2.5%, 3.0% y 3.5%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

FUERZA MAXIMA A ROTURA

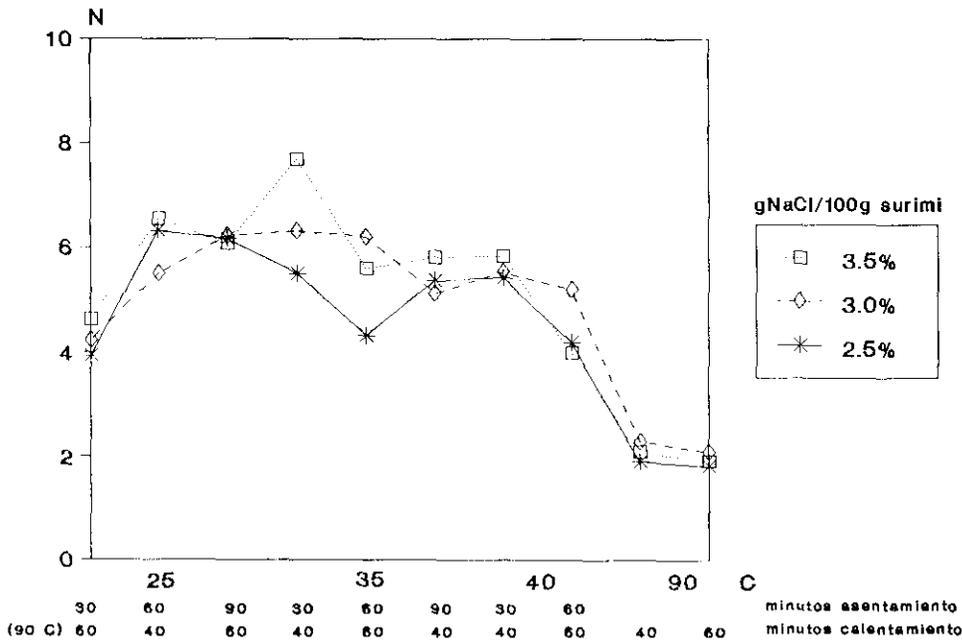


Fig. 3.8.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles con diferentes concentraciones de NaCl (2.5%, 3.0% y 3.5%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

finales de masa inferiores a 10°C para el abadejo de Alaska y a 23°C para el *Polydactylus approximans*.

3.2.4 Influencia de la concentración de sal, temperaturas y tiempos de calentamiento

Las Figuras 3.1 (C-D) y 3.6 muestran los valores de RG en geles elaborados con diferentes concentraciones de NaCl (2.5, 3 y 3.5%) para diferentes temperaturas (25°, 35° y 40°C) y tiempos (30, 60 y 90 minutos) de asentamiento y tiempos de calentamiento a 90°C (40 y 60 minutos) permaneciendo constantes la humedad del gel (78%) y el tiempo de amasado (7 minutos). Como se puede observar, para cada concentración de sal los valores de RG máximos varían según el tratamiento térmico aplicado.

Según la concentración de sal, los valores más altos de RG se obtuvieron en geles con 3 y 3,5 g/100 g de *surimi* (Fig 3.6) y los más bajos los solubilizados con 2.5g/100g (Fig 3.1). Las moléculas de AM se dispersan mejor a medida que aumenta la concentración de sal lo que hace que tengan más movilidad y por lo tanto se facilita su posterior interacción y ordenación de la cadena pesada de miosina (Ito y col.,1990; Sano 1988).

Los valores de CRA máximos (Fig 3.7), sin embargo se corresponden con geles con un 2.5g de sal. Resultados parecidos son los obtenidos por Akahane y col. (1989a y b).

Los valores de FR (Fig 3.8) tienen la misma tendencia que los de RG. En cuanto a los valores de DR (Fig 3.9), existen menores variaciones entre los geles debido a la concentración de sal, teniendo en general los geles de 3.5g los valores más altos con respecto a las otras dos concentraciones y por tanto una mejor ordenación de la red hace que estos valores aumenten con 3,5 g de sal. Las variaciones de RG por tanto se deben sobre todo a las de FR para la concentración de sal y las diferentes temperaturas estudiadas.

En geles calentados 40 minutos a 90°C asentados en distintas condiciones de tiempo-temperatura existe un máximo diferente para cada concentración de sal. En geles de 78% de humedad final, a 25°C se encuentra el máximo a 2,5 g de sal (Fig 3.1 C, 3.6 A y 3.6 C) y

DEFORMACION A ROTURA

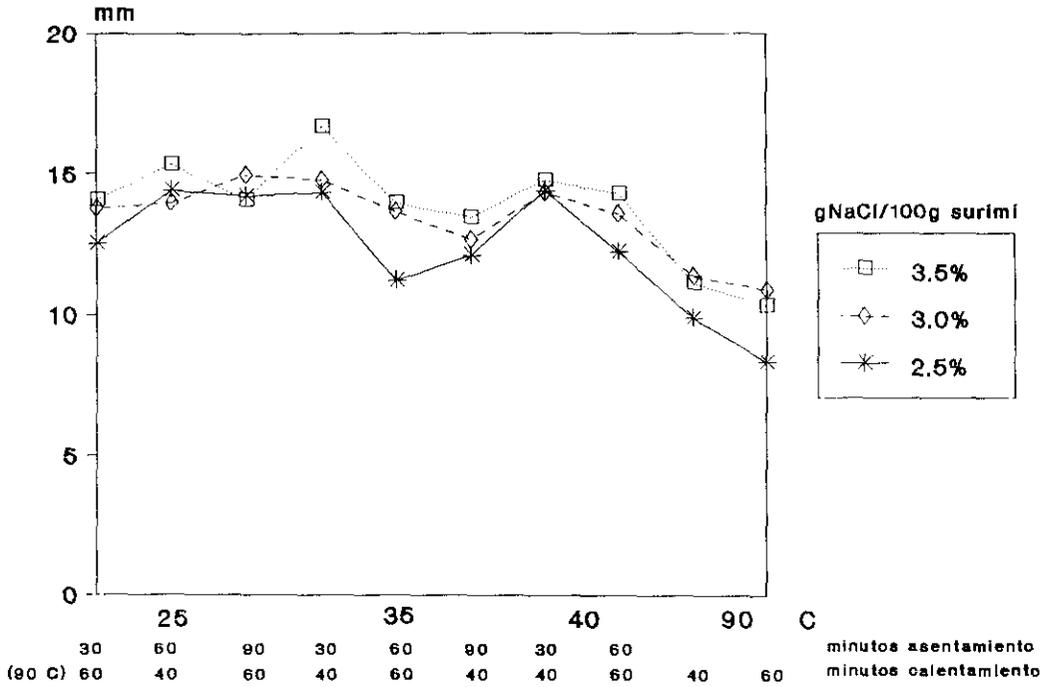


Fig. 3.9.- Deformación a rotura (mm) de geles con diferentes concentraciones de NaCl (2.5%, 3.0% y 3.5%) obtenidos con distintos tratamientos térmicos

estos valores de RG disminuyen a medida que aumenta la concentración. A 35° se dan los máximos para las concentraciones de 3 y 3,5 g. Parece ser que es a esta temperatura y bajo estas condiciones de fuerza iónica a la que tiene lugar una mejor ordenación molecular de la proteína dando los geles una RG elevada. Según Sano (1988) dependiendo de la temperatura interviene en la formación de la red de AM la cabeza o cola de la miosina. A temperaturas por debajo de 40°C la formación de la red depende de la porción de la cola de la miosina y a temperaturas superiores hay una activa participación de la cabeza lo que conduce a la formación de otro tipo de estructura. Esto podría estar además ligado con el fenómeno de movilidad de las moléculas facilitando diferentes tipos de interacción a distintas temperaturas en función de la concentración de sal.

El máximo se alcanza además con distintos tiempos de asentamiento en función de la concentración de sal y la temperatura, pero en cualquier caso tiempos prolongados de asentamiento (90 minutos) disminuye la RG.

Con 60 minutos de calentamiento a 90°C (Fig 3.1 D, 3.6 B y 3.6 D), los geles tienen menor RG y no hay una diferencia evidente entre los máximos obtenidos asentando a 25°, 35°C y 40°C. Con estos tiempos largos de calentamiento son mejores los geles con tiempos más largos de asentamiento (90 minutos) a cualquier concentración de sal si bien se alcanzan valores más altos de RG a mayor concentración de sal.

En vista de los resultados obtenidos con las condiciones estudiadas, parece ser que la red formada a diferentes temperaturas de asentamiento varía en función de la cantidad de sal y humedad final del gel, pero en cualquier caso hay una tendencia que se manifiesta cuando el gel se calienta a 90°C, ya que en cualquier condición estudiada de humedad y concentración de sal cuando los geles asentados se calientan a 90°C durante 40 minutos hay un máximo de RG que disminuye con tiempos prolongados de asentamiento. Sin embargo cuando el calentamiento se efectúa durante 60 minutos, los geles obtenidos tienen mayor RG cuanto mayor es el periodo de asentamiento aunque sin alcanzar los valores máximos. Esto puede deberse a que los enlaces que se favorecen a distintas temperaturas de asentamiento y durante

el calentamiento posterior son diferentes y la RG final es la resultante de la destrucción-formación de enlaces en la red.

Por tanto del comportamiento de los geles cuando se calientan a 90°C durante 40 o 60 minutos es diferente obteniendo los máximos al calentar con tiempos más cortos. Sin embargo en función de diferentes temperaturas de asentamiento el comportamiento resulta más complejo de interpretar por lo que se requiere un estudio en profundidad que se desarrolla en el siguiente capítulo.

Capítulo 4

Capítulo 4.

ESTUDIO DE LOS GELES FORMADOS EN DISTINTAS CONDICIONES TERMICAS

4.1 INTRODUCCION

En la formación de geles de *surimi* se observan dos fenómenos característicos durante el calentamiento en dos etapas: "asentamiento" (*suwari* en japonés) y "*modori*" (término no traducido al castellano)

El término asentamiento engloba a un proceso gradual de transición sol-gel que tiene lugar a temperaturas por debajo de 50°C en donde se forma un gel traslúcido. Cuando el gel una vez asentado se calienta a temperaturas superiores a 80°C, se obtienen geles del tipo "*kamaboko*" opacos y de elevada elasticidad. A este procedimiento se le denomina comunmente en la industria de elaboración de estos productos como "método de doble tratamiento térmico" (Suzuki, 1981; Montejano y col., 1984; Sano, 1988).

En los trabajos realizados en geles termoestables obtenidos con *surimi*, se considera que la textura final de los geles se debe al establecimiento durante el asentamiento de enlaces proteína-proteína debido a fuerzas secundarias, interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno, que durante el calentamiento final se reagrupan formando enlaces SS estables, además de interacciones secundarias (Suzuki, 1981; Niwa, 1985; Beas y col., 1988; Niwa 1992), si bien hay autores que consideran que pueden formarse también enlaces covalentes inducidos por enzimas durante el asentamiento (Sano, 1988; Seki y col., 1990; Tsukamasa y Shimizu 1990). En general se estima que a temperaturas inferiores a 40°C la mayoría de los enlaces que se forman son secundarios y establecen la matriz del gel y que tiempos de asentamiento prolongados dan lugar a geles más ordenados con mejores características de

textura cuando se estabilizan a alta temperatura. Sano (1988) considera que la gelificación de las proteínas del músculo de carpa sucede de forma gradual incluso en rangos de temperaturas que se podrían considerar como bajas y que afectan al tipo de gelificación que tiene lugar a más altas temperaturas. En *surimi* de sardina Tsukamasa y Shimizu (1990) observan como esta especie asienta fácilmente a 20°C durante 20 minutos lo que no ocurre en *Scomber japonicus*. Estos autores consideran que en el caso de la sardina el asentamiento a bajas temperaturas pueda deberse a la acción de la transglutaminasa (TGasa) catalizando un determinado tipo de enlaces.

Durante un tiempo se atribuyeron a las interacciones electrostáticas, a los puentes de hidrógeno y a las interacciones hidrofóbicas el papel responsable en la formación de la red durante la transformación de sol a gel. Actualmente se considera que de los tres tipos de enlaces son las interacciones hidrofóbicas las que tienen un papel fundamental y se piensa que puede deberse a la peculiar inestabilidad de las proteínas miofibrilares del pescado. Esta inestabilidad de la AM del pescado que la diferencia de la AM de otras especies hace que se produzca el desdoblamiento de la proteína a temperaturas más bajas con la posibilidad de establecerse este tipo de interacciones (Niwa, 1992).

Los puentes de hidrógeno se debilitan a elevadas temperaturas contrariamente a lo que ocurre con las interacciones hidrofóbicas. Por este motivo se piensa que los puentes de hidrógeno están fundamentalmente implicados en la estabilización de la red cuando se enfria el gel.

En cuanto al papel desempeñado por los puentes disulfuro, hay que señalar que la formación de este tipo de enlaces está más favorecida a elevadas temperaturas. A medida que aumenta la temperatura las interacciones por este tipo de enlaces pasan de ser intramoleculares a ser intermoleculares (Itoh y col., 1979).

Sano (1988) describe el proceso de gelificación de AM natural de carpa (*Cyprinus carpio*) en dos etapas diferentes, una anterior a los 45°C y otra a más altas temperaturas. La justificación de esta separación radica en el hecho de que a 45°C en esta especie comienza

a observarse una disociación de moléculas de miosina de los filamentos de AM haciendo que la gelificación dependa de una AM que el autor denomina "AM pobre en miosina". La disociación de la molécula de miosina conlleva la insolubilización de la AM (Sano, 1988; Niwa y col. 1989b) y se refleja en cambios en textura con una disminución de la firmeza del gel. A 50°C la disociación es aún mayor obteniendo un marcado descenso en la elasticidad del gel.

Para el estudio del proceso de gelificación a bajas temperaturas, Numakura y col. (1987b) asentaron geles de abadejo de Alaska a 20°C y diferenciaron dos etapas teniendo en cuenta el tiempo de asentamiento. En una primera etapa observaron en los perfiles electroforéticos un descenso en porcentaje de monómeros de cadenas pesadas de miosina a medida que aumentaba el tiempo y la aparición gradual de oligómeros de cadenas pesadas de miosina. En las últimas fases del asentamiento aparecen polímeros de las mismas cadenas. Sano (1988), sin embargo, no considera que exista disociación de moléculas de miosina de la red de AM a temperaturas por debajo de 45°C. Nishimoto y col. (1987 y 1988) encontraron una correlación positiva entre la capacidad de entrecruzamiento de las cadenas pesadas de la miosina y la capacidad de formar gel y Numakura y col. (1989) consideraron que la formación de gel durante el asentamiento a temperaturas de 10 y 20°C requería la formación de un "esqueleto" por entrecruzamiento de las cadenas pesadas de miosina. Niwa y col. (1989b) atribuyen la facilidad de asentamiento de algunas especies (*Scomber japonicus* y *Prognichthys agoo*) a su miosina, particularmente a su cadena pesada y consideran que la elasticidad de los geles se debe a la estructura del gel formada en el calentamiento, en donde la cadena pesada de miosina se disocia de las cadenas ligeras y de la actina para formar el esqueleto de la red. Además del entrecruzamiento de las cadenas pesadas de miosina (Numakura y col., 1989) se establecen interacciones hidrofóbicas. Según progresa el asentamiento las cadenas pesadas de miosina vuelven a interactuar con la actina y tropomiosina (Niwa y col., 1989b)

El término *modori* implica una disminución brusca e irreversible de la elasticidad que se observa cuando el gel se calienta dentro de un rango de temperaturas que oscila entre los 50°C-60°C. En un principio el término hacía referencia a una caída rápida irreversible de la

elasticidad cuando el gel se calentaba durante un largo periodo de tiempo y el término *himodori* haría alusión al *modori* que tiene lugar en el rango de temperaturas antes indicado (50-60°C)(Sano 1988; Yamashita y col., 1989).

Se han propuesto cuatro mecanismos que tratan de explicar el fenómeno *modori*, no descartándose actualmente la implicación de ninguno. El primero de ellos se basa en la presencia de proteasas alcalinas del músculo (Cheng y col., 1979; Nagahisa y col., 1981; Suzuki, 1981; Shimizu, 1985). Kinoshita y col. (1990) las denominan proteasas inductoras de *modori* (MIP) y hacen una clasificación de las mismas según sus temperaturas de actuación (50 ó 60°C) y de su origen en el músculo (sarcoplásmica o miofibrilar). No se han encontrado estas proteasas en sardina (Suzuki, 1981; Kinoshita y col. (1990). Otros autores justifican este fenómeno debido a un proceso de desnaturalización térmica de las proteínas del músculo (Toyohara y Shimizu, 1988; Yamashita y col., 1989) que trae como consecuencia la formación en exceso de puentes disulfuro (Sano, 1988). Un tercer mecanismo implicaría la intervención de proteínas no enzimáticas inductoras de *modori* aunque su mecanismo de acción aún no ha sido explicado (Sano, 1988; Makinodan y Hujita, 1990; Niwa, 1992). El cuarto mecanismo hace referencia a la degradación del músculo por proteasas en especies de pescado parasitadas con *Myxosporidia* (Lanier, 1988; Niwa 1992).

4.2 MATERIALES Y METODOS

4.2.1 Diseño del experimento

Una vez establecidas las condiciones óptimas de elaboración de los geles a partir de *surimi* de sardina tal y como se describe en el capítulo anterior, el objetivo de esta parte del trabajo es el de obtener una información precisa sobre la formación de la red en geles de *surimi* de sardina obtenidos a diferentes temperaturas y tiempos de asentamiento (incluyendo temperaturas de *modori*) y calentamiento directo. Para ver la influencia que la red formada inicialmente en el asentamiento tiene en el gel final se ha realizado un estudio de textura, CRA, grupos SH, perfil electroforético y ultraestructura en geles tipo *suwari* y *kamaboko*.

RESISTENCIA DEL GEL SUWARI

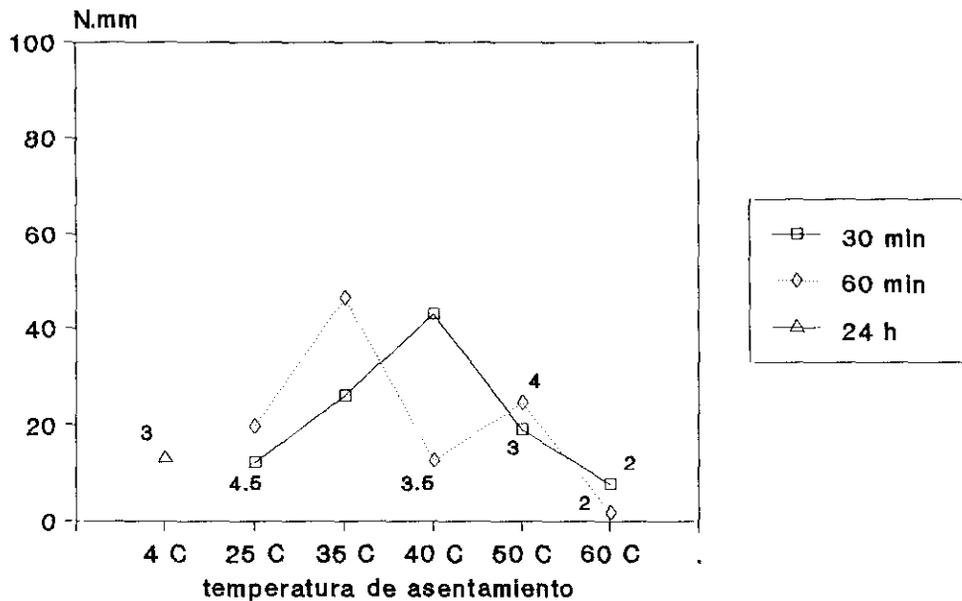


Fig. 4.1.- Resistencia (N.mm) de geles tipo *suwari* obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

FUERZA MAXIMA A ROTURA SUWARI

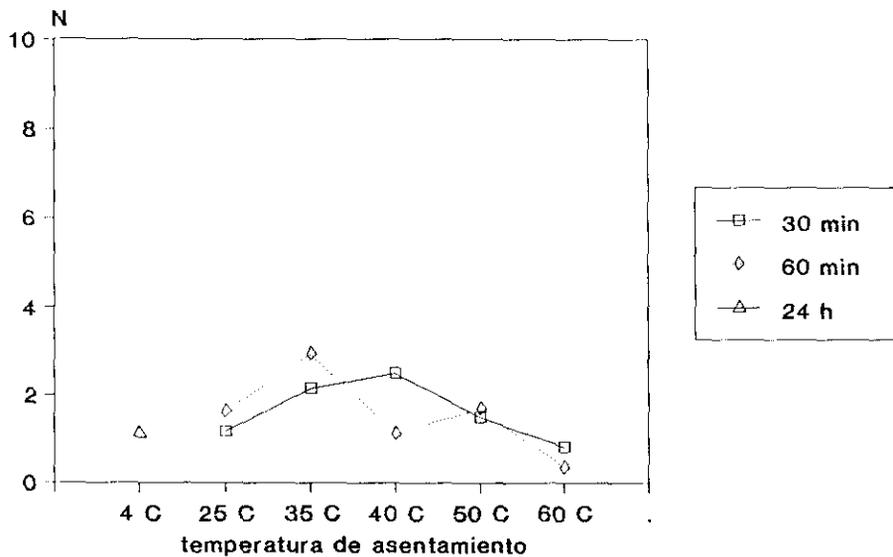


Fig. 4.2.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles tipo *suwari* obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento.

4.2.2 Elaboración de los geles

Se han elaborado distintos tipos de geles: tipo *suwari* (es decir sólo con asentamiento, sin calentamiento final), y tipo *kamaboko* (con asentamiento y calentamiento posterior a 90°C durante 30 minutos) así como de geles calentados directamente (sin asentamiento previo) a 90°C durante 15, 30 y 60 minutos. Las temperaturas y tiempos de asentamiento utilizadas fueron de 4° durante 24 horas y 25, 35, 40, 50 y 60 °C, durante tiempos de 30 y 60 minutos. Para la elaboración de los geles se siguió el protocolo descrito en el apartado 2.2.2 del capítulo 2. La humedad final de todos los geles se ajustó a 78%, la concentración de sal fué de 3g/100g de surimi y el tiempo de amasado fué fijado en 5 minutos.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSION

4.3.1 Determinación de la resistencia del gel

Las figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, muestran los resultados de RG, DR e FR de lotes sometidos a diferentes temperaturas (4, 25, 35, 40, 50 y 60°C) y tiempos de asentamiento (30 o 60 min y 24 h) con y sin calentamiento posterior a 90°C durante 30 minutos (geles tipo *kamaboko* y *suwari* respectivamente) y lotes tipo *kamaboko* calentados directamente a 90°C durante 15, 30 ó 60 minutos sin asentamiento previo.

4.3.1.1 Geles tipo *suwari*

Las diferencias en los geles tipo *suwari* vienen muy marcadas dependiendo de la temperatura y tiempo de asentamiento. En estos geles la máxima RG se consigue a 35°C durante 60 min y a 40°C durante 30 min, alcanzandose en todos los otros lotes valores inferiores. Así mismo ambos lotes presentan los valores mas altos de FR y DR (Fig 4.2 y 4.3) siendo la FR máxima la obtenida en el gel formado a 35°C durante 60 min, mientras que la máxima deformación se da a 40°C durante 30 min. Se observan a 35 y 40°C diferencias significativas por tiempo de asentamiento (tabla 4.1a) e incluso el gel obtenido a 40°C durante

DEFORMACION A ROTURA SUWARI

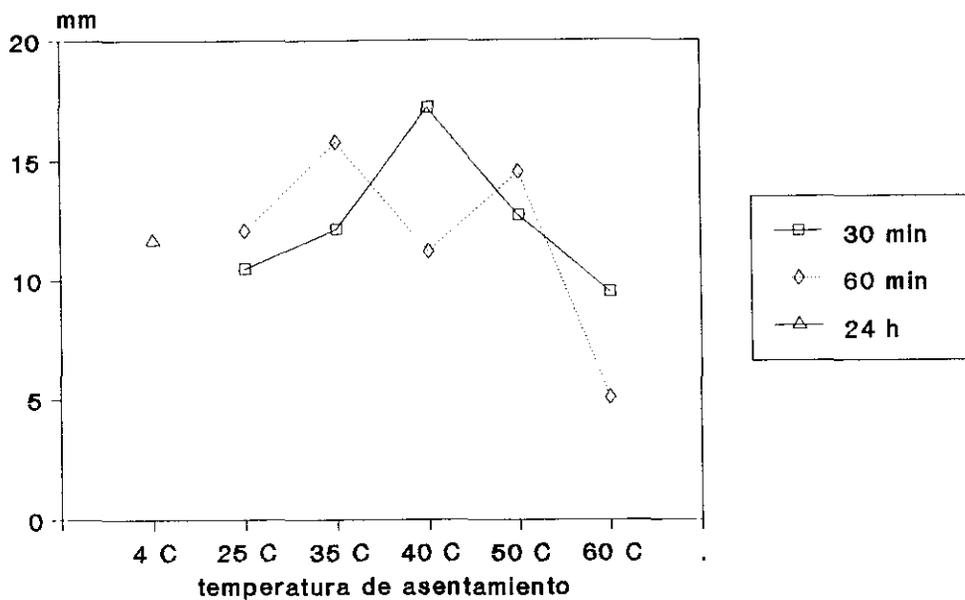


Fig. 4.3.- Deformación a rotura (mm) de geles tipo *suwari* obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento.

RESISTENCIA DEL GEL KAMABOKO

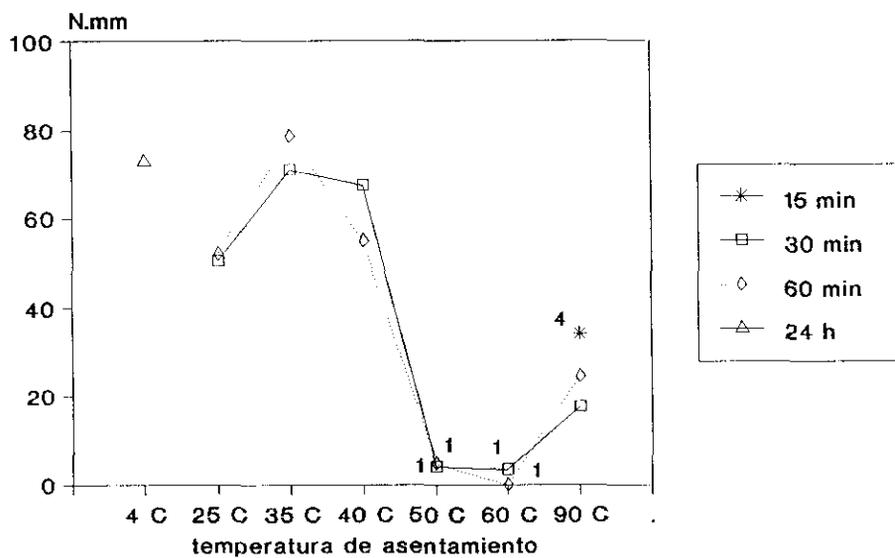


Fig. 4.4.- Resistencia (N.mm) de geles tipo *kamaboko* obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

60 minutos tiene valores más bajos de TP (Fig 4.1). Los resultados a 35°C concuerdan con los obtenidos por otros autores (Sano, 1988; Nishimoto y col., 1988; Lee y col., 1990), que a temperaturas entre 25 y 30°C obtienen mayor firmeza en los geles a medida que aumenta el tiempo de calentamiento. Roussel y Cheftel (1988) encuentran en *surimi* de sardina una temperatura óptima en geles *suwari* a 37°C durante 30 minutos con un máximo de RG. A 40°C los valores máximos se obtienen en menos tiempo, ya que una vez sobrepasados los 30 minutos puede comenzar el proceso de agregación disminuyendo la FR debido al establecimiento de puentes disulfuro (Sano, 1988). Para geles de *surimi* de *Nemipterus virgatus*, Lee y col. (1990) obtienen valores de fuerza a rotura máximos a 40°C con 60 minutos de calentamiento para luego descender bruscamente estos valores a medida que aumenta el tiempo de calentamiento. Nuestros resultados muestran que asentando el gel a 40°C durante 60 minutos se obtiene una disminución de RG debido tanto a la FR como a la DR y sin embargo el mismo gel asentado durante 30 minutos muestra unos valores altos de RG. Parece que la estructura de red formada a los 30 minutos se destruye al prolongar el calentamiento lo que podría interpretarse como un inicio del fenómeno *modori* descrito anteriormente.

Para muchos autores, un calentamiento por encima o por debajo de la temperatura óptima de gelificación interfiere en el óptimo de interacción proteína-proteína necesaria para la formación de una red bien estructurada. Sano (1988) atribuye la formación de la red al establecimiento gradual de interacciones hidrofóbicas y puentes disulfuro en la porción de las colas de las moléculas de miosina en AM natural de carpa mientras que otros autores (Nishimoto y col. 1987 y 1988; Numakura y col. 1987a, b y 1989; Kato y col., 1989a; Niwa y col., 1989b) lo atribuyen a la formación gradual de polímeros de cadenas pesadas de miosina formando el esqueleto del gel. A temperaturas por encima de los 40°C Sano (1988), Niwa y col. (1989b), Lee y col. (1990) atribuyen la formación de la red al entrecruzamiento de las cadenas pesadas de miosina por el establecimiento de enlaces covalentes coincidiendo con una disminución de la capacidad de formar gel. El entrecruzamiento se obtiene incluso a temperaturas más bajas pero con tiempos más largos de asentamiento. Por encima de 40°C se considera que existe una disociación de algunas moléculas de miosina y también se

TABLA 4.Ia Análisis de varianza para la variable resistencia del gel para geles tipo *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempo de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	ACD AC		
25°C		1 ACD	1 A
35°C		1 BCD	2 B
40°C		1 B	2 AC
50°C		1 CD	1 A
60°C		1 D	1 C

TABLA 4.Ib Análisis de varianza para la variable resistencia del gel para geles tipo *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	AC AC		
25°C		1 BC	1 BC
35°C		1 AC	1 A
40°C		1 C	1 C
50°C		1 D	1 D
60°C		1 D	1 D
90°C		1 D	1 E

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

fragmentan los filamentos de actina con cambios estructurales de la red con fenómenos de agregación e insolubilización (Sano, 1988; Roussel, 1988).

En los geles *suwari* (Fig 4.1) los valores obtenidos de RG a 25 y 50°C son similares no encontrando diferencias significativas para ambas temperaturas (tabla 4.Ia) y en ambos casos la RG aumenta con tiempos más largos de asentamiento. Sin embargo los valores de TP son más altos a 25°C. Roussel y Cheftel (1988) encuentran diferencias en RG entre las temperaturas de asentamiento de 25 y 50°C durante 30 minutos siendo 50°C la temperatura óptima de asentamiento para sus geles de sardina.

A 60°C hay una disminución drástica de la RG obteniéndose los valores mínimos con tiempos mas largos de asentamiento. Así mismo son muy bajos los resultados de TP. Roussel y Cheftel (1988) encuentran resultados similares en *surimi* de sardina con un descenso brusco de la RG a temperaturas de 60 a 75°C. Estableciendo una correspondencia entre los resultados de DR con los de elasticidad obtenidos por Sano (1988), el cambio en la elasticidad del gel a 45°C observado por este autor y que lo atribuye a una disociación de moléculas de miosina de la red pudiera estar relacionado en estos geles con nuestros resultados obtenidos a partir de los 50°C en donde se observa una ligera disminución de DR siendo ya evidente a 60°C con una clara disminución de los valores de DR y FR.

Los geles asentados a 4°C durante 24 horas solo presentan diferencias significativas de RG con los geles obtenidos en condiciones óptimas (tabla 4.Ia) si bien este lote presenta unos valores bajos de TP. Resultados similares son los que obtienen Roussel y Cheftel (1988) asentando a 4°C durante 30 minutos.

4.3.1.2 Geles tipo *kamaboko*

En geles tipo *kamaboko* (Fig 4.4) se pueden apreciar dos comportamientos diferentes que abarcan rangos de temperaturas con RG similares entre sí.

FUERZA MAXIMA A ROTURA KAMABOKO

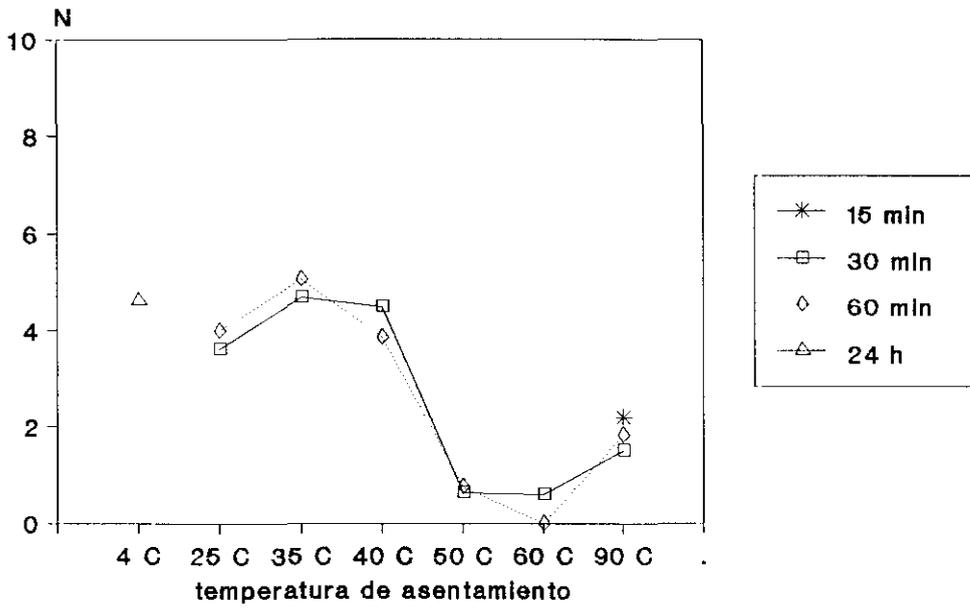


Fig. 4.5.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

DEFORMACION A ROTURA KAMABOKO

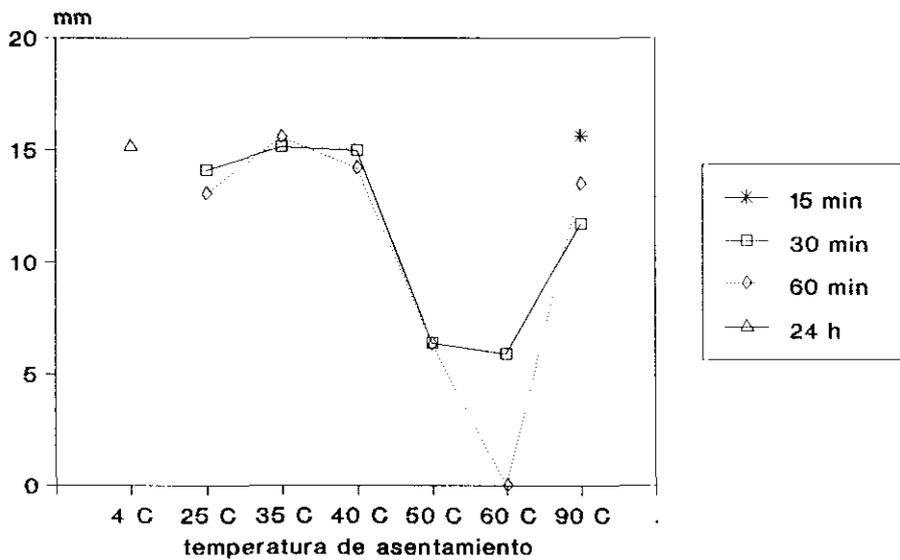


Fig. 4.6.- Deformación a rotura (mm) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

El primero comprende temperaturas entre 4 y 40° en donde se encuentran valores máximos de TP y más altos de RG y muy superiores al control sin asentar y a sus geles *suwari* correspondientes. El incremento en RG se justifica por el aumento de los valores de FR (Fig 4.2 y 4.5). Según algunos autores, a estas temperaturas la elasticidad del gel *kamaboko* se debe sobre todo a la elasticidad conseguida durante el asentamiento (Sano, 1988; Montejano y col., 1984). Lee y col. (1990) encuentran tendencias similares para temperaturas de asentamiento entre 25 y 40°C.

El gel asentado a 4°C muestra un incremento de RG entre geles tipo *kamaboko* y *suwari* muy superior a otras temperaturas estudiadas con valores altos para el gel *kamaboko* similares a los obtenidos para este tipo de geles a temperaturas de 35°C y 40°C (tabla 4.I). Esto indicaría la formación durante el asentamiento de una red de AM diferente a la formada a otras temperaturas. Resultados similares fueron los obtenidos por Roussel y Cheftel (1988) en *surimi* de sardina asentados a 4°C durante 24 horas. Kim y col. (1986) observan una mayor RG asentando los geles a 4°C y menor al asentar a 40°C en abadejo de Alaska. La capacidad de determinadas especies pelágicas de obtener geles con una elevada RG cuando se asientan a bajas temperaturas ha sido puesta de manifiesto por otros autores (Lanier, 1988).

El otro rango de temperaturas comprende 50°C y 60°C en donde los geles asentados al calentar a 90°C modifican su comportamiento destruyendo incluso su estructura de gel *suwari* mostrando valores significativamente diferentes a los obtenidos hasta 40°C de temperatura de asentamiento (tabla 4.I). Los valores de TP muestran que no se forma el gel destruyéndose la red formada en el asentamiento. Lee y col. (1990) en geles de *Nemipterus virgatus* encuentran diferente capacidad de formar gel a 50 y 60°C según los distintos tiempos de calentamiento con un marcado descenso de FR a 60°C que nosotros ya a 50°C apreciamos en sardina con tiempos cortos de calentamiento.

En los geles *kamaboko* no existen las diferencias significativas en función del tiempo de asentamiento (tabla 4.Ib) que se observaban en algunos geles tipo *suwari* tendiendo a unificarse los valores. Esto se refleja así mismo en FR e DR (Figuras 4.4, 4.5, 4.6). Lee y

col. (1990) en *surimi* obtenido de *Nemipterus virgatus* si encuentran valores diferentes según el tiempo de asentamiento siendo estas diferencias menos marcadas a medida que aumenta la temperatura de asentamiento. Del mismo modo a como ocurre con sardina encuentran mayor FR a 35°C con tiempos largos de asentamiento equivalentes a una buena FR con tiempos cortos de asentamiento a 40°C.

Los geles asentados a temperaturas de 25 y 50°C que tenían valores similares en geles tipo *suwari*, modifican totalmente su RG al calentarlos a 90°C para formar geles tipo *kamaboko* mostrando diferencias significativas entre ellos (tabla 4.Ib). A 25°C con calentamiento posterior a 90°C durante 30 minutos el gel se transforma en un gel fuerte mientras que en el de 50°C de asentamiento se destruye el gel (TP 1)(Fig 4.4). Parece que la estructura formada a 50°C aún teniendo buena RG en los geles asentados sin calentamiento posterior no es lo suficientemente estable como para evitar su destrucción durante el calentamiento a 90°C. Esto podría atribuirse a una fase incipiente de *modori* en sardina. Lee y col. (1990) encontraron un comportamiento análogo para sus geles.

A 60°C la RG en geles tipo *kamaboko* disminuye respecto a los geles *suwari* en donde no se llegó a formar el gel con 60 minutos de calentamiento quedando con aspecto disgregado, granuloso y sin estructura. Este descenso acusado de RG puede estar relacionado con la agregación masiva por la formación de puentes disulfuro en exceso en una red *suwari* debilmente fijada, que se corresponde con el concepto de *modori* descrito por Sano (1988). Yamashita y col. (1989) utilizando dimetil amino propil carboimida inhiben el *modori* a 60°C estableciendo un complejo entre la actina y la miosina por medio de enlaces covalentes e impidiendo la formación de otro tipo de enlaces que pudieran dar lugar al fenómeno de *modori*.

En los geles tipo *kamaboko*, obtenidos por calentamiento directo sin asentamiento previo, la máxima RG se obtiene a los 15 minutos si bien los valores de TP son inferiores en este lote lo que parece indicar que la red no está bien formada. La RG de estos geles calentados directamente durante 30 y 60 minutos nunca alcanza los valores obtenidos al calentar previamente el gel a las temperaturas óptimas de 35 y 40°C aunque los valores de

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA SUWARI

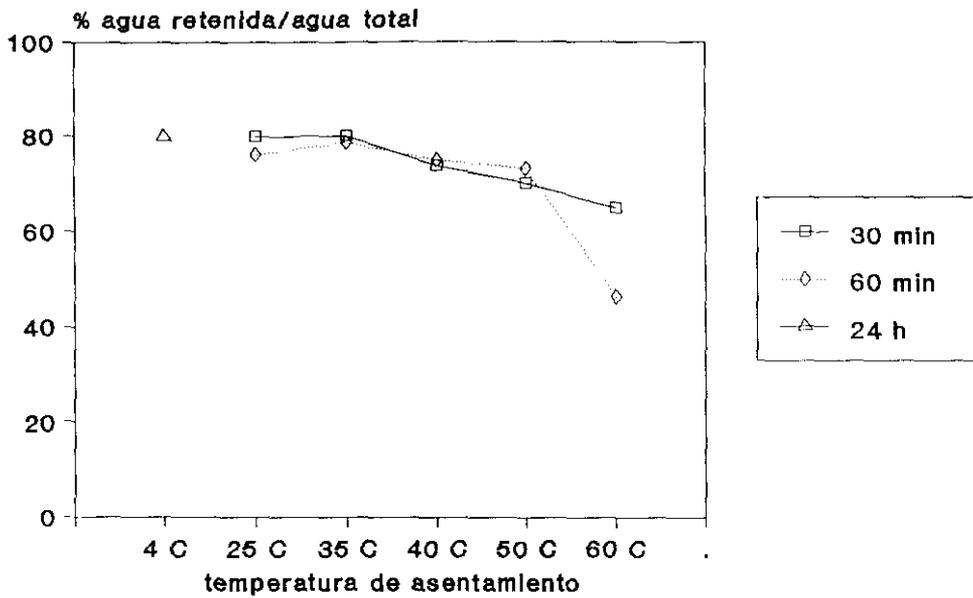


Fig. 4.7.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles tipo suwari obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA KAMABOKO

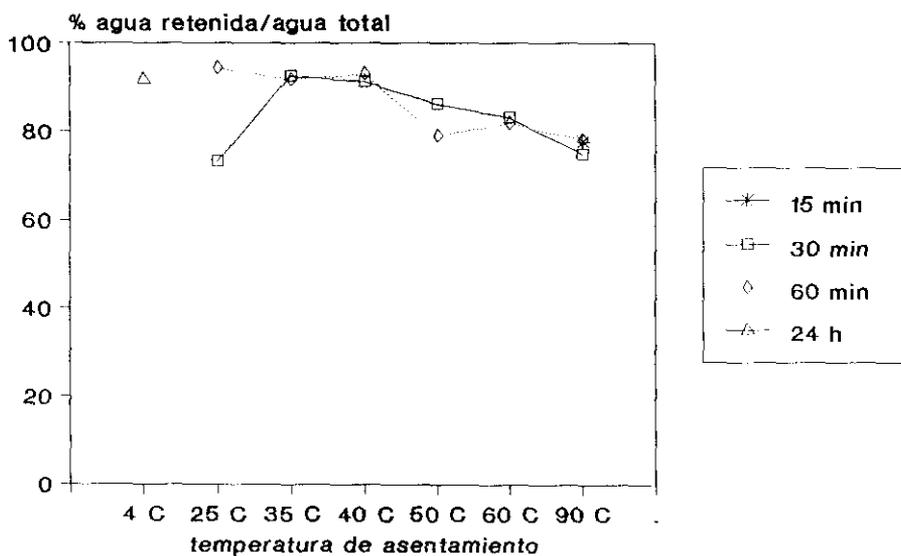


Fig. 4.8.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

TP alcanzaron el máximo. Calentando directamente los geles durante 30 o 60 minutos se observa como con tiempos más largos se obtiene una mayor RG coincidiendo con los resultados obtenidos por Roussel (1988) en *surimi* de sardina y otros autores en distintas especies (Wu y col., 1985; Sano, 1988; Niwa, 1992) explican este fenómeno como el resultado de una rápida coagulación de la proteína que confiere una estructura al gel poco homogénea con una baja CRA y elasticidad.

Parece por tanto que existe un proceso gradual de formación de la red hasta un máximo que se consigue bien por tiempo o por temperatura.

4.3.2 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua de los geles tipo *suwari* se muestra en la Figura 4.7 y la de los geles tipo *kamaboko* en la Figura 4.8.

4.3.2.1 Geles tipo *suwari*

En geles *suwari* (Fig 4.7) no existen apenas diferencias para cada temperatura por tiempos de calentamiento exceptuando la temperatura de 60°C con un marcado descenso de la CRA con 60 minutos de calentamiento. En cuanto a las diferentes temperaturas, se observa a partir de 35°C un descenso de la CRA a medida que aumenta la temperatura. Roussel (1988) observó en *surimi* de sardina un máximo de capacidad de retención de agua a 25°C con 30 minutos de asentamiento para luego disminuir a medida que aumenta la temperatura de asentamiento con un valor bajo de CRA a los 60°C. A 4°C y 24 horas de asentamiento los valores de CRA entran en el rango de los máximos mientras que Roussel (1988) asentando a 4°C durante 30 minutos obtiene el mínimo de CRA. Estos resultados aparentemente contradictorios podrían deberse a que asentando a 4°C durante 30 minutos no hay tiempo suficiente por tiempo para que se forme el gel estable.

Lee y col. (1990) encuentran para geles *suwari* de *Nemipterus virgatus* un descenso de la CRA a medida que aumenta el tiempo de asentamiento para temperaturas de 40, 50 y

60°C, y para estas tres temperaturas determinan en el agua liberada proteínas solubles. Con temperaturas de asentamiento de 20 y 30°C tampoco encuentran cambios en CRA por tiempos de asentamiento a lo largo de toda la experiencia que prolongan durante 24 horas.

4.3.2.2 Geles tipo *kamaboko*

En geles tipo *kamaboko* (Fig 4.8) se observa una diferencia por tiempo de calentamiento en los geles asentados a 25°C y a 60°C. A 25°C la CRA mayor con 60 minutos de calentamiento. Un resultado similar obtuvieron Lee y col. (1990) llegando a obtener valores muy parecidos al de los geles *suwari* tratados a la misma temperatura durante dos horas de asentamiento. A 50°C la CRA es mayor con 30 minutos de calentamiento. El lote calentado a 60°C durante 60 minutos no formó gel por lo que el incremento en CRA respecto al *suwari* puede deberse a que al romperse el gel *suwari* al calentar y coagular la proteína libere agua, que no se tiene en cuenta en la toma de muestra ya que la CRA se expresa como porcentaje de agua retenida del total de agua inicial del gel después de someterlo a tratamiento térmico. Este hecho explica así mismo el que los geles calentados a 90°C retienen más agua que los geles tipo *suwari*, cuando en la literatura encontramos resultados diferentes (Niwa 1992; Lee y col. 1990; Roussel y Cheftel, 1988).

El lote de geles asentados a 4°C durante 24 horas presenta valores altos similares a los obtenidos a 25°C durante 60 minutos y a 35°C y 40°C. Roussel y Cheftel (1988) también encontraron un incremento en la CRA en los geles *kamaboko* asentados a 4°C aunque sin alcanzar los valores máximos obtenidos a otras temperaturas.

Excepto los lotes asentados a 25 y a 60°C los geles *kamaboko* no presentan diferencias evidentes entre los distintos tiempos de calentamiento y los datos de CRA son más parecidos a los de geles tipo *suwari*. Roussel y Cheftel (1988) encuentran resultados similares en geles calentados a 90°C durante 30 y 60 minutos.

DUREZA SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

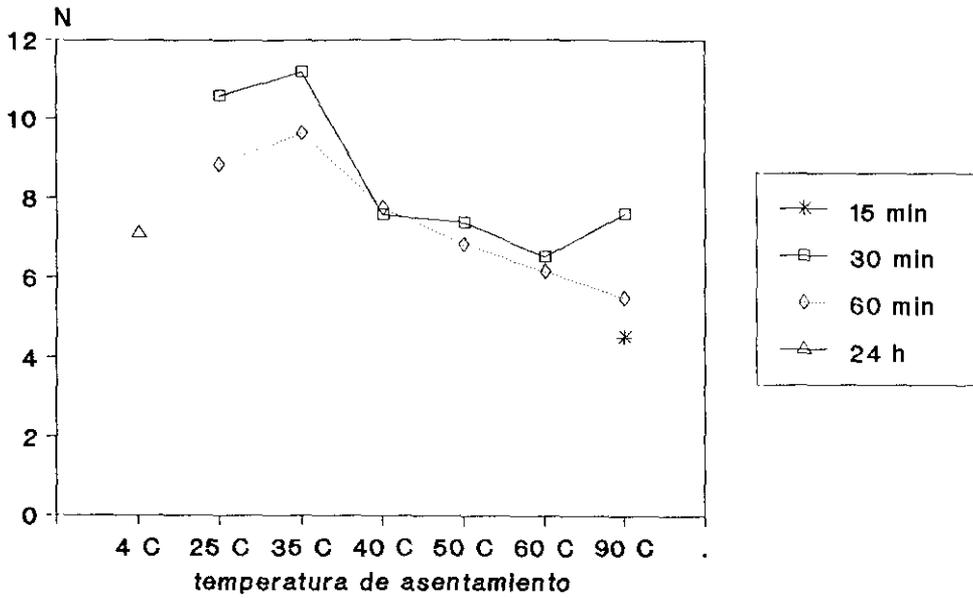


Fig. 4.9.- Dureza (N) de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

DUREZA KAMABOKO

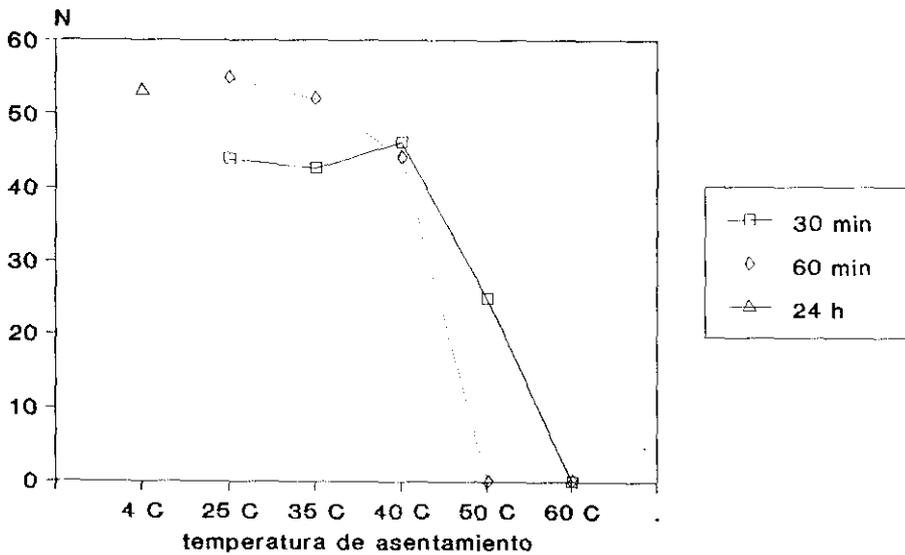


Fig. 4.10.- Dureza (N) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

4.3.3 Determinación de distintos parámetros de textura por ciclos de compresión

Para determinar los parámetros de dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y adhesividad se han realizado ensayos de compresión en dos ciclos tal y como se especifica en el apartado 2.3.2.2.2.1. del capítulo 2 de materiales y métodos. La elección del porcentaje de compresión se estableció teniendo en cuenta el comportamiento de los geles ante una compresión a rotura en donde se observó la respuesta de los geles variaba mucho en función del tipo de gel. Así se tuvieron que aplicar diferentes porcentajes de compresión para los geles tipo *suwari* y *kamaboko* directo (30%) y *kamaboko* con asentamiento (50%).

Hay que destacar que en el caso de los geles *kamaboko* con asentamiento los geles asentados a 50°C durante 60 y a 60°C se rompieron al realizar el ensayo de compresión al 50%.

El ensayo de ciclos de compresión ha sido poco utilizado debido en la mayor parte de los casos a que se requiere de unos medios instrumentales complejos. Esto hace que se encuentre muy poca bibliografía y la que se encuentra hace difícil la interpretación de los resultados ya que el empleo de diferentes porcentajes de compresión para un mismo gel permite obtener curvas muy distintas.

4.3.3.1 Dureza

En las figuras 4.9 y 4.10 se muestran las cifras de dureza al someter a compresión en dos ciclos los geles tipo *suwari* y *kamaboko* directo (Fig 4.9) y con asentamiento previo (Fig 4.10). En los lotes *suwari* los valores de dureza no se presentan muy dispares entre sí teniendo en cuenta los diferentes tiempos utilizados para los que no se encuentran diferencias significativas (tabla 4.II). En general, para los geles *suwari* los tiempos cortos de asentamiento dan geles más duros. Por temperaturas encontramos los máximos valores a 25 y 35°C con 30 minutos de asentamiento contrariamente a los obtenidos por Roussel (1988) encontrando un máximo a 60°C cuando comprime los geles de *surimi* de sardina al 40%.

DUREZA SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

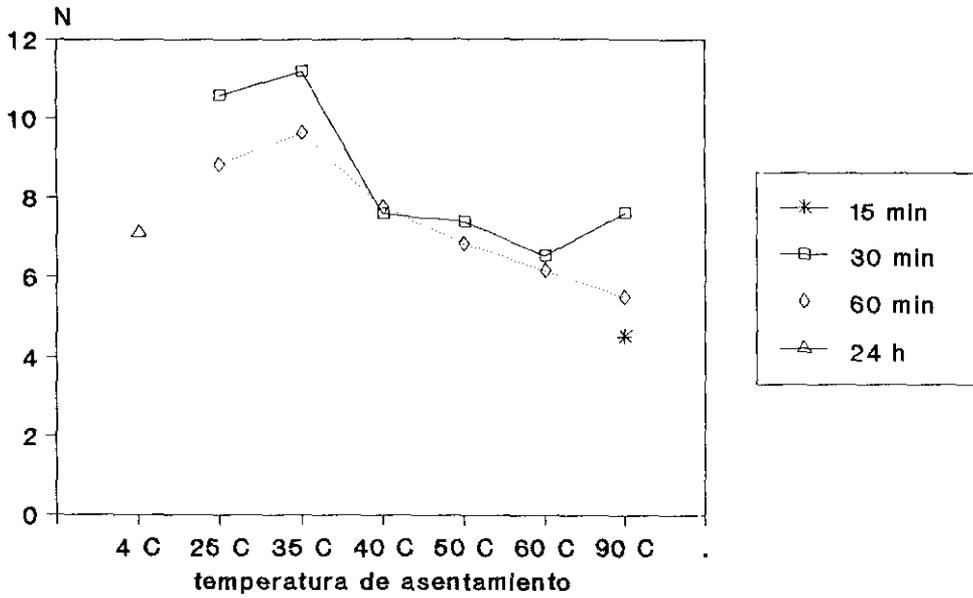


Fig. 4.9.- Dureza (N) de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

DUREZA KAMABOKO

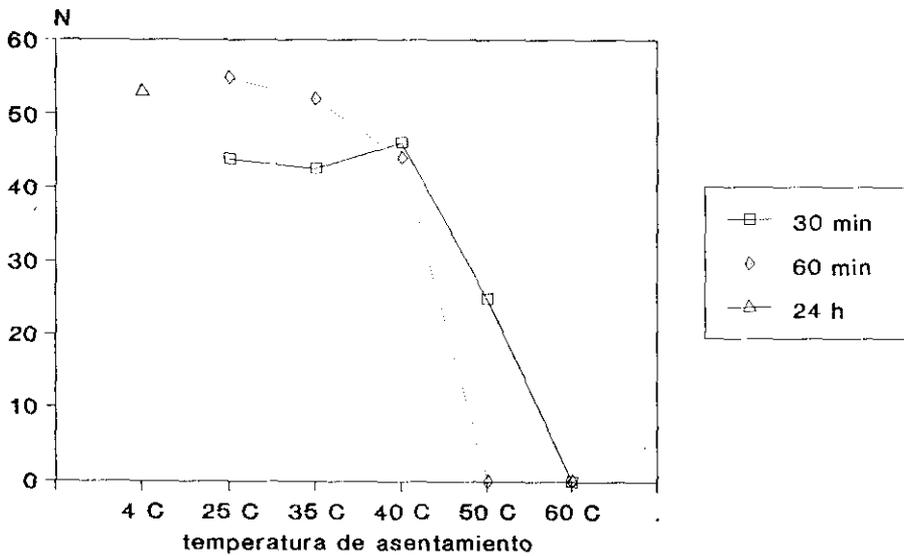


Fig. 4.10.- Dureza (N) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

TABLA 4.II Análisis de varianza para la variable dureza de los geles *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempos de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO			
	24 HORAS	15 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A ABC			
25°C			1 B	1 AB
35°C			1 B	1 A
40°C			1 A	1 ABC
50°C			1 A	1 ABCD
60°C			1 AC	1 BCD
90°C		1 CD	1 A	1 CD

TABLA 4.III Análisis de varianza de la variable dureza de los geles *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de calentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A A		
25°C		1A	1A
35°C		1A	1A
40°C		1A	1A
50°C		B	-
60°C		-	-

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

TABLA 4.IV Análisis de varianza para la variable elasticidad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempos de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO			
	24 HORAS	15 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A AC			
25°C			1 A	1 ABC
35°C			1 B	1 B
40°C			1 AB	1 ABC
50°C			1 AB	1 ABC
60°C			1 AB	1 AB
90°C		1 AB ABC	1 AB	1 C

TABLA 4.V Análisis de varianza de la variable elasticidad de los geles *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de calentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A A		
25°C		1A	1A
35°C		1A	1A
40°C		1A	2B
50°C		B	-
60°C		-	-

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

ELASTICIDAD SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

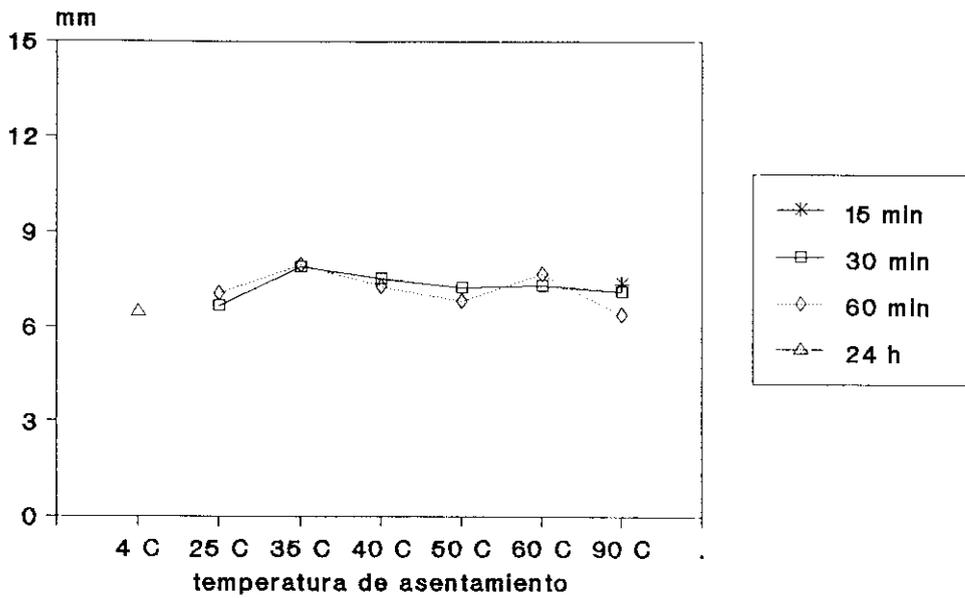


Fig. 4.11.- Elasticidad (mm) de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

ELASTICIDAD KAMABOKO

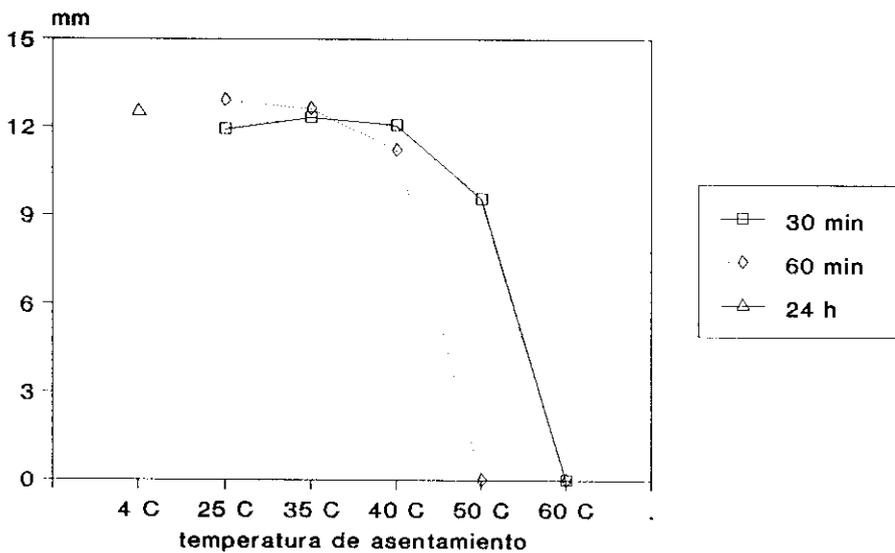


Fig. 4.12.- Elasticidad (mm) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

COHESIVIDAD SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

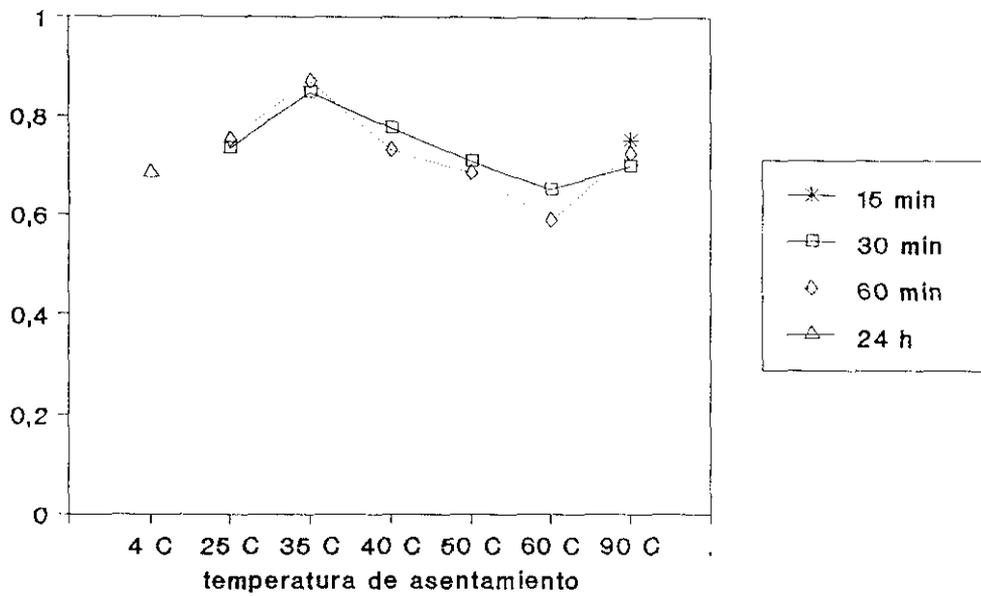


Fig. 4.13.- Cohesividad de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

COHESIVIDAD KAMABOKO

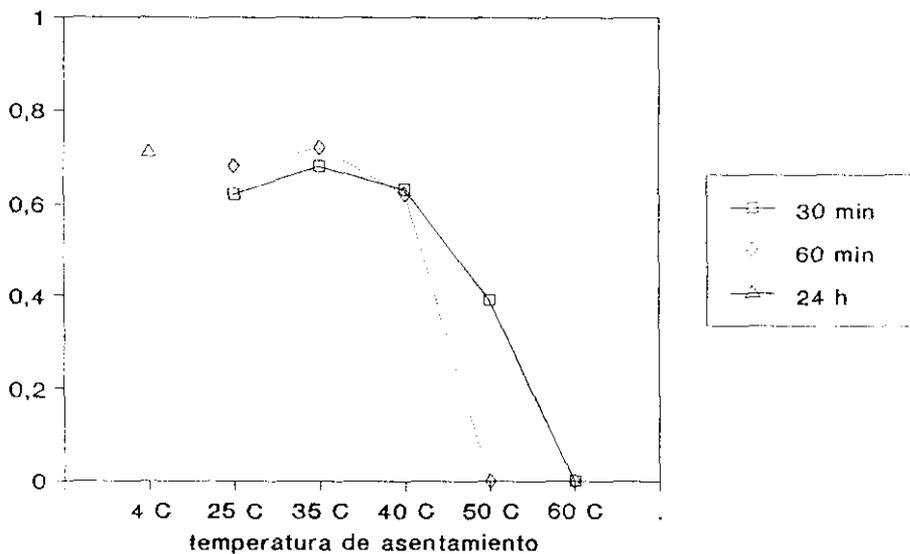


Fig. 4.14.- Cohesividad de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

En los geles *kamaboko* (Fig 4.10) con tiempos largos de asentamiento de 60 minutos se alcanzaron a 25 y 35°C los valores máximos de dureza. En cuanto a las diferentes temperaturas el lote asentado a 50°C presenta diferencias significativas respecto al resto de los lotes (tabla 4.III). Los geles calentados directamente a 90°C tienen mayor dureza a 30 minutos que a 60 minutos (Fig 4.9). Roussel y Cheftel (1988) obtuvieron valores altos de dureza en geles de *surimi* de sardina asentados previamente a 4 y 37°C.

4.3.3.2 Elasticidad

Aunque la elasticidad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo (Fig 4.11) oscila en un rango estrecho se encuentran algunas diferencias significativas (tabla 4.IV) con máximos a temperaturas de asentamiento de 35 y 60°C (Fig 4.11). No existen diferencias significativas entre los distintos tiempos de asentamiento (tabla 4.IV).

Roussel y Cheftel (1988) observan tras un ensayo de compresión relajación un índice de elasticidad superior a temperaturas de 37 y 50°C en geles de *surimi* de sardina.

En cuanto a los geles calentados a 90°C con asentamiento previo (Fig 4.12), se aprecia un descenso en elasticidad para el lote asentado a 50°C durante 30 minutos que presenta diferencias significativas con respecto a los otros lotes. Únicamente se observan diferencias significativas por tiempos de asentamiento en los lotes asentados a 40°C (tabla 4.V).

4.3.3.3 Cohesividad

En la Fig 4.13 se observan los resultados de cohesividad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo. Los geles más cohesivos de todos son los calentados a 35°C con o sin calentamiento posterior mostrando valores significativamente distintos al resto en geles *suwari* (tabla 4.VI). Los menos cohesivos son los de 60°C asentados durante 60 minutos mostrando diferencias significativas con respecto a otras temperaturas de asentamiento (tabla 4.VI).

TABLA 4.VI Análisis de varianza para la variable cohesividad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempos de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO			
	24 HORAS	15 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	AE A			
25°C			1 BE	1 B
35°C			1 C	1 C
40°C			1 D	2 B
50°C			1 E	1 A
60°C			1 A	2 D
90°C		1BD AB	2 E	2 AB

TABLA 4.VII Análisis de varianza de la variable cohesividad de los geles *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de calentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A A		
25°C		1 B	2 A
35°C		1 A	1 A
40°C		1 B	1 B
50°C		C	-
60°C		-	-

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

TABLA 4.VIII Análisis de varianza para la variable gomosidad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempos de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO			
	24 HORAS	15 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	ACD AC			
25°C			1BC	1 AB
35°C			1B	1 B
40°C			1 CD	1 AC
50°C			1 D	1 AC
60°C			1 D	1 C
90°C		1 DC	1 D	1 C

TABLA 4.IX Análisis de varianza de la variable gomosidad de los geles *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de calentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	AC A		
25°C		1BC	2A
35°C		1C	1A
40°C		1C	1B
50°C		D	-
60°C		-	-

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

GOMOSIDAD SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

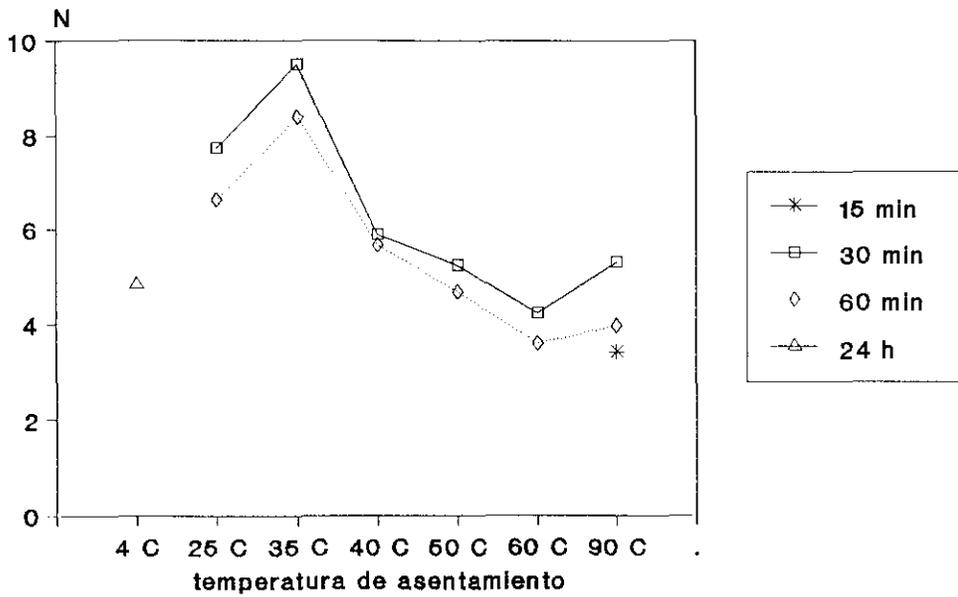


Fig. 4.15.- Gomosidad (N) de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

GOMOSIDAD KAMABOKO

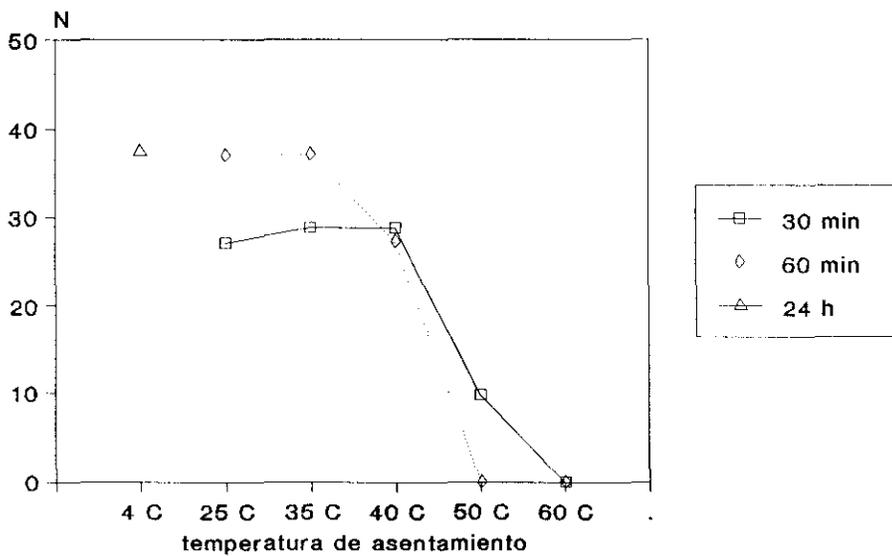


Fig. 4.16.- Gomosidad (N) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

Se aprecian diferencias significativas entre los distintos tiempos de asentamiento para las temperaturas de 40, 60 y 90°C (Fig 4.13)(tabla 4. VI).

En los geles tipo *kamaboko* (Fig 4.14) encontramos diferencias significativas por tiempo de asentamiento a 25°C y por temperaturas aparece como significativamente distinto el asentado previamente a 50°C durante 30 minutos con respecto a los demás lotes asentados durante el mismo tiempo así como el lote asentado a 40°C durante 60 minutos con respecto a los otros lotes también asentados a 60 minutos (tabla 4. VII).

Al igual que ocurre en otros parámetros de textura estudiados la cohesividad desciende a medida que aumenta la temperatura de asentamiento con un descenso más brusco a partir de los 40-50°C.

Los geles asentados a 4°C durante 24 horas que presentaban valores intermedios de cohesividad en los geles tipo *suwari* se obtuvieron valores máximos al calentarlos a 90°C.

4.3.3.4 Gomosidad

La gomosidad cuyos resultados se muestran en las figuras 4.15 y 4.16 presentan una tendencia similar a la observada en los datos obtenidos para el parámetro de dureza y los datos de cohesividad se comportan más como una constante si tenemos en cuenta que la gomosidad es el resultado del producto entre dureza y cohesividad.

En los geles tipo *suwari* (Fig 4.15) los geles de 35 y 25°C son los más gomosos con un máximo a 35°C. Los geles asentados durante 30 minutos presentaban valores más altos que los geles asentados durante 60 minutos para todas las temperaturas estudiadas.

No se aprecian diferencias significativas por tiempos de asentamiento para los geles *suwari* y *kamaboko* directo (tabla 4. VIII).

TABLA 4.X Análisis de varianza para la variable adhesividad de los geles *suwari* y *kamaboko* directo las variables temperatura y tiempos de asentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO			
	24 HORAS	15 MINUTOS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	AB <i>A</i>			
25°C			1 <i>A</i>	1 <i>A</i>
35°C			1 <i>BC</i>	1 <i>AB</i>
40°C			1 <i>CD</i>	1 <i>AB</i>
50°C			1 <i>BCD</i>	1 <i>AB</i>
60°C			1 <i>BCD</i>	1 <i>A</i>
90°C		1 <i>D B</i>	1 <i>BCD</i>	1 <i>B</i>

TABLA 4.XI Análisis de varianza de la variable adhesividad de los geles *kamaboko* y las variables temperatura y tiempo de calentamiento.

TEMPERATURA	TIEMPO DE ASENTAMIENTO		
	24 HORAS	30 MINUTOS	60 MINUTOS
4°C	A <i>A</i>		
25°C		1A	1A
35°C		1A	1A
40°C		1A	1A
50°C		1A	1A
60°C		-	-

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tiempos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas ($p < 0,05$).

Las letras de diferente formato (normal o cursiva y negrilla) indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas para diferentes tiempos de asentamiento ($p < 0,05$).

ADHESIVIDAD SUWARI Y KAMABOKO DIRECTO

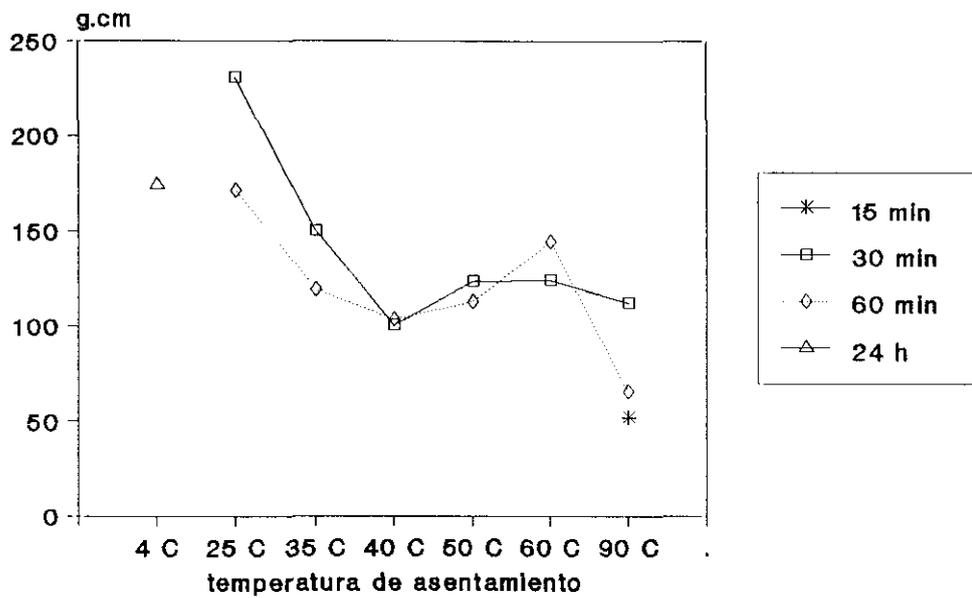


Fig. 4.17.- Adhesividad (g.cm) de geles tipo suwari y kamaboko directo obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

ADHESIVIDAD KAMABOKO

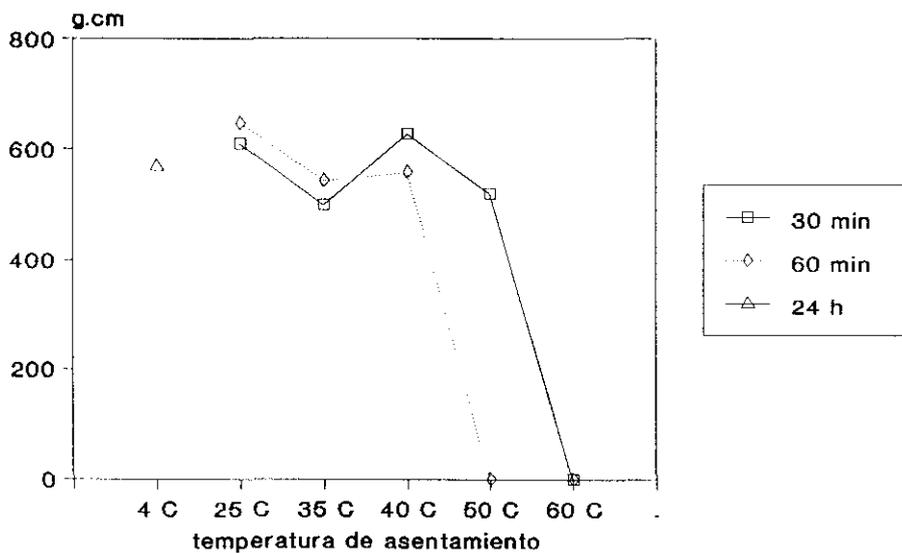


Fig. 4.18.- Adhesividad (g.cm) de geles tipo kamaboko obtenidos con distintos tiempos y temperaturas de asentamiento

Al calentar estos geles a 90°C (Fig 4.16) se observa que los geles asentados durante 60 minutos presentan valores de gomosidad mayores que los asentados a 30 minutos para temperaturas de asentamiento de 25 y 35°C aunque únicamente los geles asentados a 25°C muestran diferencias significativas por temperatura de asentamiento (Fig 4.15 y tabla 4.IX). Los valores más bajos de gomosidad fueron los obtenidos por los geles asentados a 50°C durante 30 minutos siendo un lote que presenta diferencias significativas con respecto a los demás lotes asentados durante 30 minutos (tabla 4.IX).

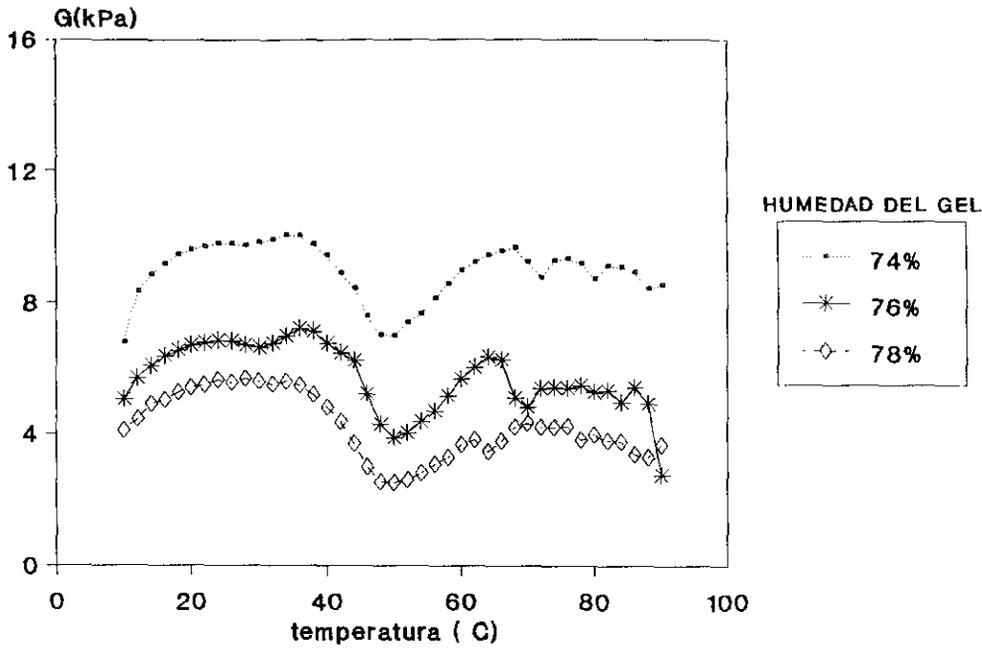
Los geles asentados a 4°C durante 24 horas que presentaban valores intermedios de gomosidad en los geles tipo *suwari* se obtuvieron valores máximos al calentarlos a 90°C al igual que ocurría con los datos obtenidos en cohesividad (Fig 4.13 y 4.14).

4.3.3.5 Adhesividad

En los geles *suwari* y *kamaboko* directo (Fig 4.17) la adhesividad presenta los valores más altos a temperaturas de 25°C de asentamiento a 30 minutos con valores significativamente distintos a las otras temperaturas exceptuando la temperatura de 4°C. No se observaron diferencias significativas por tiempos de asentamiento (tabla 4.X). En este tipo de geles se produce un descenso en la adhesividad con un mínimo en 40°C para aumentar a los 50°C si bien, estadísticamente no se aprecian diferencias significativas entre los geles asentados a 35, 40, 50 y 60°C (tabla 4.X). En los geles *kamaboko* directo se obtuvieron los valores más bajos de todos con 15 y 60 minutos de calentamiento.

Los valores de adhesividad en los geles tipo *kamaboko* se igualan más entre sí (fig 4.18) por temperaturas y tiempos de asentamiento (tabla 4.XI). El lote asentado a 40°C que presentaba resultados bajos en el asentamiento recupera adhesividad al calentar a 90°C obteniendo cifras similares a las obtenidas en el rango de temperaturas de 4 a 35°C.

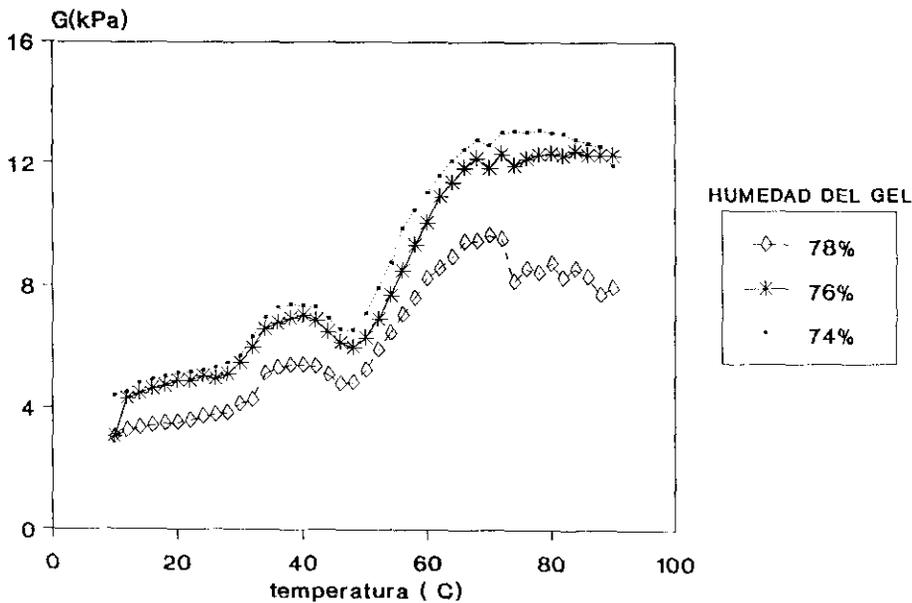
MODULO DE RIGIDEZ



LOTE A

Fig. 4.19.- Módulo de rigidez (kPa) de geles (LOTE A) con distintas humedades (74%, 76% y 78%) durante el tratamiento térmico

MODULO DE RIGIDEZ



LOTE B

Fig. 4.20.- Módulo de rigidez (kPa) de geles (LOTE B) con distintas humedades (74%, 76% y 78%) durante el tratamiento térmico

4.3.4 Determinación del módulo de rigidez

La evaluación continua de los cambios en el módulo de rigidez en función de la temperatura es muy sensible para la detección de puntos en donde tienen lugar cambios (Montejano y col., (1983). Por ello y con el propósito de observar los cambios en textura durante el paso de sol a gel a medida que se calienta la muestra, se determinó el módulo de rigidez según se describe en el apartado 2.3.2.2.1.2 del capítulo 2.

La Fig. 4.19 muestra el módulo de rigidez del *surimi* de sardina (Lote A) con tres humedades finales del sol del 74, 76 y 78% de humedad. Los valores de G son más altos en los geles de baja humedad en donde hay mayor cantidad de materia seca y mínimos en los de 78%. En todos los casos a partir de la temperatura inicial hay un incremento del valor de G a medida que aumenta la temperatura hasta obtener un punto máximo que varía en función de la humedad. Los máximos para 74, 76 y 78% de humedad son a los 34, 36 y 38°C respectivamente. A partir de esta temperatura las curvas presentan una disminución con un mínimo a los 50°C para las tres humedades estudiadas, alcanzando posteriormente a partir de 70°C unos valores que tienden a estabilizarse dentro del rango de temperaturas estudiado. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Leinot (1991) por calorimetría diferencial aplicada a *surimi* de sardina al encontrar tres picos a 40, 50 y 70°C que se corresponden con las temperaturas a las que tiene lugar un despliegue de la AM, miosina y actina respectivamente. Montejano y col (1983) encuentran para *surimi* de abadejo de Alaska el valor máximo de G a 38°C, y un valor mínimo a los 45°C, aumentando progresiva y uniformemente la rigidez a partir de esta temperatura. Wu y col. (1985) encuentran valores máximos de rigidez entre 35 y 40°C para actomiosina de atlantic croacker (*Micropogon undulatus*) y mínimos en temperaturas de 46°C. Para estos autores los máximos obtenidos en rigidez se corresponden con temperaturas óptimas de asentamiento para las especies estudiadas e indicarían cambios conformacionales que tienen lugar por la formación de la estructura de la red (Wu y col., 1985). A partir de esta temperatura disminuyen los valores de G. Estos descensos en rigidez observados indican así mismo cambios de conformación e interacción entre las proteínas que se corresponden con un debilitamiento de la estructura de red formada (Carballo y col., 1992; Sano, 1988; Montejano y col., 1983) y que Sano (1988)

atribuye al inicio de *modori*, que explica como un fenómeno de agregación por la formación de interacciones hidrofóbicas y puentes disulfuro.

Sano (1988) atribuye el incremento en la rigidez a partir de los 50°C al fenómeno de entrecruzamiento de la AM en la matriz del gel parcial y previamente destruida y no a un cambio conformacional de las moléculas de la proteína como ocurre a otras temperaturas.

En la Fig. 4.20 se muestran los valores de G en geles de *surimi* de sardina (Lote B) de otro lote diferente ajustando las humedades finales de los geles a 74, 76 y 78% de humedad. En este caso se observa una meseta entre los 30 y 44°C que se correspondería con temperaturas óptimas de asentamiento. La disminución de rigidez observada en los otros geles elaborados con *surimi* del Lote A a 50°C se observa en los geles elaborados con el Lote B a 48°C. Para estos lotes y a las tres humedades estudiadas se observa a partir de esta temperatura un incremento en la rigidez alcanzándose valores superiores a los de los lotes elaborados con el *surimi* B. Al igual que ocurría con el lote A los valores de G son menores a medida que se incrementa la humedad final del sol de *surimi*. Las diferencias entre los lotes A y B para *surimi* de la misma especie ya ha sido observada por otros autores en *surimi* de abadejo de Alaska atribuyéndolo a las diferentes condiciones fisiológicas de los peces (Kim y col., 1986).

En cualquier caso tanto para el lote A como para el B existe un óptimo de temperaturas de asentamiento que tiene máximos diferentes en función de la humedad y del lote. Para el *surimi* de sardina se pueden establecer unas temperaturas de asentamiento en donde no se preven modificaciones importantes porque alrededor de ellas no tienen lugar grandes variaciones en textura debidas a los cambios conformacionales de la proteína. Existe luego otro rango de temperaturas que aunque con valores de G óptimos están muy cercanas a las temperaturas a las cuales existen cambios en la proteína por ser una zona en la que los enlaces secundarios establecidos comienzan a modificarse y por lo tanto la textura está muy afectada por variaciones ligeras de temperatura durante el procesado.

4.3.5 Efecto de distintos tratamientos térmicos en la solubilidad de los geles *kamaboko* y *suwari*. Influencia de diferentes agentes químicos

Con el fin de conocer la naturaleza de las diferentes interacciones que tienen lugar en la formación de los geles tipo *suwari* y *kamaboko* se ha realizado el estudio de solubilidad con distintos agentes químicos determinando la concentración de proteína, el perfil electroforético y los grupos SH en geles *suwari* y *kamaboko* para ver el efecto del asentamiento en la red inicial (*suwari*) y en la red final (*kamaboko*).

La selección de los diferentes agentes químicos se realizó teniendo en cuenta el tipo de enlaces que intervienen de forma mayoritaria en la gelificación del *surimi* utilizando soluciones específicas para provocar su rotura.

Los geles se elaboraron a temperaturas de asentamiento de 35, 40 y 60°C durante 30 minutos y el tratamiento térmico para los geles tipo *kamaboko* fué de 90°C durante 30 minutos. Las temperaturas de 35 y 40°C se seleccionaron por ser las temperaturas de asentamiento en donde la RG es máxima y están dentro de una zona estable (35°C) y de comienzo de modificación (40°C) tanto para geles *suwari* como para geles *kamaboko*. La temperatura de 60°C se eligió como temperatura de *modori*. Los geles de *surimi* se elaboraron según se indica en el apartado 2.2.2 de materiales y métodos y la obtención de las diferentes fracciones se realizó según se indica en el apartado 2.3.2.6 del mismo capítulo obteniendo las fracciones solubles S1, S2, S3 y S4 y una fracción insoluble (PP) siguiendo el esquema que se muestra en la Fig 2.4. Se determinaron la concentración de proteína de todas las fracciones solubles, grupos SH de las fracciones S1, S2 y S3 y se realizó el perfil electroforético de todas las fracciones solubles y la insoluble en geles de poliacrilamida al 12,5%, y para las fracciones S4 y PP se realizaron además perfiles electroforéticos en gradiente del 4–15%.

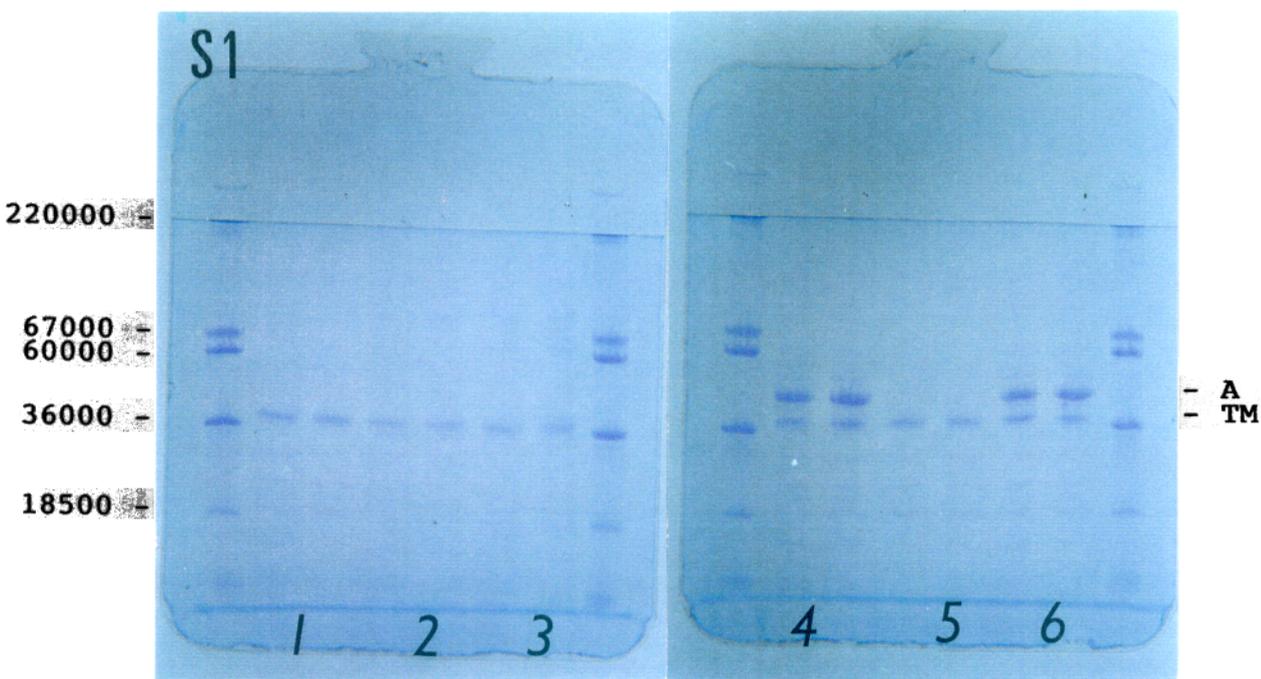
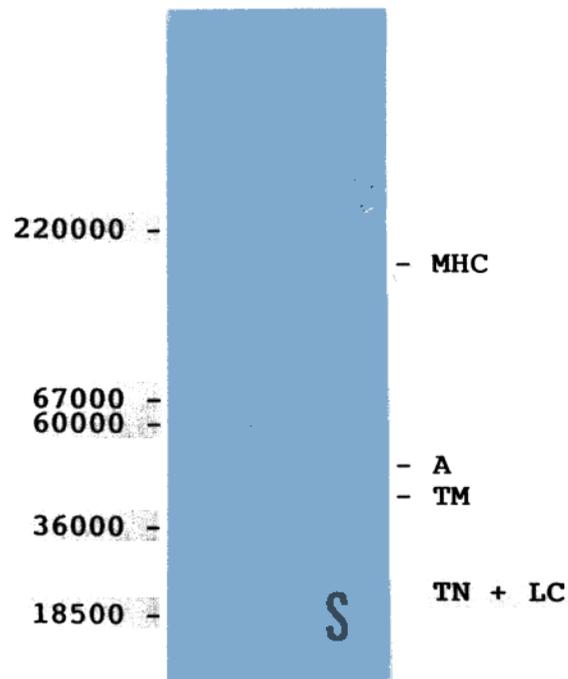


Fig 4.21.- Electroforesis de geles de poliacrilamida al 12,5% en condiciones desnaturalizantes (SDS) de surimi de sardina (S) y de geles *suwari* y *kamaboko* solubilizados con la solución 1 (S1) y obtenidos a: 1) 60°C 30 min/90°C 30 min; 2) 60°C 30 min; 3) 40°C 30 min/90°C 30 min; 4) 40°C 30 min; 5) 35°C 30 min/90°C 30 min; 6) 35°C 30 min. (MHC:Cadena pesada de miosina. A:Actina. TM:Tropomiosina. TN:Troponina. LC:Cadenas ligeras)

4.3.5.1 Perfil electroforético y solubilidad proteica

Las Figuras 4.21 a la 4.24, muestran los perfiles electroforéticos de las fracciones obtenidas de los geles proteicos estudiados sometidos a la acción de las distintas soluciones tampon.

La Fig 4.21 muestra el perfil electroforético de *surimi* de sardina. Se observa que las bandas mayoritarias son la cadena pesada de la miosina (MHC)(200000 dalton), actina (42000 dalton) y tropomiosina (37000 dalton) como ya ha sido observado por otros autores (Roussel, 1988; Leinot 1991).

En la tabla 4.XII se muestran los valores de proteína solubilizada (mg de proteína solubilizada/0,9g de gel) con las diferentes soluciones tampón obtenido en los geles *suwari* y *kamaboko* y en las Figuras 4.21 a 4.24 los perfiles electroforéticos de las fracciones solubles en cada solución tampon y para el precipitado insoluble en la solución 4.

En los geles tratados con la solución 1 (NaCl 0,6M)(tabla 4.XII) se observa que en los geles *suwari* y *kamaboko* apenas varía la solubilidad en función de la temperatura de asentamiento y tratamiento térmico final. En el perfil electroforético de las proteínas solubilizadas muestra la presencia de tropomiosina en todos los geles y de actina en geles *suwari* a 35 y 40°C. Se observan aunque en menor proporción proteínas de peso molecular inferior a 37000 dalton que se corresponden con troponinas y cadenas ligeras de miosina (Fig 4.21).

Cuando el precipitado obtenido se somete a la acción de la solución 2 (NaCl 0,6M 1,5M urea) se obtiene menor cantidad de proteína solubilizada que con S1 (tabla 4.XII). En los geles *suwari* no existen diferencias significativas en solubilidad entre 35 y 40°C y disminuye la solubilidad a 60°C. Los geles *kamaboko* asentados a 35 y 40°C presentan menor solubilidad respecto a los geles *suwari* no encontrando diferencias significativas entre estos geles y los obtenidos con asentamiento a 60°C. Los perfiles electroforéticos de las proteínas

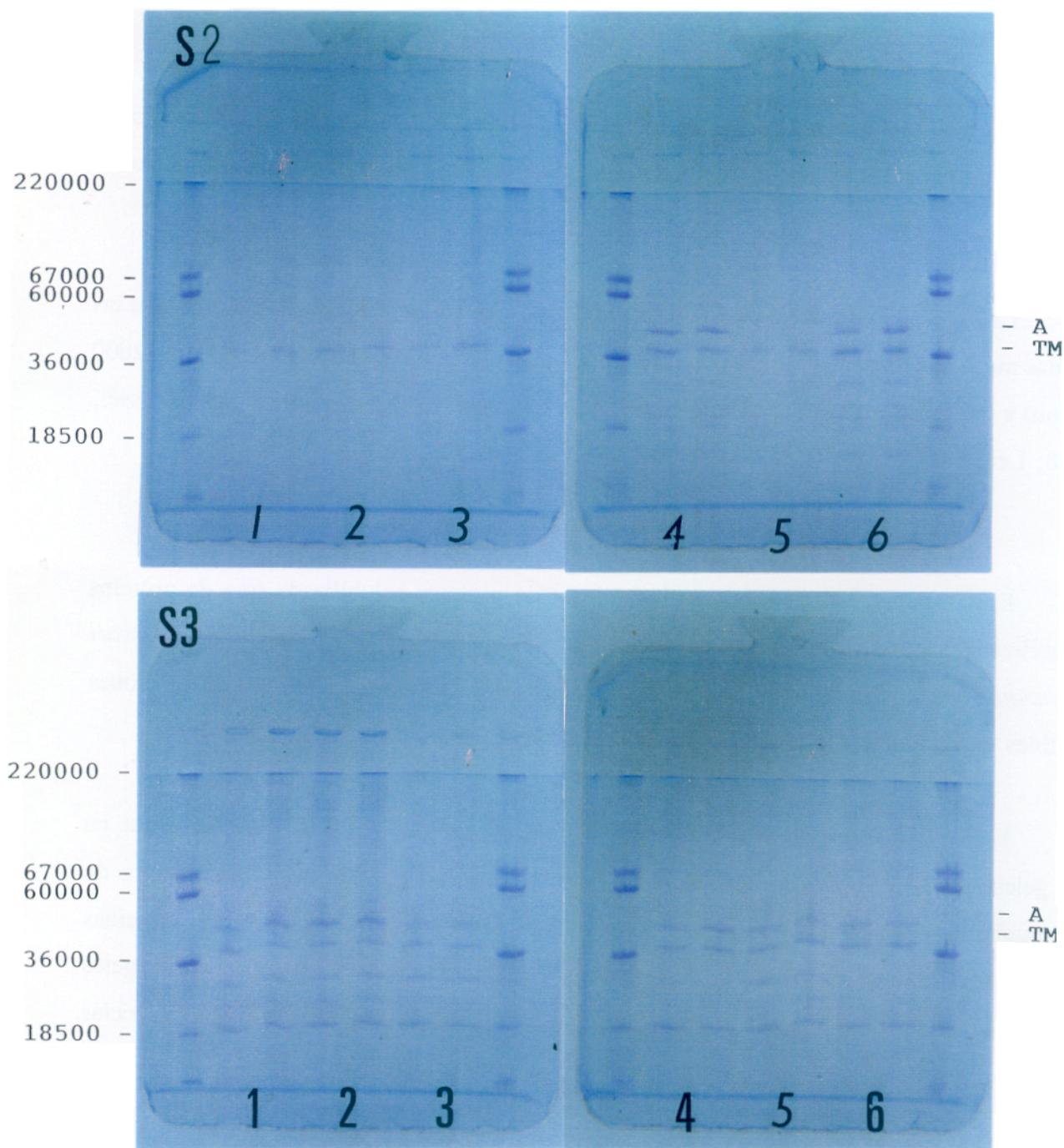


Fig 4.22.- Electroforesis de geles de poliacrilamida al 12,5% en condiciones desnaturizantes (SDS) de geles *suwari* y *kamaboko* solubilizados con la solución 2 (S2) y 3 (S3) obtenidos a: 1) 60°C 30 min/90°C 30 min; 2) 60°C 30 min; 3) 40°C 30 min/90°C 30 min; 4) 40°C 30 min; 5) 35°C 30 min/90°C 30 min; 6) 35°C 30 min. (A:Actina. TM:Tropomiosina)

Tabla 4.XII Determinación de de proteína soluble (mg de proteína soluble/0,9g de gel) para los geles *suwari* y *kamaboko* con temperaturas de asentamiento de 35, 40 y 60°C en las diferentes soluciones estudiadas (S1 a S4).

	S1		S2		S3		S4	
	KAMABOKO	SUWARI	KAMABOKO	SUWARI	KAMABOKO	SUWARI	KAMABOKO	SUWARI
35°C	23.85 ± 0.30 A1	23.73 ± 0.35 A1	4.39 ± 0.46 A1	11.67 ± 0.53 B1	15.42 ± 2.62 A1	17.29 ± 2.14 A1	1.59 ± 0.54 A1	1.20 ± 0.44 A1
40°C	22.51 ± 0.30 A2	23.85 ± 0.30 B1	4.40 ± 0.46 A1	9.97 ± 0.46 B1	11.98 ± 1.85 A1	15.43 ± 1.85 A1	1.07 ± 0.38 A1	0.92 ± 0.38 A1
60°C	22.17 ± 0.30 A2	22.58 ± 0.30 A1	6.61 ± 0.46 A2	6.52 ± 0.65 A2	25.33 ± 1,85 A2	27.69 ± 2.62 A2	9.45 ± 0.38 A2	5.87 ± 0.38 B2

Los números distintos en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas de asentamiento ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre geles tipo *suwari* y *kamaboko* ($p < 0,05$).

Tabla 4.XIII Porcentaje de proteína soluble para los geles *suwari* y *kamaboko* con temperaturas de asentamiento de 35, 40 y 60°C.

TEMPERATURA	KAMABOKO	SUWARI
35°C	43.23 ± 2.16 A1	51.51 ± 1.77 A12
40°C	38.20 ± 1.53 A1	47.95 ± 1.53 B1
60°C	60.76 ± 1.53 A2	58.81 ± 2.16 A2

Los números distintos en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes temperaturas de asentamiento ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre geles tipo *suwari* y *kamaboko* ($p < 0,05$).

solubilizadas (Fig 4.22) son análogos a los de la solución S1 (Fig 4.21) para cada tipo y temperatura de gel apareciendo más marcadas las bandas de bajo PM (< de 37000) en los geles tipo *suwari* (Fig 4.22).

En presencia de la solución S3 (0,6M NaCl, 8M de urea) en ambos tipos de geles se observan diferencias significativas en función de la temperatura de asentamiento solubilizándose más cantidad de proteína a 60°C y menos a 40°C (tabla 4.XII). No existen diferencias significativas de solubilidad proteica para geles tipo *suwari* y *kamaboko*. En el perfil electroforético (Fig 4.22) se observa la presencia de actina, tropomiosina y una banda de PM de aproximadamente 18500 dalton en todos los geles con independencia del tipo de gel (*suwari* o *kamaboko*) y temperatura de asentamiento. Además en los geles tipo *kamaboko* asentados a 35 y 40°C y a 60°C, se extrae una mayor cantidad de bandas de bajo PM (< 37000) (Fig 4.22). El que en geles tipo *suwari* a 35 y 40°C estas bandas de bajo PM aparezcan en menor cantidad puede ser debido a que han sido previamente extraídas con la solución S1 y S2. Hay que destacar así mismo la aparición en los geles asentados a 60°C de bandas en la zona de interfase (entre el gel espaciador y separador) de los dos geles así como proteína retenida en la zona de aplicación que no ha entrado en el gel.

Cuando se solubiliza el precipitado residual en presencia de la solución 4 (0,6M NaCl 8M urea y 5%ME) observamos una mayor solubilización cuando se asienta a 60°C representando un porcentaje elevado de proteína solubilizada con respecto a las otras dos temperaturas así como diferencias significativas entre los geles *suwari* y *kamaboko*. No se observan sin embargo diferencias significativas entre geles *suwari* y *kamaboko* a 35 y 40°C. En los geles *suwari* y *kamaboko* (Fig 4.23) se aprecian con claridad bandas correspondientes a actina y en mucha menor cantidad a la tropomiosina. En los geles asentados a 60°C la intensidad de la banda de actina es mayor así como la aparición de mayor cantidad de bandas de alto PM existiendo ligeras cantidades de miosina y mayor cantidad de proteína retenida de alto PM tanto en la zona de aplicación como en la zona de interfase (Fig 4.23).

Con el propósito de identificar de forma más precisa la naturaleza de las bandas de alto PM y de la proteína retenida en la interfase que aparecen en los perfiles electroforéticos

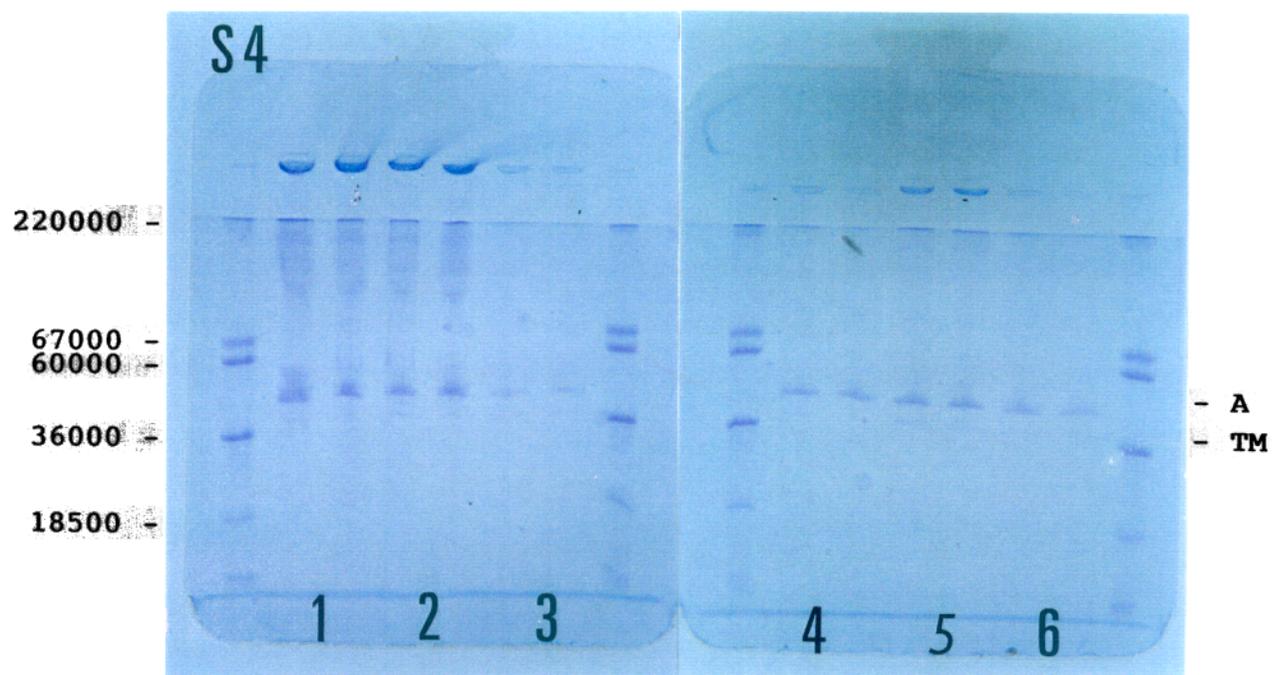


Fig 4.23.- Electroforesis de geles de poliacrilamida al 12,5% en condiciones desnaturalizantes (SDS) de geles *suwari* y *kamaboko* solubilizados con la solución 4 (S4) obtenidos a: 1) 60°C 30 min/90°C 30 min; 2) 60°C 30 min; 3) 40°C 30 min/90°C 30 min; 4) 40°C 30 min; 5) 35°C 30 min/90°C 30 min; 6) 35°C 30 min. (A:Actina. TM:Tropomiosina)

de las proteínas solubilizadas con la solución S4 y la fracción insoluble (PP) se realizó una electroforesis en geles de poliacrilamida en gradiente (4-15%) (Fig 4.24). En este perfil se confirma la presencia de la cadena pesada de la miosina (MHC) en geles *suwari* y *kamaboko* a 60°C y en mucha menor cantidad en geles *kamaboko* de 35° y casi no se aprecian en los de 40°C. En estas condiciones no se observan dímeros o trímeros de miosina aunque se aprecia un alto contenido de proteína solubilizada que no entra en el gel en la zona de aplicación y algo de proteína en la interfase. En todos los geles *kamaboko* y en los *suwari* asentados a 60°C aparece una banda por encima de la actina (PM alrededor de 50000). La aparición de este tipo de banda ha sido observada en geles de AM por otros autores (Jiménez-Colmenero y col., aceptado para su publicación)

En la tabla 4.XIII se observa el porcentaje de proteína solubilizada de los diferentes geles *suwari* y *kamaboko* según la temperatura de asentamiento. Se observa como los geles tipo *kamaboko* hay un porcentaje menor de proteína solubilizada con respecto a los *suwari* a 35 y 40°C aunque únicamente se observan diferencias significativas entre geles *suwari* y *kamaboko* a temperaturas de asentamiento de 40°C. Entre las diferentes temperaturas de asentamiento los geles con mayor porcentaje de proteína soluble son los de 60°C presentando diferencias significativas con respecto a las otras dos temperaturas de asentamiento. En el perfil electroforético de las fracciones insolubles (Fig 4.24) se observa además de las bandas correspondientes a la actina, la aparición de bandas de alto PM en todos los geles proteicos con independencia del tratamiento térmico empleado. En todos los geles *kamaboko* y en los *suwari* asentados a 60°C aparece una banda-agregado por encima de la actina (PM alrededor de 50000) similar a la observada cuando se solubilizaba con la solución S4 y una banda correspondiente a la cadena pesada de la miosina. La aparición de la MHC podría deberse a la disociación de algunas moléculas de miosina. Sano (1988) observa en AM de carpa disociación de moléculas de miosina a partir de los 40°C quedando la red de AM formada como una red "pobre" en miosina. Esto se confirma en geles de poliacrilamida en gradiente (4-15%) como se muestra en la Fig 4.24.

Conviene destacar que en el precipitado había una alta proporción de proteína que permanecía insoluble aún después del tratamiento de la muestra sometida a electroforesis

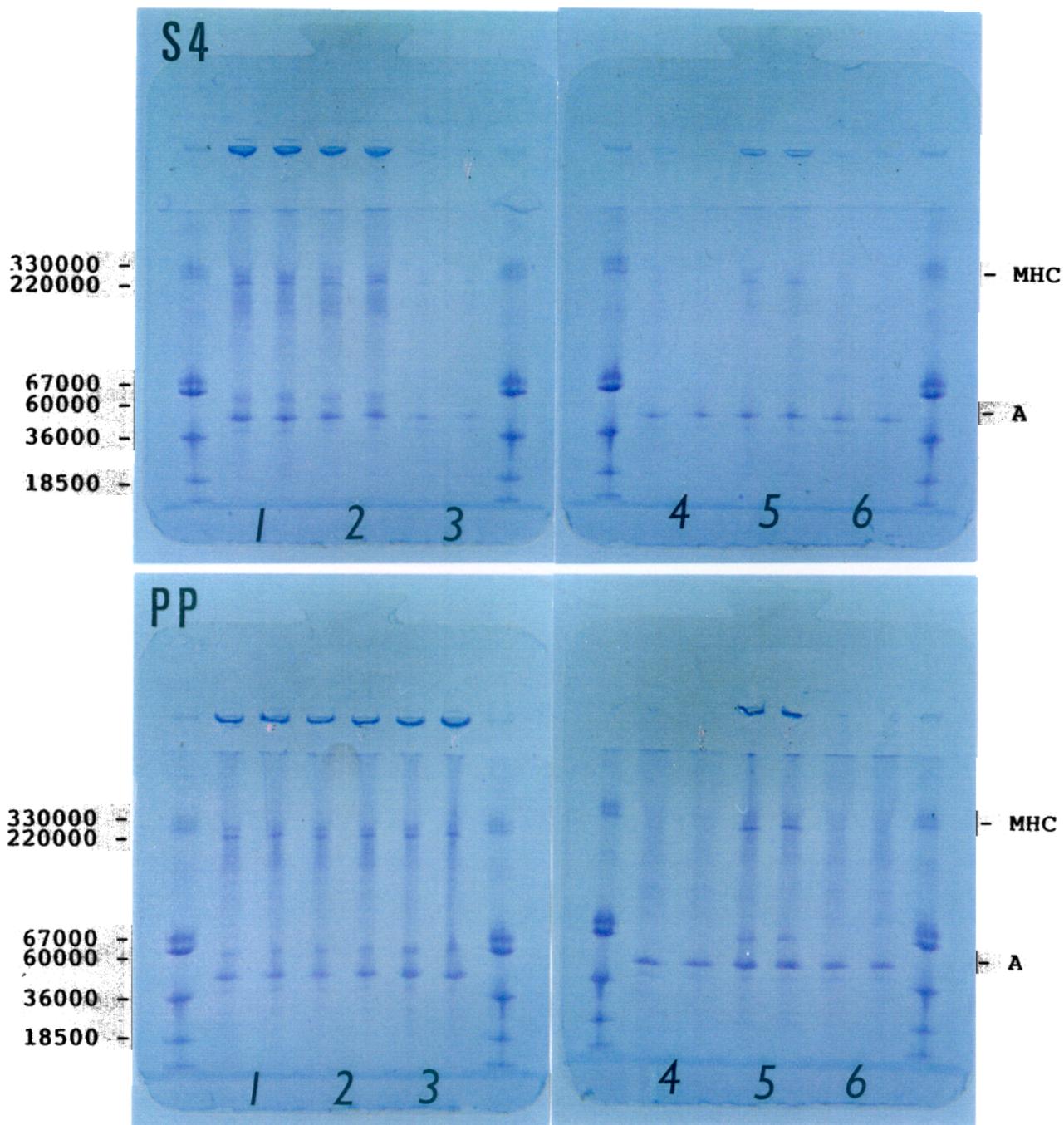


Fig 4.24.- Electroforesis de geles de poliacrilamida en gradiente (4 al 15%) en condiciones desnaturizantes (SDS) de geles *suwari* y *kamaboko* solubilizados con la solución 4 (S4) y del precipitado residual (PP) obtenidos a: 1) 60 °C 30 min/90 °C 30 min; 2) 60 °C 30 min; 3) 40 °C 30 min/90 °C 30 min; 4) 40 °C 30 min; 5) 35 °C 30 min/90 °C 30 min; 6) 35 °C 30 min. (MHC:Cadena pesada de miosina. A:Actina)

indicando que en la formación de geles *suwari* y *kamaboko* existe una contribución importante que no ha sido cuantificada de enlaces covalentes no disulfuro. Por otro lado hay que tener en cuenta la posible influencia del tratamiento mecánico a la hora de extraer con las diferentes soluciones.

En general y con respecto a las soluciones estudiadas se observa un elevado porcentaje de solubilidad proteica con la solución S1 indicando un significativo papel de las interacciones electrostáticas en la formación de los geles (tabla 4.XII). También se observa una notable implicación de las interacciones hidrofóbicas con respecto a los puentes de hidrógeno ya que se aprecian resultados de concentración proteica superiores al solubilizar con S3 con respecto a S2.

Roussel (1988) solubiliza geles *suwari* y *kamaboko* asentados a 37 y 60°C con cuatro soluciones tampón similares a las utilizadas en el presente trabajo. En su caso la solubilidad de los geles *suwari* es superior a 60°C mientras que para los geles *kamaboko* la solubilidad es similar para las dos temperaturas.

Por temperaturas de asentamiento destacan los valores más altos de solubilidad para las soluciones S3 y S4 en los geles asentados a 60°C tanto *suwari* como *kamaboko* lo que indicaría la mayor implicación de interacciones hidrofóbicas y de puentes disulfuro en estos geles. Este hecho unido a la presencia de mayor cantidad de proteína retenida en la zona de interfase y de aplicación en el gel de poliacrilamida indicaría la presencia de agregados de alto PM y que se podría interpretar como fenómeno de *modori* debido al proceso de desnaturalización térmica de las proteínas del músculo (Toyohara y Shimizu, 1988; Yamashita y col., 1989) que trae como consecuencia la formación en exceso de puentes disulfuro (Sano, 1988).

Independientemente de la cantidad de proteína solubilizada en los geles tipo *suwari* asentados a 35 y 40°C aparece actina cuando los geles son tratados con las soluciones S1, S2 y S3 mientras que en los geles asentados a 60°C esta proteína únicamente aparece cuando los geles se trataron con una solución específica para interacciones hidrofóbicas (S3). Con

esta última solución (S3) aparecen en el perfil bandas de bajo peso molecular correspondientes entre otras a cadenas ligeras de miosina y troponinas. En los geles *suwari* aparece MHC en geles asentados a 60°C tratados con la solución S4 y para las otras dos temperaturas estudiadas (35 y 40°C) en la fracción insoluble.

Roussel (1988) solubiliza geles *suwari* y *kamaboko* asentados a 37 y 60°C con una solución tampon equivalente a la solución 4 empleada por nosotros y también observa MHC en los geles *suwari* de 60°C y no en los asentados a 37°C. Lee y col. (1990) en geles *suwari* de *Nemipterus virgatus* obtienen resultados similares a los nuestros observando como a medida que aumenta la temperatura de asentamiento se aprecian mayor cantidad de proteínas de alto PM (MHC y componentes entre la banda de actina y la MHC).

En los geles tipo *kamaboko* el perfil electroforético de los diferentes geles proteicos es similar a las tres temperaturas de asentamiento estudiadas. No se extrae actina hasta que los geles no se trataron con la solución S3 que rompe interacciones hidrofóbicas encontrándose así mismo bandas correspondientes a proteínas de bajo peso molecular. Con la solución S4 extraemos MHC en geles asentados a 35 y 60°C de acuerdo con los resultados obtenidos por Roussel (1988) no apreciándose apenas en los geles asentados a 40°C.

El hecho de encontrar para las diferentes temperaturas de asentamiento las proteínas solubilizadas cuando utilizamos distintas soluciones implicaría que las proteínas estarían unidas a la red mediante diferentes tipos de enlaces dependiendo de la temperatura de asentamiento.

4.3.5.2 Determinación de grupos SH en las fracciones solubles

La determinación de los grupos SH se realizó en las fracciones solubles S1, S2 y S3 obtenido siguiendo el protocolo descrito en la Fig 2.4.

Cuando se solubilizan los geles con la solución 1 (0,6M NaCl) a pesar de que la solubilidad proteica para todos los geles *suwari* y *kamaboko* fué similar (tabla 4. XII) los

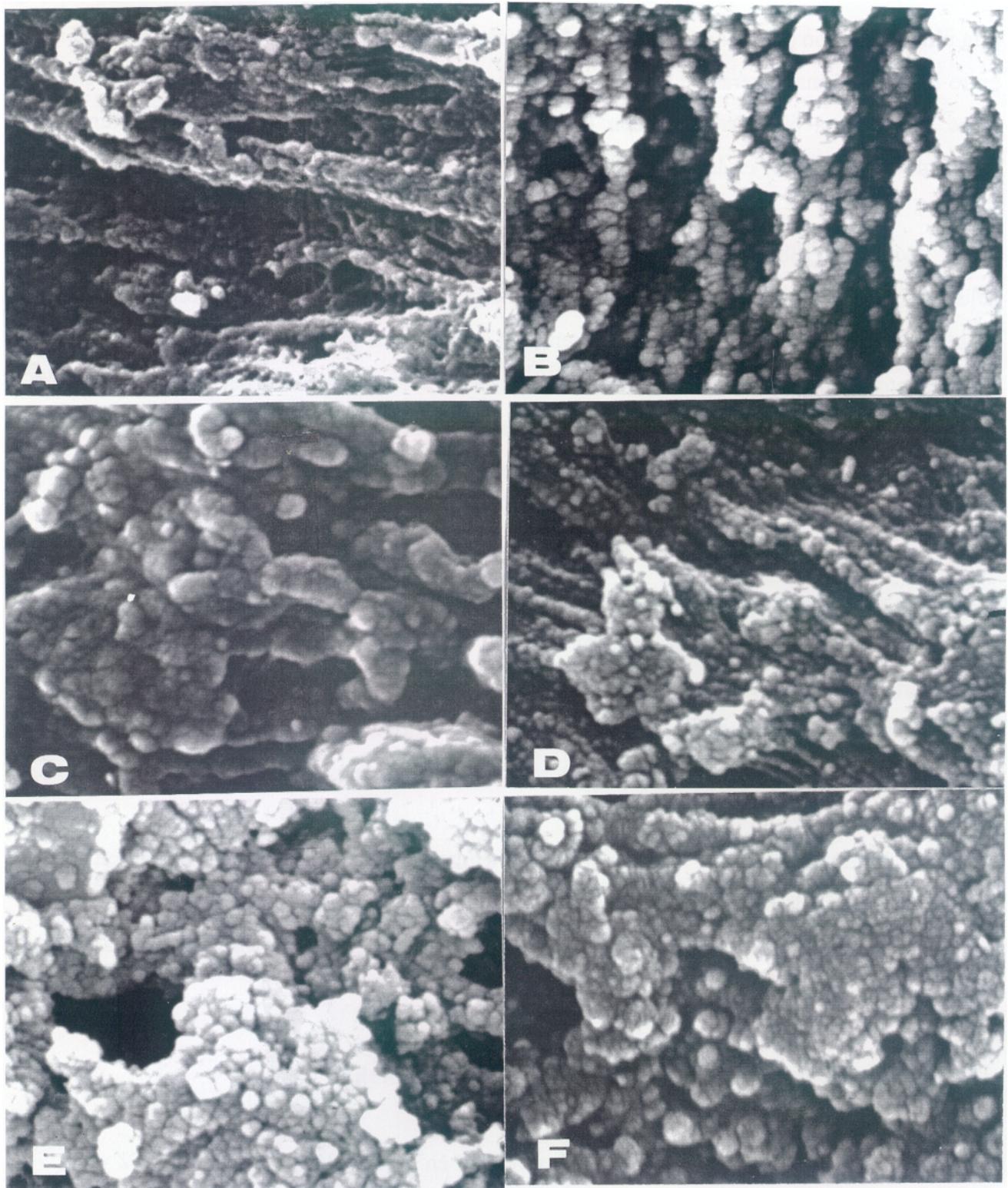


Fig 4.25 Geles obtenidos con distintos tratamientos térmicos: Geles *suwari*: a (35 °C), c (40 °C), e (60 °C). Geles *kamaboko*: b (35 °C), d (40 °C), f (60 °C). Todas las micrografías x20.000

valores de grupos SH de la proteína extraída de los geles *suwari* a 35 y 40°C son significativamente más altos que en los geles tipo *kamaboko* y *suwari* a 60°C. No existen diferencias significativas a una temperatura de asentamiento de 60°C entre los geles *suwari* y *kamaboko* (tabla 4.XIV).

En los geles *suwari* a 35 y 40°C el incremento de los valores de los grupos SH podría ser debido a la presencia de actina solubilizada o bien a la presencia de puentes disulfuro intramoleculares en los geles *kamaboko* y *suwari* a 60°C.

En la proteína extraída al solubilizar con la solución S2 (NaCl 0,6M urea 1,5M), al determinar los grupos SH se observa que en los geles *suwari* y *kamaboko* a 35 y 40°C no existen diferencias significativas entre los dos tipos de geles aunque se aprecia un leve incremento de los grupos SH en los geles tipo *kamaboko*. También se observa un incremento de los grupos SH al incrementarse la temperatura de asentamiento para los dos tipos de geles.

Al solubilizar con la solución 3 no existen diferencias significativas entre los grupos SH obtenidos para los geles *suwari* y *kamaboko* a 35 y 40°C y si al calentar a 60°C. Los geles *suwari* y *kamaboko* a 40°C muestran valores más altos y significativamente distintos a los de 35 y 60°C.

4.3.6 Microscopía

Microscópicamente (Fig 4.25), en geles del tipo *suwari*, el efecto de un aumento progresivo de la temperatura de *setting* (35°, 40°, 60°) durante 30' se manifiesta de la forma siguiente:

A bajas temperaturas (35°)(Fig 4.25a) las proteínas miofibrilares se agregan para formar una estructura fibrilar sin dejar prácticamente huecos ó cavidades, exhibiendo una superficie total en la muestra prácticamente plana. A más altas temperaturas (40°)(Fig 4.25c) se observa una estructura de tipo fibrilar más gruesa en la que aparecen pequeñas zonas de agregación. Las muestras exhiben dos tipos de estructuras: una correspondiente a las proteínas, cuyas fibras se han agregado longitudinalmente formando zonas compactas de

espesor variable y otra representada por cavidades alargadas, que siguen la orientación de las fibras proteicas. Montejano y col. (1984) consideran que estas cavidades contendrían agua retenida en su interior y la estructura formada está directamente relacionada con la elasticidad del gel. Con 60° (Fig 4.25e) como temperatura de asentamiento, desaparece la orientación longitudinal de las proteínas y cavidades. La estructura está formada por agregados globulares que dan a la red una apariencia amorfa y desordenada. La profundidad de campo permite ver que esta agregación se realiza en numerosos planos y que las zonas de mayor "crecimiento" de esta agregación corresponde a conglomerados densos e informes que se proyectan tridimensionalmente desde la superficie de la muestra. Las cavidades presentes se asemejan a grietas que se abren entre las proteínas sin orden preciso.

Cuando estos geles se calientan a 90°30' para formar los geles tipo *kamaboko* (Fig 4.25 b, d, f) a temperaturas de asentamiento de 35° (Fig 4.25b) presentan una morfología muy densa en la que aparecen cavidades sobre una estructura fibrilar preexistente. La compactación de las fibras proteicas es más evidente a 40°C (Fig 4.25d). A temperaturas más elevadas (60°) (Fig 4.25f) se manifiesta una agregación amorfa sin una estructura fibrilar muy parecida a la del mismo gel *suwari*. Para Montejano y col. (1984) estos geles *kamaboko* asentados muestran una estructura intermedia entre los geles tipo *suwari* y *kamaboko* directo con un mayor grado de interconexiones lo que hace que estos geles resulten opacos y los *suwari* translúcidos.

El estudio microscópico de los geles indica que existe un proceso gradual de agregación de las fibras por temperatura lo que se corresponde con los resultados obtenidos en textura para los diferentes geles estudiados. Sano (1988) realiza un estudio microscópico del proceso de gelificación de AM de carpa y observa el proceso de agregación a 60 y 80°C. A 40°C observa una fragmentación de la AM con disociación de la actina, más acusada a medida que aumenta el tiempo de asentamiento.

Capítulo 5

Capítulo 5.

EFFECTO DEL ALMIDON EN LOS GELES DE SURIMI DE SARDINA

5.1 INTRODUCCION

5.1.1 Definición

El almidón es el principal polisacárido y forma de reserva de carbono orgánico en la mayoría de las plantas. Se encuentra depositado en forma de pequeños gránulos en semillas, tubérculos y raíces. En la práctica el almidón comercial se extrae de un número limitado de plantas, siendo el maíz la principal fuente de almidón a nivel mundial (Wurzberg, 1987).

El almidón nativo ve limitada su aplicación en la industria de la alimentación ya que a veces hay que emplear condiciones físicas que reducen su funcionalidad. Por ello se han desarrollado los denominados "almidones modificados" en los que se modifica la estructura químicamente (almidones sustituidos y oxidados) o físicamente (almidones pregelatinizados). Otro grupo de almidones está constituido por diferentes variedades obtenidos por selección genética entre las que destacan los almidones cerosos.

5.1.2 Estructura

Químicamente el almidón nativo es un polisacárido cuya estructura y composición varía según la planta de la que procede.

Las macromoléculas de almidón que se depositan en gránulos pueden considerarse constituidas por moléculas de alfa-glucosa dispuestas en cadena y enlazadas por medio de enlaces alfa-glucosídico (α 1-4). Cuando de esta manera se unen varios centenares de moléculas de glucosa (350-1000) en una cadena simple, aunque arrollada en hélice, se forman las llamadas moléculas de amilosa, las cuales constituyen el 15-25% de la masa del grano de almidón. En las cadenas de amilosa se pueden desarrollar ramas laterales cortas y con arrollamiento helicoidal a consecuencia de que nuevas moléculas de glucosa unen su primer átomo de carbono al átomo sexto de un miembro de la cadena (α 1-6); a partir de este punto se forma una cadena lateral más ó menos larga. Se originan así las moléculas de amilopectina, ramificadas, con más de 2.000 restos de glucosa cada una (2.000-200.000). Los residuos de glucosa en las cadenas α 1-4 forman una hélice con un paso de rosca de seis residuos de glucosa. La amilopectina constituye la masa principal del grano de almidón.

5.1.3 Propiedades químicas y físicas

Los almidones nativos normales tienen hasta un 25% de amilosa. Algunas variedades nativas mutantes de maíz, denominadas variedades de alto contenido en amilosa, producen almidón con contenidos de amilosa superiores al 85%, aunque las variedades comerciales tienen un máximo de 65%. Estos almidones tienen dificultades para gelatinizar, puesto que algunos requieren temperaturas superiores a 100°C para hacerlo.

En el otro extremo, algunos almidones consisten sólo en amilopectina. Entre ellos se encuentran las variedades denominadas cerosas que se obtienen por selección genética. Las que actualmente se comercializan se obtienen de maíz y arroz. La eliminación de la amilosa supone eliminar la posibilidad de retrogradación. La retrogradación consiste en un fenómeno de asociación intermolecular entre las moléculas de amilosa formando cristales durante el periodo de conservación del almidón gelatinizado. Este fenómeno de interacción intermolecular provoca una menor afinidad del almidón por el agua alterando su funcionalidad y provocando sinéresis. Las variedades cerosas al no tener amilosa que produzca retrogradación son estables durante la conservación. En el caso del almidón nativo de maíz ceroso es muy frecuente en la industria encontrarlo como almidón modificado, ya que aunque

es muy resistente a la retrogradación produce geles blandos susceptibles a debilitarse a altas temperaturas.

La amilopectina tiene capacidad de formar engrudo en agua caliente.

5.1.4 Gelatinización del almidón

Los granos de almidón son insolubles en agua fría en donde las moléculas se ordenan en una estructura cristalina. En un medio húmedo o suspendidos en agua, los gránulos de almidón absorben agua. Esta capacidad de hidratación produce un hinchamiento del almidón que varía según el origen, por lo que el diámetro de los gránulos hinchados y la cantidad de agua retenida es muy diferente para los distintos almidones. Así el porcentaje de aumento en el diámetro del gránulo de almidón de maíz puede oscilar entre un 9.1% para una variedad normal hasta un 22.7 para un almidón de maíz ceroso. Este hinchamiento es reversible cuando las condiciones de humedad cesan.

Si calentamos el almidón en un medio acuoso, a medida que la temperatura aumenta, las moléculas de almidón vibran más fuertemente rompiendo enlaces intermoleculares formados por puentes de hidrógeno permitiendo captar más moléculas de agua. Esta penetración de agua, y la progresiva separación de segmentos de las cadenas de almidón, se produce en el interior de su estructura molecular, mientras que como consecuencia de estas modificaciones descende el número y tamaño de las regiones cristalinas. Los gránulos de almidón al absorber agua se hinchan aumentando su tamaño en varias veces su volumen original. Así por el calentamiento el almidón se transforma en un fluido altamente hidratado, con gránulos hinchados. La viscosidad del fluido va en aumento hasta alcanzar un máximo en donde se alcanza el mayor grado de hidratación. Si continúa el calentamiento los gránulos tienden a romperse y fragmentarse liberando polímeros y agregados. En este punto la viscosidad descende. Cuando se enfría, a medida que descende la temperatura el fluido se transforma en una pasta turbia y viscosa y en el caso de algunos almidones como los de maíz, trigo y arroz si la concentración de almidón es lo suficientemente elevada (>6%, p/p) se forma un gel opaco. Otros almidones sin embargo no forman geles al enfriarse como son los almidones de patata, tapioca y los de maíz ceroso por el escaso contenido en amilosa. La

capacidad por tanto de gelificar está limitada a ciertos tipos de almidones (Wurzburg, 1987; Morris, 1990).

5.1.5 Utilización del almidón en alimentos

Las aplicaciones del almidón en la industria alimentaria son múltiples ya que se utiliza tanto por su capacidad espesante como por la capacidad de gelificar. Se utiliza tanto para productos congelados como para productos de cocción y frescos existiendo tal variedad de almidones en el mercado con posibilidad de encontrar uno específico para cada aplicación.

5.1.6 Utilización del almidón en *surimi* y productos derivados del *surimi*

El almidón es el ingrediente más empleado en la elaboración de productos derivados del *surimi* (Suzuki, 1981; Lee, 1984; Wu y col., 1984 y 1985; Lee y col., 1992).

La selección del tipo de almidón y los niveles utilizados vienen determinados por numerosos factores pero sobre todo por el efecto en la RG y su estabilidad en congelación–descongelación.

El efecto fortificante del almidón en los geles de *kamaboko* se debe a la capacidad de hinchamiento y de retener agua durante el proceso de gelatinización o por la capacidad de gelificación que tiene lugar cuando se calienta la masa para formar el gel de *surimi* con almidón. Los almidones pregelatinizados no tienen efecto fortificante. Se sabe que el almidón no interacciona con la matriz proteica como se pensó en un principio (Okada, 1963; Suzuki, 1981), siendo la temperatura a la cual se produce el hinchamiento de los gránulos diferente a la temperatura de gelificación de la proteína (Wu y col., 1985). Así algunos autores piensan que actúa como coingrediente no gelificante, es decir como "relleno pasivo" o "relleno simple" (Ziegler y Foegeding, 1990; Lee y col., 1992)

Dada la enorme variedad de almidones tanto nativos como modificados con diferentes propiedades físicas y químicas se hace difícil la interpretación de los resultados que aparecen en la bibliografía. Son bastante numerosos los autores que coinciden en citar de entre los diferentes almidones, al almidón de patata como el almidón con el cual se obtienen incrementos mayores de la fuerza del gel por su gran capacidad de retener agua (Wu y col., 1985; Okada, 1985; Kim y Lee, 1987). Otros autores hacen referencia al efecto negativo de la utilización de almidón nativo en geles de *surimi* (Lee y col., 1992). Según estos autores los geles sufren sinéresis y resultan gomosos y pierden una gran cantidad de agua como consecuencia de la formación de numerosos cristales de hielo. Algunas veces sin embargo un pequeño grado de sinéresis aporta al producto un aumento deseado de la jugosidad que se consigue mediante la preparación de una mezcla apropiada de almidones modificados y nativos.

En cuanto a los niveles de almidón utilizados para elaborar geles de *surimi*, estos oscilan entre el 5-8% y el máximo de RG obtenido depende del tipo de almidón. El empleo de cantidades superiores al 8% forma geles con una textura poco elástica y adherente si bien la firmeza se mantiene (Lee y col., 1992).

Además del tipo de almidón y de la concentración utilizada, existen otros factores que afectan a la textura final de los geles de *surimi* elaborados con almidón. Entre ellos se encuentran la humedad, temperaturas de calentamiento y la presencia de otros ingredientes que puedan competir con el agua del medio.

Alvarez y col. (1992) observaron un incremento en la RG respecto al control en geles con un alto contenido en humedad (83%) de *surimi* de abadejo de Alaska, elaborados con almidón de maíz ceroso sobre todo cuando se elaboraron sin asentamiento previo, mientras que a humedad del 73% los geles tenían menor RG que el control. Otros autores (Niwa y col., 1988b) sin embargo, observan un incremento de la RG a bajas humedades.

En relación con la influencia de la temperatura en la elaboración de los geles se ha observado que durante el calentamiento los gránulos de almidón se expanden al mismo tiempo

que quedan confinados en la matriz de AM formada. Esta expansión del almidón ejerce una presión en la matriz (Kim y Lee, 1987; Kim y col., 1987) y produce la formación de una matriz más densa, compacta y firme (Kim y Lee, 1987; Yamazawa, 1990b). Esto ocurre en el caso de geles calentados directamente sin un previo asentamiento en donde el almidón se hidrata y gelatiniza al mismo tiempo que la AM, existiendo una competición entre el *surimi* y el almidón por el agua a la temperatura de gelificación de ambos (Okada 1963; Kim y col., 1987; Chung y Lee, 1991). Esta competencia no tiene lugar cuando hay suficiente agua en el medio (Alvarez y col., 1992).

Sin embargo, en los geles de *kamaboko* cuando gelifica previamente la AM con un asentamiento a temperaturas bajas ($\leq 40^{\circ}\text{C}$), al ser la temperatura de gelatinización del almidón más alta, el hinchamiento de los gránulos de almidón durante el calentamiento a 90°C puede quedar inhibido por la poca cantidad de agua disponible. Esto se debe a que durante la gelificación de la proteína se forma una matriz proteica que retienen el agua física y químicamente (Chung y Lee, 1991). Además en el caso de los geles asentados, los granulos de almidón podrían ser más pequeños debido a que el agua se encuentra compartimentada en la red (Okada, 1963; Kim y col., 1987; Lee y col., 1992) e incluso no hidratarse si la red formada es muy densa (Couso y col., 1993).

Cuando además del almidón se añaden a la masa otros ingredientes la RG se modifica de forma distinta en función de las condiciones de humedad y temperatura aplicada. Además los valores de RG para cada condición son intermedios a los que se obtienen cuando se añade cada ingrediente de forma separada (Alvarez y col., 1992; Lee y col., 1992).

5.2 MATERIALES Y METODOS

5.2.1 Diseño del experimento

De los estudios previos realizados en el laboratorio y también en base a la bibliografía consultada, se eligieron las variables humedad final del gel y concentración de almidón para determinar con mayor exactitud el efecto del almidón en la gelificación del *surimi* de sardina.

Por ello se han elaborado geles de *surimi* de sardina con distintas cantidades de almidón en dos sistemas diferentes. En uno de los sistemas la humedad de los geles y la sustancia seca permanece constante al ajustar la humedad final del gel y varía la concentración de AM que disminuye al incrementarse la cantidad de almidón. En otro sistema se incrementa la sustancia seca del gel y disminuye la humedad al no ajustar la humedad final de los geles cuando se añaden concentraciones crecientes de almidón a una masa inicial de *surimi* de 78% de humedad. Además se ha estudiado el efecto del almidón en un sistema con un elevado contenido en agua como son los geles con 80 y 82% de humedad al haber sido observado por Alvarez y col. (1992) para el abadejo de Alaska un efecto positivo del ingrediente en condiciones de elevada humedad.

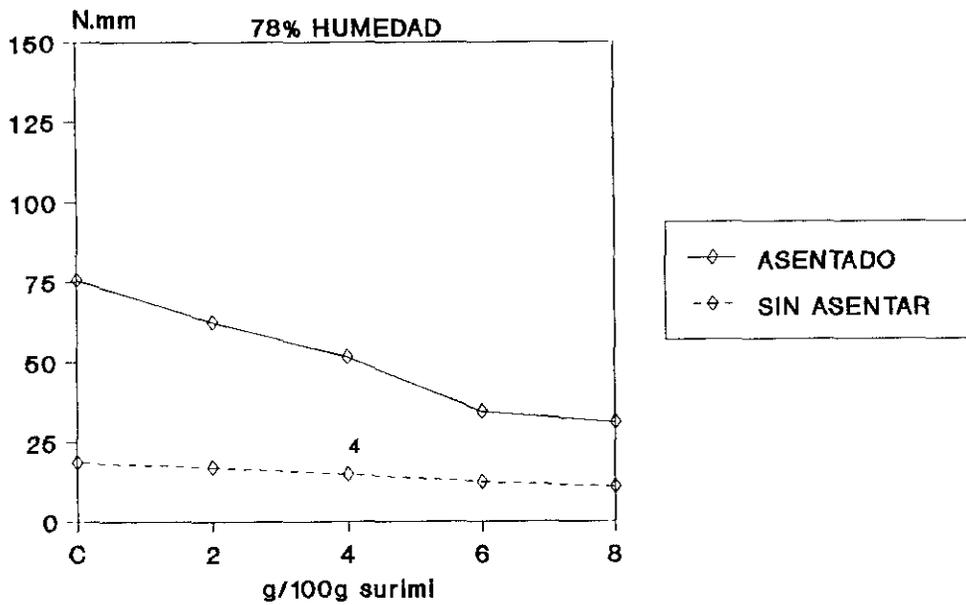
5.2.2 Elaboración de geles de *surimi* con almidón

Los geles se elaboraron siguiendo el protocolo general expuesto en el apartado 2.2.2 (capítulo 2). Las concentraciones de almidón añadidas al sol de AM fueron de 2, 4, 6, y 8g por 100g de *surimi*. La mezcla se realizó en condiciones de vacío durante 2 minutos hasta conseguir una correcta mezcla con el resto de los componentes. El efecto de las diferentes concentraciones de almidón en los geles se estudió teniendo en cuenta la humedad final del gel de forma que para cada concentración de almidón añadida se ajustó la humedad final a 78% o bien se añadió el almidón a masas ajustadas al 78% de humedad, por lo que la humedad final de los geles es diferente según la concentración añadida: 76,7%, 75,5%, 74,3%, 73,2% de humedad para los geles a los que se les añade 2, 4, 6 y 8g de almidón/100g de *surimi* respectivamente.

También se elaboraron geles con 2g de almidón/100g de *surimi* ajustando la humedad final a 80% y 82% de humedad.

Los tratamientos térmicos a que se sometieron los diferentes lotes fueron: asentamiento a 35°C durante 30 minutos y calentamiento de 90°C y 30 minutos o calentamiento directo a 90°C durante 30 minutos.

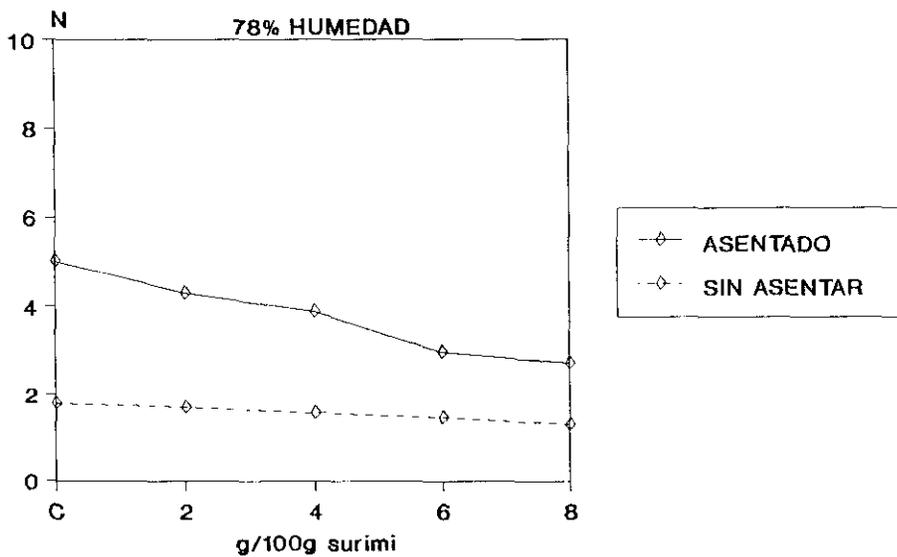
RESISTENCIA DEL GEL ALMIDON



C:Control

Fig. 5.1.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de almidón y 78% de humedad final. El número que aparece en el interior de la figura corresponde a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

FUERZA MAXIMA A ROTURA ALMIDON



C:Control

Fig. 5.2.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de almidón y 78% de humedad final.

Para la elaboración de estos geles se ha elegido el almidón de maíz ceroso modificado que aunque no es el que más incrementa la RG forma geles de mayor resistencia a fuerzas mecánicas y ofrece al mismo tiempo una mayor estabilidad durante la conservación en estado congelado y durante la descongelación.

5.3 RESULTADOS Y DISCUSION

5.3.1 Textura

Cuando la humedad final se ajusta al 78% se observan valores más altos de GR, FR y DR para los lotes asentados frente a los calentados directamente con diferencias significativas entre los dos tratamientos térmicos para casi todas las concentraciones de almidón estudiadas (Fig 5.1, 5.2 5.3 y tablas 5.I, 5.II, 5.III).

En la tabla 5.IV se expresan los porcentajes de *surimi* empleados para elaborar los geles en función de la humedad final y de la concentración de ingrediente.

En los geles asentados se aprecia una disminución de la RG (Fig 5.1) con respecto al control siendo este descenso mayor a medida que aumenta la concentración. No existen diferencias significativas entre los lotes con 0 y 2g de almidón y los lotes con 6 y 8g y sí entre los dos grupos de lotes. El lote con 4g de almidón presenta valores intermedios. En los geles calentados directamente no se aprecian diferencias significativas entre los lotes con almidón respecto al control y tampoco diferencias entre las distintas concentraciones estudiadas aunque el gel con 4g de almidón/100g de *surimi* obtuvo valores de TP de 4 frente al resto de los lotes con valores máximos de 5. La misma tendencia se observa en los valores obtenidos de DR y FR (Fig 5.2 y 5.3 y tablas 5.II y 5.III).

Con concentraciones crecientes de almidón y sin ajustar la humedad final de los geles, los valores de RG, DR y FR fueron superiores para los geles asentados frente a los no asentados al igual que ocurre cuando la humedad final de los geles se ajustó al 78% (Fig 5.4, 5.5 y 5.6). Los valores de TP fueron máximos para todos los geles. Exceptuando los lotes

DEFORMACION A ROTURA ALMIDON

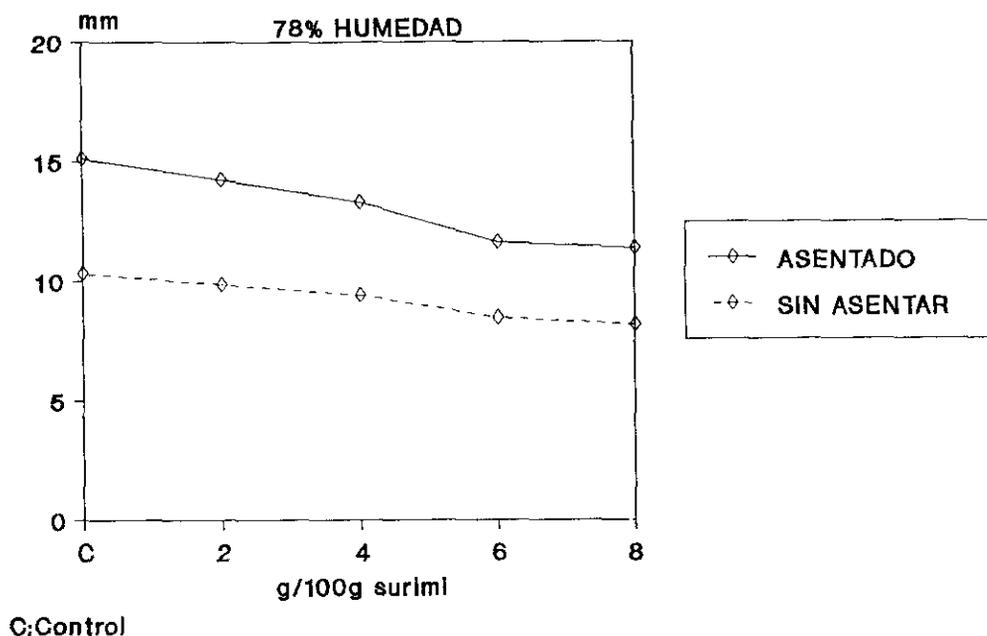


Fig. 5.3.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentarse con distintas concentraciones de almidón y 78% de humedad final.

RESISTENCIA DEL GEL ALMIDON

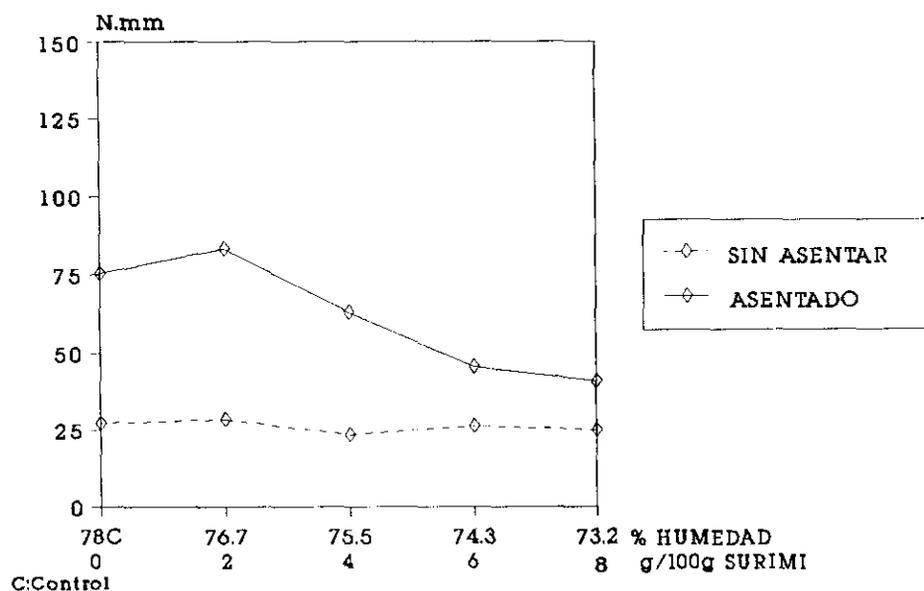


Fig. 5.4.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentarse con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales. La prueba de plegado fué máxima en todos los geles.

TABLA 5.I. Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferente concentración de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
78	4	1 AB	2 A
78	6	1 B	1 A
78	8	1 B	1 A

TABLA 5.II Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferente concentración de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
78	4	1 AB	2 A
78	6	1 B	2 A
78	8	1 B	2 A

TABLA 5.III. Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferente concentración de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
78	4	1 AB	2 A
78	6	1 B	2 A
78	8	1 B	2 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas por tratamiento térmico ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas por concentración de almidón ($p < 0,05$).

FUERZA MAXIMA A ROTURA ALMIDON

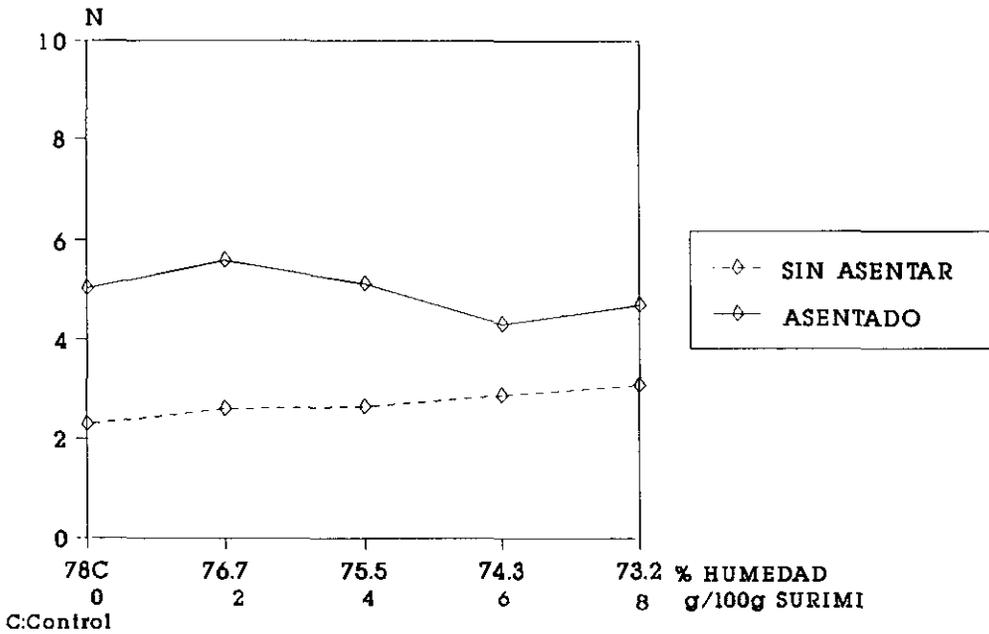


Fig. 5.5.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales

DEFORMACION A ROTURA ALMIDON

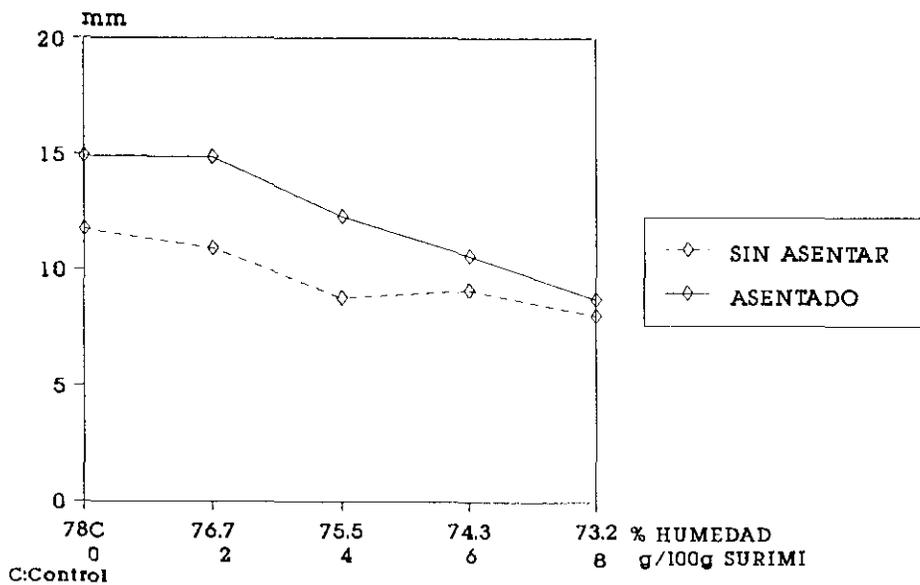


Fig. 5.6.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales

con 6 y 8g de almidón y para la variable DR, para el resto de las variables se apreciaron diferencias significativas entre los dos tratamientos térmicos (tablas 5.V, 5.VI y 5.VII).

En la Fig 5.4 y tabla 5.V se muestran los resultados de RG obtenidos en geles con diferentes concentraciones de almidón y humedad final. Se observa como con respecto al control, únicamente los geles asentados con 2g de almidón (76,7% de humedad) tienen valores más altos de RG debido al incremento de los valores de FR (Fig 5.5) aunque no se observaron diferencias significativas en este lote con respecto al control (tabla 5.V). Para el resto de las concentraciones de almidón se observa como los valores de RG van disminuyendo a medida que se añade más cantidad de almidón debido sobre todo a un descenso en la YD. En los geles sin asentar no existen diferencias significativas en RG e FR (tablas 5.V, 5.VI) y si en DR entre los diferentes lotes (tabla 5.VII).

En las gráficas correspondientes a los lotes de geles con una humedad final del 78, 80 y 82%, con y sin almidón (Figuras 5.7, 5.8 y 5.9) se observa nuevamente como los geles asentados obtuvieron valores más altos de RG, DR y FR. El análisis estadístico muestra diferencias significativas para los dos tratamientos térmicos para todas las variables analizadas (tablas 5.VIII, 5.IX y 5.X).

En los geles asentados se observa como la RG disminuye de forma más acusada que en los geles sin asentar para las tres humedades estudiadas (78, 80 y 82%), independientemente de la presencia o no del almidón (Fig 5.7). Esto es debido sobre todo al descenso de los valores de FR (Fig 5.8). Para este tipo de geles también se observa como cuando se añaden 2g de almidón con 78 y 80% de humedad final disminuye la RG con respecto a los controles respectivos mientras que se incrementa levemente cuando la humedad final del gel es del 82%. Sin embargo, estadísticamente solo se observan diferencias para los valores de RG entre los geles con una humedad final del 80% (tabla 5.VIII). Los cambios en la textura de los geles a elevadas humedades repercuten en los valores de FR en donde encontramos diferencias significativas entre los geles con y sin almidón a 82% de humedad (tablas 5.X) que no se observan en los datos obtenidos de DR (tabla 5.IX).

RESISTENCIA DEL GEL ALMIDON

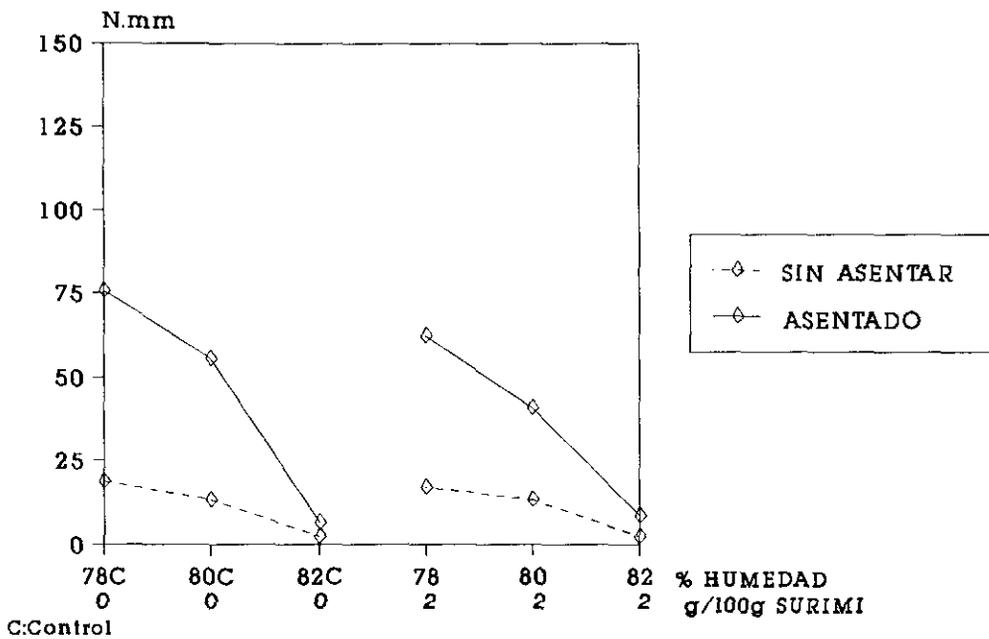


Fig. 5.7.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentado con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales. La prueba de plegado fué máxima en todos los geles.

FUERZA MAXIMA A ROTURA ALMIDON

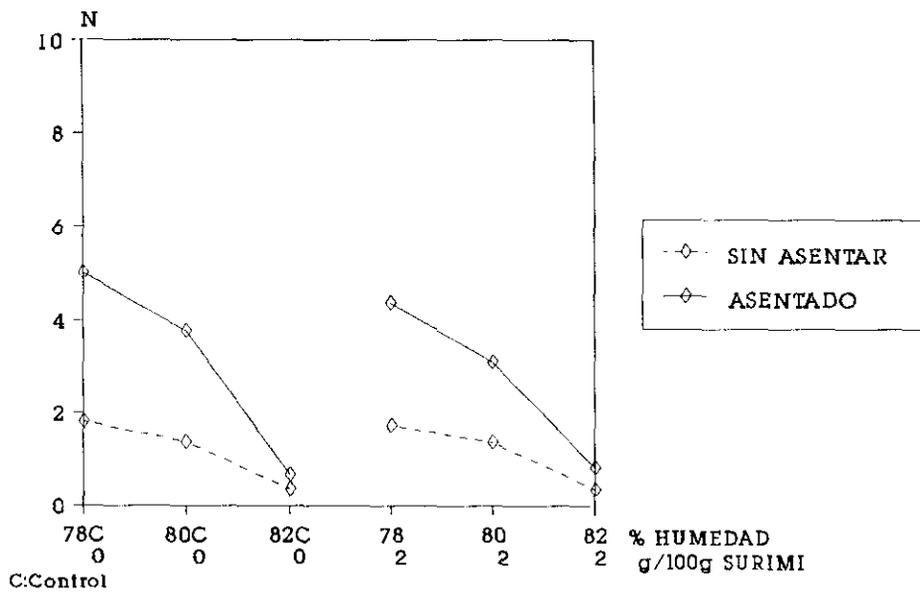


Fig. 5.8.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentado con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales

DEFORMACION A ROTURA ALMIDON

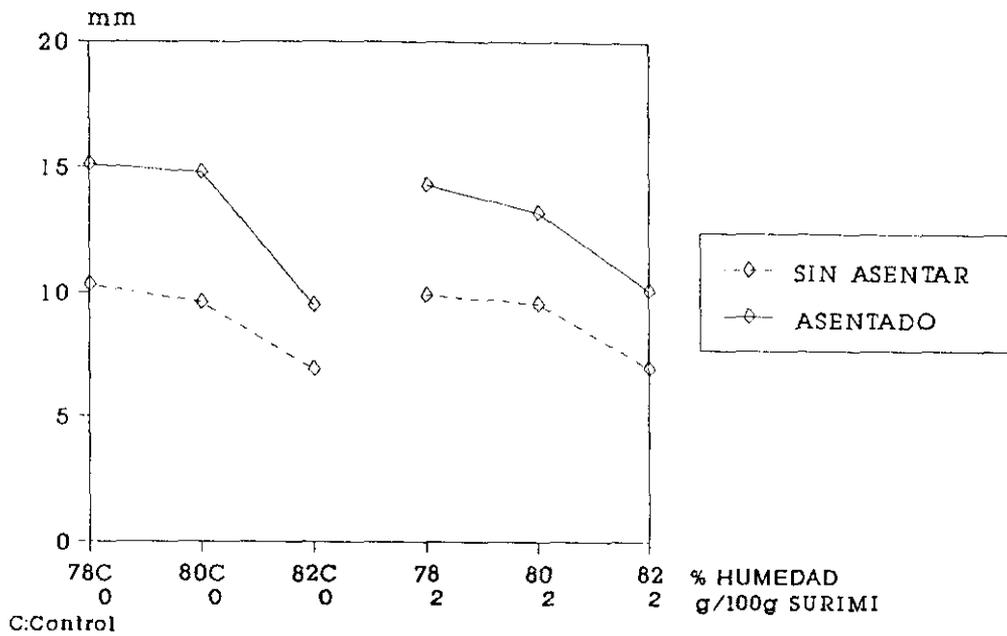


Fig. 5.9.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de almidón y diferentes humedades finales

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA ALMIDON

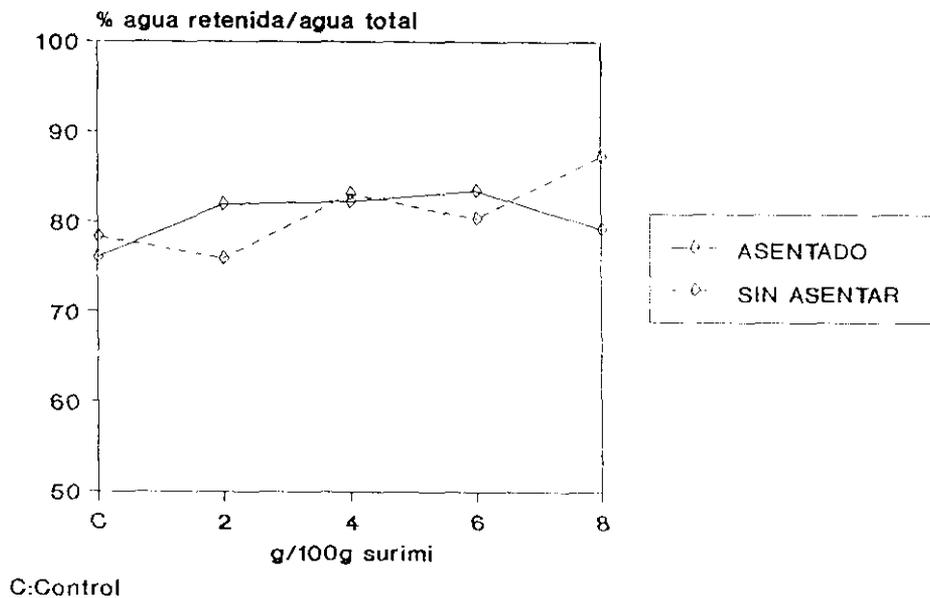


Fig. 5.10.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de almidón y 78% de humedad final

TABLA 5.IV Porcentaje de *surimi* en geles elaborados con diferentes humedades y concentraciones de ingrediente.

HUMEDAD	g DE INGREDIENTE/100 g DE <i>SURIMI</i>				
	0	2	4	6	8
82	66.60	62.11	-	-	-
80	74.07	68.96	-	-	-
78	81.48	75.90	70.97	66.71	62.93
76.7	-	80.17	-	-	-
75.5	-	-	78.91	-	-
74.3	-	-	-	77.68	-
73.2	-	-	-	-	76.49

TABLA 5.V Análisis de varianza para la variable resistencia de gel (RG) y las variables humedad y tratamiento térmico.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 B	2 A
74.5	6	1 C	2 A
73.2	8	1 C	2 A

TABLA 5.VI Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) y las variables humedad y tratamiento térmico.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 AB	2 A
74.5	6	1 B	2 A
73.2	8	1 A	2 A

TABLA 5.VII. Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) y las variables humedad y tratamiento térmico.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
76.7	2	1 A	2 AC
75.5	4	1 B	1 BCD
74.5	6	1 BC	1 CD
73.2	8	1 C	2 D

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes concentraciones de almidón a distintas humedades finales ($p < 0,05$).

TABLA 5.VIII Análisis de varianza para la variable resistencia de gel (RG) a diferentes concentraciones de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 B	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 A	2 A

TABLA 5.IX Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 A	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 A	2 A

TABLA 5.X Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 A	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes concentraciones de almidón ($p < 0,05$).

A la vista de los resultados obtenidos se puede comprobar la influencia de diferentes factores en la gelificación conjunta del *surimi* y el proceso de gelatinización del almidón. En cuanto al efecto de la temperatura de calentamiento este queda reflejado por el diferente comportamiento de los geles según el tratamiento térmico aplicado (Okada y Yamazaki, 1957a y b; Hamada e Inamasu, 1984; Wu y col., 1984). La temperatura de gelatinización del almidón de maíz ceroso es de 76.5°C (Okada, 1985) implicando un proceso conjunto de gelificación de AM y gelatinización del almidón cuando el tratamiento térmico es de calentamiento directo a 90°C (geles sin asentarse) (Okada, 1963). Sin embargo los resultados indican un mejor comportamiento de los geles cuando tiene lugar un asentamiento previo. Esto se explica por el hecho de tener los geles un mayor porcentaje de AM frente al almidón (tabla 5.IV) y la gelificación de la AM estar favorecida por un tratamiento térmico doble con un asentamiento previo del gel (Suzuki, 1981; Montejano y col., 1984; Sano, 1988). En este caso además la gelificación de la AM es anterior a la gelatinización del almidón de tal manera que se estaría formando una red inicial con la AM (Chung y Lee, 1991) que pudiera impedir una correcta gelatinización del almidón por no encontrar unas condiciones óptimas por humedad o incluso por falta de espacio. Los geles sin asentamiento mostraron valores similares exceptuando los valores de DR en los geles con concentraciones crecientes de almidón sin ajuste de humedad final (Fig 5.6) reflejando un efecto positivo del almidón en estos geles ya que la cantidad de AM es menor al incrementar la cantidad de almidón. Este efecto pudiera estar relacionado con una mejor gelatinización del almidón en unas condiciones de baja humedad en donde la AM pierde funcionalidad y el almidón favorecido por la temperatura empleada compite por el agua del medio y consigue la suficiente como para resultar "útil". El comportamiento competitivo entre los ingredientes por el agua ha sido observado previamente (Kim y col., 1987; Chung y Lee, 1991). Así pues, la textura final viene determinada por la resultante de la de la red formada por la AM y el efecto del almidón que según el caso puede interferir en la red de AM o tener un efecto positivo por ejercer un efecto de relleno.

Con humedades elevadas del 80 y 82% se observa un notable descenso de los valores de RG por la brusca disminución de la sustancia seca del gel que no se compensa con la incorporación del almidón con un 80% de humedad pero si algo con una humedad del 82%

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA ALMIDON

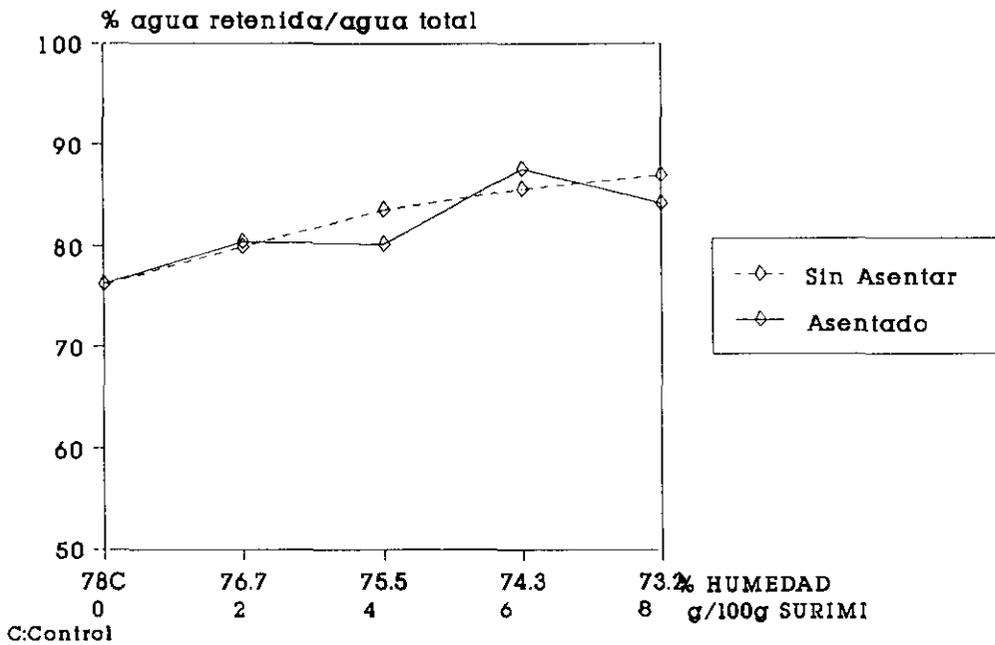


Fig. 5.11.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentar con diferentes concentraciones de almidón y distintas humedades finales

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA ALMIDON

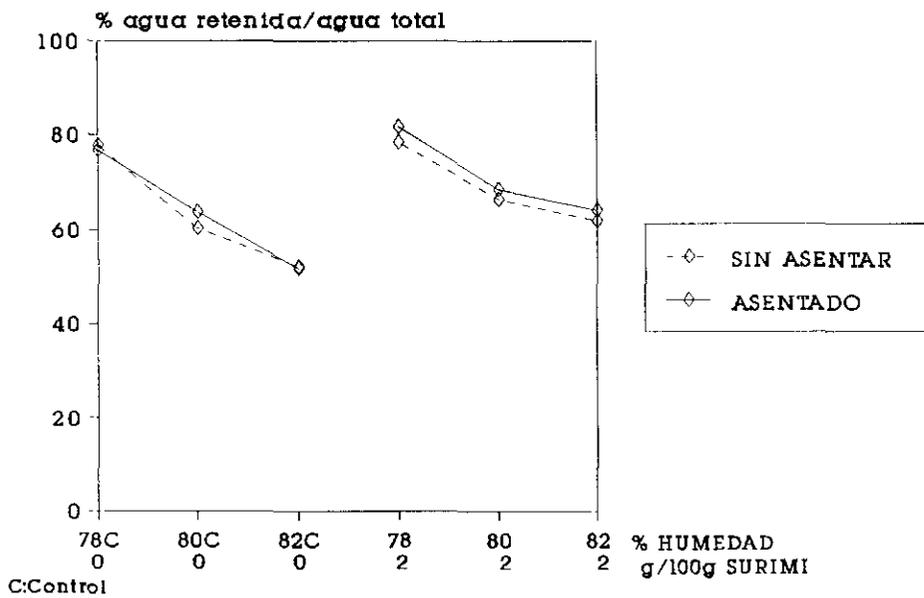


Fig. 5.12.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentar con diferentes concentraciones de almidón y distintas humedades finales

lo que podría indicar que el almidón necesita una gran cantidad de agua disponible o que la red de AM estuviera tan debilitada por el exceso de agua que permitiese demostrar un efecto positivo del almidón en la red.

En trabajos realizados en nuestro laboratorio con *surimi* de abadejo de Alaska (Alvarez y col., 1992) observamos un incremento de la RG por efecto del almidón con humedades del 83% siendo este más evidente empleando un calentamiento directo en donde la gelatinización del almidón está más favorecida. El hecho de no haber incrementado de una forma evidente la RG con *surimi* de sardina empleando un calentamiento directo podría deberse al empleo de una baja concentración de almidón (2g/100g de *surimi* frente al 5% empleado en los geles con *surimi* de abadejo. Otro factor que pudiera haber influido en los resultados obtenidos es la buena calidad del *surimi* de sardina empleado (Suzuki, 1981; Okada, 1985; Hamann y col., 1990) ya que si el *surimi* es de buena calidad los ingredientes pueden interferir en la correcta formación de la red.

5.3.2 Capacidad de retención de agua

No se aprecian apenas diferencias entre los geles según el tratamiento térmico empleado y el análisis estadístico indica que no existen diferencias significativas entre los geles asentados y sin asentar exceptuando a los lotes con 78% de humedad con 2 y 8g de almidón/100g de *surimi* (tablas 5.XI, 5.XII y 5.XIII).

La CRA de los geles con almidón ajustados a 78% de humedad se muestra en la Figura 5.10 y el tratamiento estadístico para estos geles en la tabla 5.XI. Para los geles asentados se observa un incremento de los valores de CRA con respecto al control para concentraciones de 2, 4 y 6g de almidón/100g de *surimi* para luego descender con 8g de almidón mostrando valores intermedios entre el control y el resto de los lotes.

Para los geles con concentraciones crecientes de almidón y sin ajuste de humedad final (Fig 5.11, tabla 5.XII) se aprecia un incremento de los valores de CRA con respecto al control para todas las concentraciones de almidón.

TABLA 5.XI Análisis de varianza para la variable CRA a diferentes concentraciones de almidón y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 AD
78	2	1 B	2 A
78	4	1 B	1 B
78	6	1 B	1 DB
78	8	1 AB	2 C

TABLA 5.XII Análisis de varianza de los distintos lotes de geles con almidón para la variable CRA a diferentes concentraciones de almidón y diferentes tratamiento térmico.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 A
76.7	2	1 AB	1 AB
75.5	4	1 AC	1 BC
74.5	6	1 B	1 BC
73.2	8	1 BC	1 C

TABLA 5.XIII Análisis de varianza para la variable CRA en geles con almidón a diferentes humedades y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g de <i>surimi</i>	ASENTADOS	SIN ASENTAR
78	2	1 A	1 A
80	2	1 A	1 AB
82	2	1 B	1 B

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes humedades del gel ($p < 0,05$).

En los geles con humedades del 80 y 82% (Fig 5.12) se observa como aumenta la CRA con respecto al control tanto para geles asentados como para los calentados directamente. Sin embargo disminuye a medida que aumenta la humedad de los geles tanto para los geles control como para los que tienen 2g de almidón añadido. Para los geles con y 82% de humedad la CRA fué la más baja.

La CRA en los geles con concentraciones crecientes de almidón (de 2 a 8g/100g de *surimi*) con ajuste o no de la humedad final del gel parecen indicar un efecto positivo del almidón en los geles que en general se incrementa a medida que aumentamos la concentración e independientemente de la cantidad de agua disponible. Sin embargo, este efecto no se corresponde con un incremento de los valores de RG. Con humedades del 80 y 82% si se observa un incremento de la RG con respecto al control sin almidón que se podría relacionar con el incremento de la CRA. Podría esto confirmar el hecho de que el almidón únicamente refleja su efecto ante una estructura de red de AM debilitada en este caso por el exceso de agua. Otros autores sin embargo no encuentran incrementos de CRA al incorporar almidón en geles asentados y sin asentar de elevada humedad (Alvarez y col., 1992).

La CRA por el contrario es similar en los dos tratamientos térmicos empleados lo que podría estar indicando que el almidón se hidrata y retiene agua antes de someterse al sol al tratamiento térmico, sin incorporar más agua durante el calentamiento posterior. Resultados similares fueron los obtenidos por Alvarez y col. (1992) en abadejo de Alaska al no observar diferencias entre los geles asentados y sin asentar.

5.3.3 Microscopía

Las micrografías de los geles con almidón se muestran en la Figura 5.13.

Observando la micrografía de los geles con almidón se aprecia una estructura homogénea alveolar que no se observa en el lote control (Fig 5.13b y a). Esta estructura aparece tanto en los geles con asentamiento como sin el, y también con concentraciones del 2 y 8% (Fig 5.13b y c) independientemente de la humedad final del gel. La mayor parte del

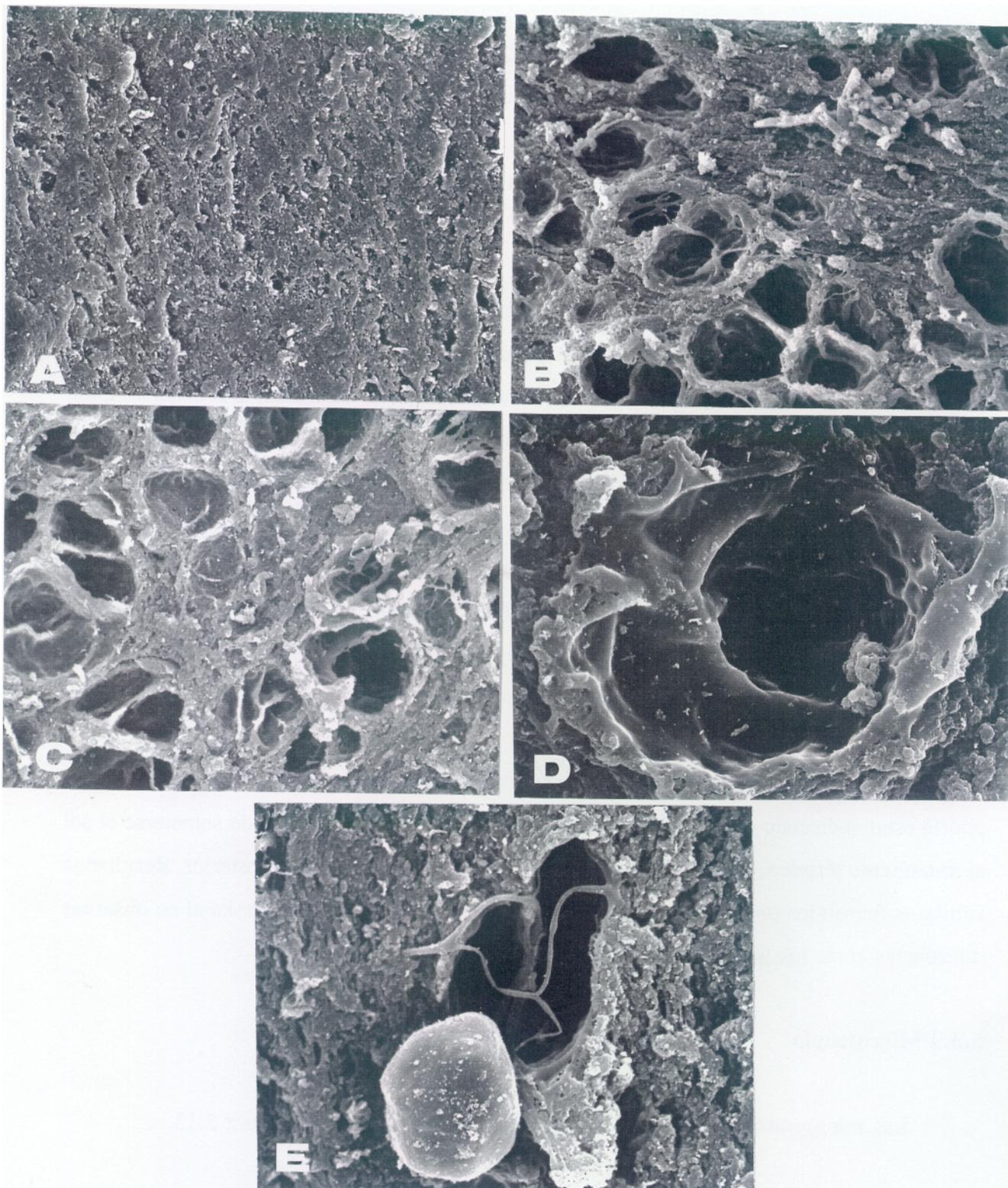


Fig 5.13 Geles de *surimi* con almidón. a: Geles control de *surimi* sin almidón (x500). b: Geles de *surimi* con 2 g de almidón/100 g de *surimi* (x500). c: Geles *surimi* con 8 g de almidón/100 g de *surimi* (x500). d: Geles de *surimi* con almidón gelatinizado (x2.000). e: Geles de *surimi* con almidón hidratado (x2.000).

almidón se encuentra gelatinizado tapizando las paredes de los alveolos en todos los geles (Fig 5.13 b, c y d) aunque también se han observado algunos gránulos hidratados tal y como se muestra en la Fig (5.13e).

5.3.4 Color

No se ha encontrado referencias en la bibliografía acerca del efecto del almidón en los geles de *surimi*.

Los resultados del análisis de color correspondientes a los parámetros L^* , a^* y b^* están representados en las Figuras 5.14 a 5.16. Al analizar las muestras se observa que para el parámetro L^* los valores oscilan entre 60 y 66, para el parámetro a^* entre -1 y 0 y entre 7 y 8 para el b^* . En los geles con 2g almidón/100g de *surimi* obtuvieron los valores más altos del parámetro L^* para luego ir descendiendo al incrementar el contenido en almidón. Los valores obtenidos para los parámetros a^* y b^* no se modifican excesivamente en función de la concentración de almidón añadida si bien en b^* se observa una tendencia a disminuir a medida que se incrementa la concentración de almidón.

En función del tratamiento térmico aplicado, se observan mayores diferencias entre los geles asentados y sin asentar en los parámetros L^* y b^* frente al a^* .

ANALISIS DE COLOR ALMIDON

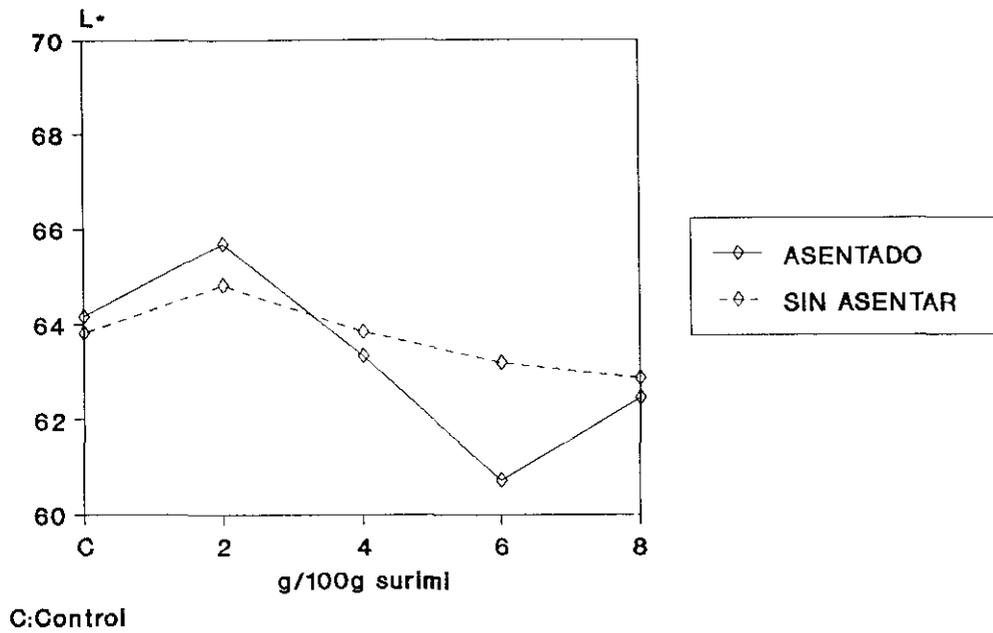


Fig. 5.14.- Análisis de color (parámetro L*) de geles asentados y sin asentar con diferentes concentraciones de almidón y 78% de humedad final

ANALISIS DE COLOR ALMIDON

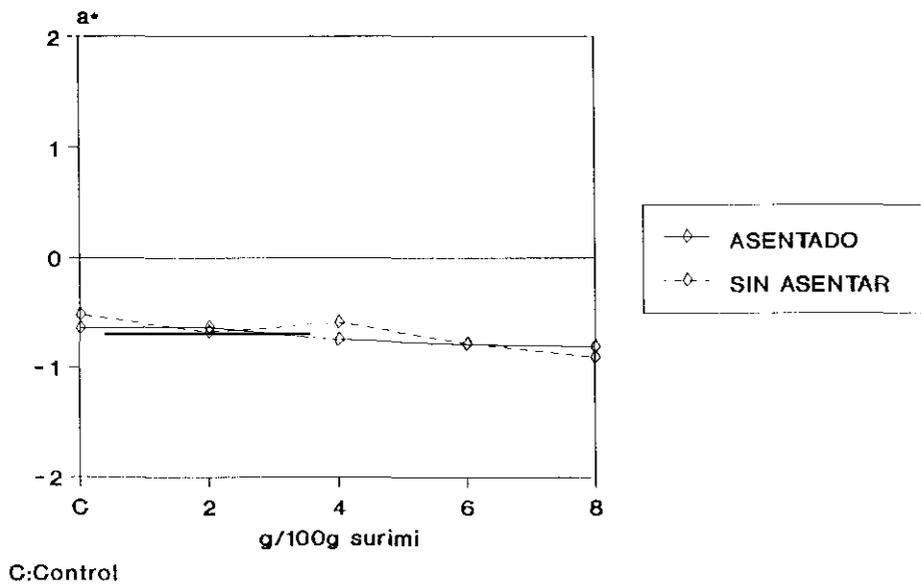


Fig. 5.15.- Análisis de color (parámetro a*) de geles asentados y sin asentar con diferentes concentraciones de almidón y 78% de humedad final

ANÁLISIS DE COLOR ALMIDÓN

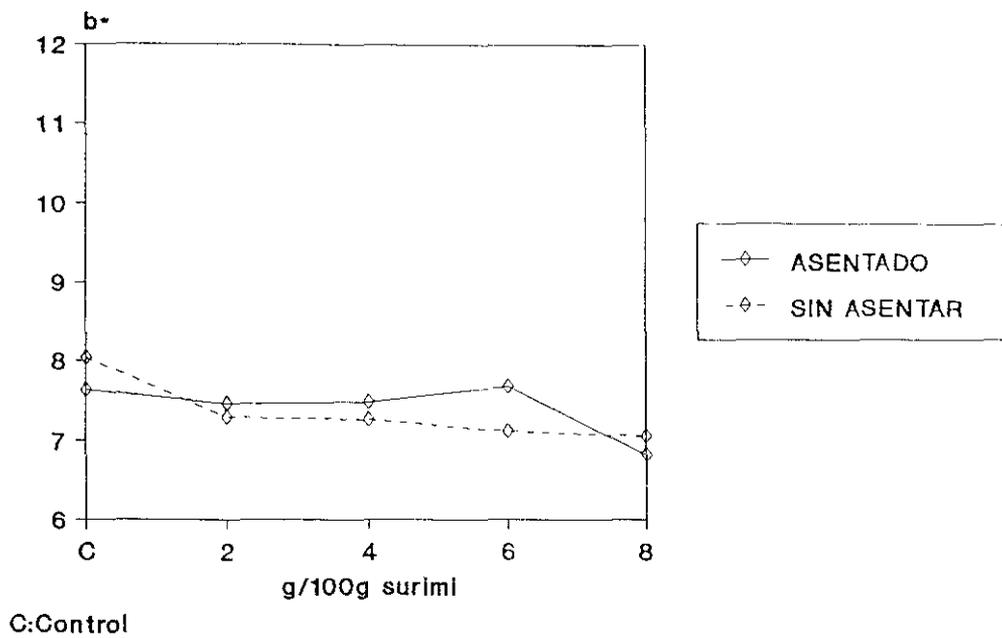


Fig. 5.16.- Análisis de color (parámetro b*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de almidón y 78% de humedad final

Capítulo 6

Capítulo 6.

EFECTO DE LA CLARA DE HUEVO EN LOS GELES DE *SURIMI* DE SARDINA

6.1 INTRODUCCION

6.1.1 Definición

La clara de huevo es una solución acuosa de proteínas globulares, glucoproteínas, azúcares y sales minerales. La combinación de ovalbúmina, conalbúmina (u ovotransferrina) y ovomucoide representan el 77% de la clara de huevo. Otras proteínas presentes son la lisozima, ovomucina, flavoproteína, ovoglucoproteína, ovomacroglobulina, avidina y ovoinhibidor de proteasas séricas. También se encuentran residuos de algunos lípidos. La clara de huevo representa un 60% del peso total del huevo (Thapon, 1986; Ziegler y Foegeding, 1990).

La ovalbúmina es la proteína predominante representando el 54% de la fracción de clara de huevo. Por ello la gelificación de la clara de huevo se basa fundamentalmente en la gelificación de esta proteína aunque no se excluyen los efectos de otras. La conalbúmina y lisozima gelifican de forma independiente y las otras proteínas pueden alterar la gelificación de la ovalbúmina (Johnson y Zabik, 1981).

6.1.2 Estructura

La ovalbúmina es una proteína con una secuencia de 385 aminoácidos con un peso molecular de 42699 daltons. Posee dos puentes disulfuro y cuatro grupos SH libres. Tres de estos grupos son muy reactivos en la proteína nativa mientras que el cuarto está situado en

el interior de la cadena polipeptídica. Durante la desnaturalización este cuarto grupo sulfhidrilo es desenmascarado volviéndose igualmente activo. La conalbúmina (PM 76000 daltons) es una glucoproteína que no contiene grupos SH libres y el ovomucoide (PM 28000) es una glucoproteína compuesta por tres subunidades cada una de las cuales está constituida por una cadena polipeptídica (Thapon, 1986; Ziegler y Foegeding, 1990).

6.1.3 Propiedades químicas y físicas

La calidad de los geles de clara de huevo depende sobre todo del pH y condiciones iónicas, como ocurre en la mayor parte de las proteínas globulares. La resistencia del gel y la cohesividad son mínimas a pHs entre 6-7, ya que la carga neta de las proteínas es mínima. Un aumento del pH incrementa la RG alcanzando un máximo a pH 9, mientras que un descenso del pH por debajo de 6 hace que los geles sean menos elásticos, más firmes y quebradizos y con una baja CRA. (Woodward y col., 1986; Woodward, 1990). En el punto isoeléctrico, en donde la carga neta es cero, se favorece la agregación y los geles resultan opacos y poco cohesivos reflejo de una matriz proteica de estructura discontinua (Gosset y col., 1984; Woodward y col., 1986). A medida que aumenta la carga neta por la subida del pH predomina la desnaturalización frente a la agregación y los geles son translúcidos y algo más elásticos con una estructura de red tridimensional cerrada de poro pequeño donde se establecen un gran número de enlaces.

Otro factor de gran importancia es la temperatura de gelificación. La clara de huevo comienza a perder fluidez a los 60°C con la desnaturalización de la conalbúmina (Montejano y col., 1984). Estos autores señalan que a medida que se calienta la clara de huevo tiene lugar una transición de líquido a sólido en un rango de temperaturas que oscila entre los 61-70°C. Entre 70-74°C aumenta ostensiblemente la elasticidad del gel y a partir de los 74°C y hasta los 89°C de forma moderada para luego disminuir a partir de esta última temperatura hasta los 91°C. La rigidez del gel comienza a incrementar a partir de los 71°C con un aumento rápido hasta los 83°C. Los autores consideran que el aumento de la elasticidad coincide con la desnaturalización y comienzo de agregación de la clara de huevo que tiene como resultado la formación de una red tridimensional. Al seguir calentando, tiene lugar una agregación más

completa en donde se establecen numerosos enlaces produciendo un aumento de la RG. La naturaleza de estos enlaces ha sido estudiada por algunos autores que consideran que se forman enlaces covalentes fundamentalmente puentes disulfuro (Ziegler y Foegeding, 1990; Mine y col., 1990; Holt y col., 1984) señalando que la temperatura mínima de formación del gel de clara de huevo son 70°C. Un sobrecalentamiento por exceso de tiempo o por elevadas temperaturas producen una coagulación de la proteína y los geles presentan menor RG, además de provocar sinéresis (Hickson y col., 1982; Woodward y col., 1986). Las temperaturas óptimas de calentamiento se encuentran para Holt y col. (1984) entre los 80-90°C con tiempos de calentamiento de 30-60 minutos mientras que para otros autores está en los 90°C (Woodward, 1990). Esta diferencia se explica por la influencia del tiempo de calentamiento y pH en el gel (Matsuda y col., 1981).

En cuanto al efecto de las sales, hay estudios acerca del efecto del NaCl en la textura de los geles. Este efecto depende del pH y al añadir el NaCl aumenta el rango de pH en donde la carga neta de la proteína es baja y por tanto tiene lugar una mayor agregación, por lo que un incremento en la concentración de NaCl supone una disminución de la dureza del gel (Woodward y Cotterill, 1986). El efecto de las sales está influenciado por la temperatura de calentamiento; así Burgarella y col.(1985a) estudiando el efecto de las sales en el módulo de rigidez en geles de clara de huevo, observan que calentando el gel con concentraciones crecientes de NaCl, a medida que aumenta la concentración una vez que comienza a formarse el gel el incremento de la dureza del gel es más rápido, pero existe un pequeño retraso en la aparición de la rigidez con respecto al control en los lotes con NaCl.

6.1.4 Formación del gel

La conalbúmina es la proteína con la cual se inicia la gelificación, ya que es la más termolábil. La lisozima y otras proteínas globulares con una termoestabilidad intermedia probablemente intervienen en la formación de una red elástica tridimensional. La ovalbúmina, que es predominante y más termoestable que las anteriores, contribuye al aumento de la fg a temperaturas que oscilan entre los 80-85°C coincidiendo para algunos autores la

temperatura de su desnaturalización con la óptima de gelificación de los geles de clara de huevo. (Woodward, 1990).

Una propiedad de estos geles es su capacidad de ligar o atrapar agua. Esta capacidad esta influenciada por los mismos factores que influyen en la dureza de los geles. Así la CRA aumenta a medida que aumenta el pH y la temperatura dentro del rango de temperaturas óptimas de gelificación (Woodward y col., 1986)

6.1.5 Utilización de la clara de huevo en alimentos

La clara de huevo se utiliza fundamentalmente por su capacidad gelificante (flanes, entremeses, galletería y pastelería); espumante (merengues, soufflés), emulsionante (mayonesas y salsas, mezclas cárnicas); para prevenir el crecimiento de cristales de azúcar (anticristalizante) y prevenir sinéresis en productos de confitería o como ligante en embutidos cárnicos y helados etc.

6.1.6 Utilización de la clara de huevo en *surimi* y productos alimenticios derivados del *surimi*

La aplicación de clara de huevo en *surimi* y derivados se ha utilizado tradicionalmente (Akahane y col., 1981; Lee, 1984; Okada, 1985; Sano, 1988). Existe una controversia acerca del papel de la clara de huevo en el proceso de gelificación de la mezcla del ingrediente con el *surimi*. Según unos autores la clara de huevo contribuye a la formación de la estructura de la red proteica del gel interaccionando con la AM (Niwa y col., 1988c; Niwa y col., 1988d; Niwa 1992); otros autores sin embargo (Burgarella y col., 1985a) indican que la gelificación de la proteína miofibrilar y de la proteína globular se desarrolla de forma independiente modificando la clara de huevo la gelificación del *surimi* de manera que reduce la capacidad de establecer una red ordenada. Chung y Lee (1990) consideran que la clara de huevo cuando se incluye en otro sistema proteico interacciona de acuerdo con las características de gelificación propias de la mezcla de proteínas y estas características estan determinadas por las características fisicoquímicas de cada proteína.

Además de la posible implicación de la clara de huevo en la estructura de la red proteica, un efecto comprobado por diferentes autores en la textura del gel es la capacidad de retener agua pudiendo de esta manera aumentar la RG (Okada, 1963; Niwa y col., 1988b; Ziegler y Foegeding, 1990). Por el hecho de tratarse de una proteína con capacidad de interaccionar mediante distintas interacciones con la AM del *surimi* sin que esto perjudique a la estructura de red formada por la AM (Niwa y col., 1988b; Niwa y col., 1988c) distintos autores han tratado de encontrar unas condiciones idóneas (de concentración de clara de huevo, humedad final del gel etc.) que pudieran favorecer esta interacción.

La clara de huevo se utiliza en los geles de *surimi* en diferentes estados: congelada, cruda o en polvo en porcentajes que normalmente oscilan entre un 3 y un 10% (Lee y col., 1992). La distinta naturaleza del ingrediente hace que los resultados parezcan contradictorios a la hora de la interpretación, sobre todo teniendo en cuenta el diferente contenido en agua y la gran influencia de este parámetro en la textura de los geles.

Cuando la humedad del gel no se ajusta al añadir diferentes concentraciones del ingrediente, el efecto en la textura de los geles está muy relacionado con la capacidad de absorber agua del ingrediente que hace que la matriz proteica sea más densa como consecuencia de la deshidratación (Chung y Lee, 1990; Niwa 1992).

Okada (1985) hace referencia al hecho de que elevadas concentraciones de clara de huevo (20%) disminuyen la fuerza del gel. Además, el empleo de temperaturas de calentamiento elevadas y con tiempos largos aportan al producto un aroma indescable.

Según Burgarella y col.(1985a) la clara de huevo modifica la textura final de los geles de *surimi* haciendo que la dureza sea menor y aconsejan la utilización de clara de huevo a no muy altas concentraciones para elaborar geles de *surimi* (Burgarella y col., 1985b). Otros autores sin embargo afirman que la clara de huevo tiene un claro efecto positivo en la RG y consideran más aconsejable la utilización de este ingrediente cuando la calidad del *surimi* empleado es inferior ya que además de mejorar la RG mejora la calidad nutricional del producto final (Suzuki, 1981; Okada, 1985; Hamann y col., 1990). Roussel y Cheftel (1988)

confirman lo expuesto anteriormente al encontrar que es mucho más efectivo el empleo de la clara de huevo en geles elaborados con *surimi* de sardina de baja calidad (mantenidas tres días en hielo frente a las de buena calidad que se mantuvieron un sólo día) optimizando la textura de estos geles y aumentando la luminosidad del producto final.

Según algunos autores (Akahane, 1983; Okada, 1985; Chung y Lee 1990) la clara de huevo incrementa la fuerza de los geles de *surimi* cuando se aplica un asentamiento previo. Alvarez y col. (1992) encuentran diferente efecto de la clara de huevo en los geles asentados y calentados en función de la humedad final de los geles. Así para los geles asentados con 73% de humedad final la clara de huevo no ejerce un efecto positivo en la RG y si lo hace cuando la humedad final del gel es del 83%.

La clara de huevo también posee un efecto inhibitor del *modori* (Chung y Lee, 1990; Hamann y col., 1990) aunque se desconoce aún el mecanismo de acción. Hamann y col. (1990) consideran se debe al efecto de una macroglobulina inhibidora de enzimas proteolíticas. Chung y Lee (1990) consideran que como parte de las proteínas de la clara de huevo comienzan a agregarse a 60°C se podría pensar que el efecto inhibitor de la clara de huevo sea también debido al hecho de que esta sirva de soporte a una red debil de AM formada a la misma temperatura.

6.2 MATERIALES Y METODOS

6.2.1 Diseño del experimento

De todo lo expuesto anteriormente parece necesario un estudio sistemático del efecto de la clara de huevo cuando esta se incorpora al *surimi* para la formación de geles mixtos. Para ello hemos elaborado distintos geles añadiendo concentraciones crecientes de clara de huevo fijando o no la humedad final del gel con el fin de establecer el efecto de la clara de huevo en dos sistemas proteicos diferentes. En uno de ellos la humedad y sustancia seca permanece constante y varía el contenido de AM mientras que en el segundo la cantidad de agua y sustancia seca varía. El tratamiento térmico es otro de los factores que influye en la

gelificación del sistema (Chung y Lee, 1990) y dado que el *surimi* es el elemento predominante del sistema se fijó un tratamiento térmico que favoreciese la gelificación de la proteína de *surimi* con el fin de reducir al máximo el número de variables a estudiar.

6.2.1 Elaboración de geles de *surimi* con clara de huevo

Los geles se elaboraron siguiendo el protocolo general expuesto en el apartado (2.2.2. del capítulo 2) y con el mismo diseño que el utilizado para el almidón. Las concentraciones de clara de huevo añadidas al sol de AM fueron 2, 4, 6, y 8g de clara de huevo/100 g de *surimi*. La mezcla se realizó en condiciones de vacío durante 2 minutos hasta conseguir una correcta mezcla con el resto de los componentes. El efecto de las diferentes concentraciones de la clara de huevo en los geles se estudió teniendo en cuenta la humedad final del gel de forma que para cada concentración de clara de huevo añadida se ajustó la humedad final a 78% o bien se añadió la clara de huevo a masas ajustadas al 78% de humedad, por lo que en este caso la humedad final de los geles es diferente según la concentración añadida: 76,7%, 75,5%, 74,3%, 73,2% de humedad para los geles a los que se les añade 2, 4, 6 y 8g de clara de huevo/100g de *surimi* respectivamente.

También se elaboraron geles con 2g de clara de huevo/100g de *surimi* ajustando la humedad final a 80% y 82% de humedad.

El tratamiento térmico al que se sometieron los diferentes lotes fué un primer tratamiento con asentamiento a una temperatura de 35°C durante 30 minutos y un calentamiento de 90°C y 30 minutos y un segundo tratamiento calentando directamente a 90°C durante 30 minutos.

RESISTENCIA DEL GEL CLARA DE HUEVO

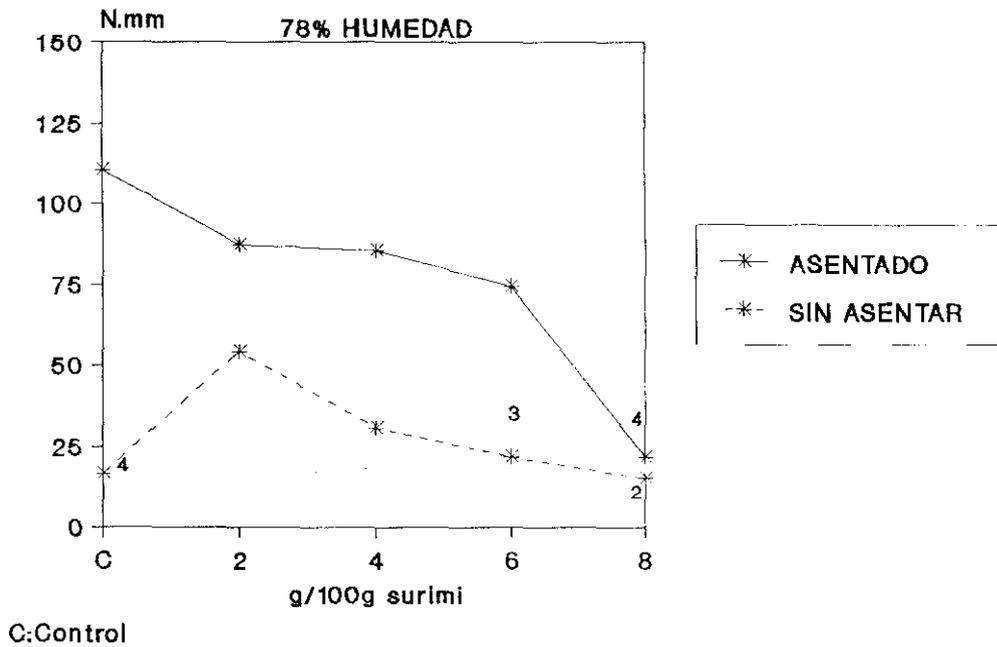


Fig. 6.1.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

DEFORMACION A ROTURA CLARA DE HUEVO

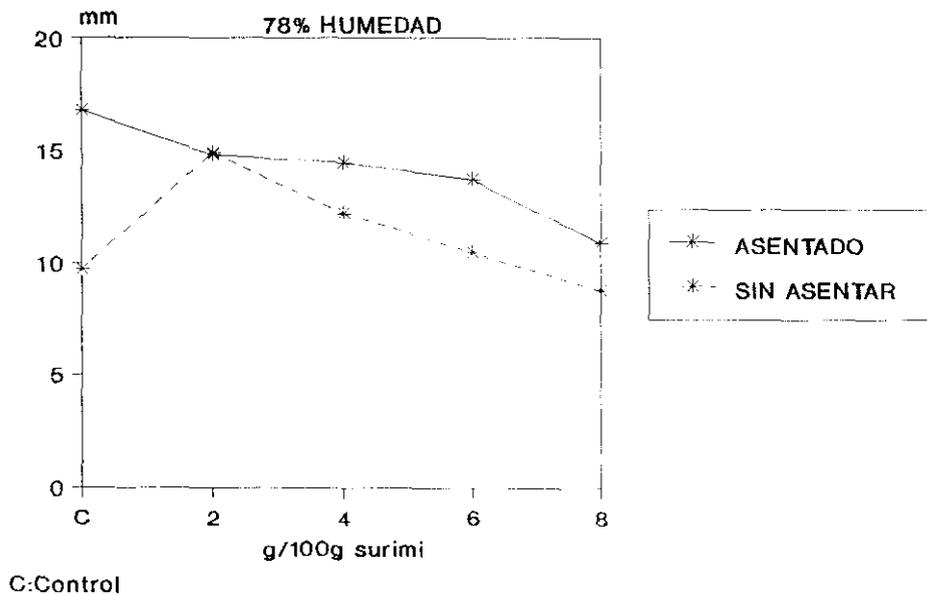


Fig. 6.2.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final.

6.3 RESULTADOS Y DISCUSION

6.3.1 Textura

En los geles ajustados a 78% de humedad final (Figuras 6.1, 6.2 y 6.3) se observan diferencias entre los lotes elaborados con y sin asentamiento, presentando los primeros los valores más altos de RG, DR e FR. La diferencia en RG se debe sobre todo a un incremento de FR en los lotes asentados.

Aunque en los geles con asentamiento, la incorporación de cantidades crecientes de clara de huevo hace que disminuyan los valores de RG, DR y FR con respecto al control no existen diferencias significativas entre este y los geles con 2, 4, 6g/100g de *surimi* (tablas 6.I, 6.II y 6.III). El lote que contiene 8g de clara de huevo/100g de *surimi* es de menor calidad con un TP de 4. Estas diferencias entre lotes se debe sobre todo a una disminución de DR (tabla 6.II).

En los lotes sin asentamiento se observa un leve incremento de los valores de RG, DR y FR al añadir clara de huevo encontrando solamente diferencias significativas para los valores de DR. Los geles sin asentar con 6 y 8g de clara de huevo/100g de *surimi* obtuvieron valores inferiores a 5 de TP al igual que el lote control indicando una menor calidad de los mismos.

Cuando la humedad final de los geles con clara de huevo varía (Figuras 6.4, 6.5 y 6.6) sigue existiendo diferencia entre los lotes con y sin asentamiento siendo más altos los valores obtenidos por los geles asentados.

De entre los geles asentados, los mejores geles son los de 76.7% de humedad (2g de clara de huevo) debido al aumento de la FR si se compara con respecto al lote control (78% humedad sin clara de huevo) aunque no presentan diferencias significativas entre ellos (tablas 6.IV, 6.V y 6.6). Sin embargo, a medida que aumenta la concentración del ingrediente y disminuye la humedad los valores de RG, DR y FR descienden encontrando diferencias

FUERZA MAXIMA A ROTURA CLARA DE HUEVO

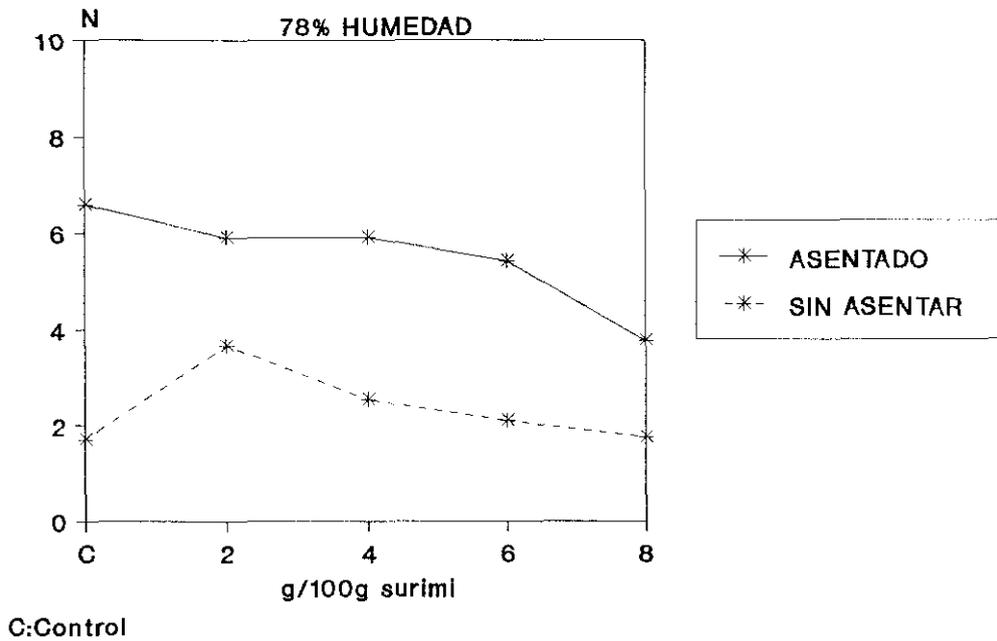


Fig. 6.3.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final.

RESISTENCIA DEL GEL CLARA DE HUEVO

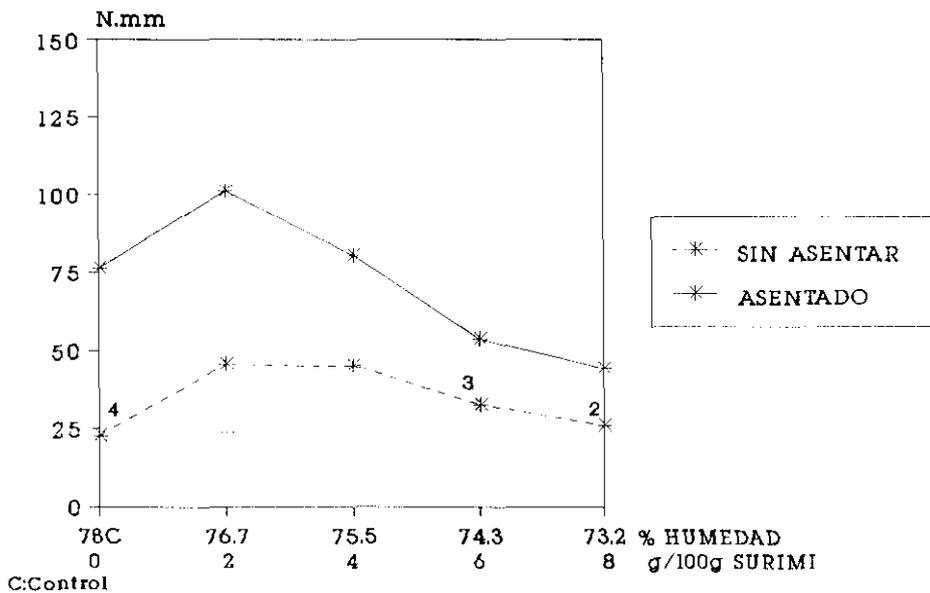


Fig. 6.4.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

DEFORMACION A ROTURA CLARA DE HUEVO

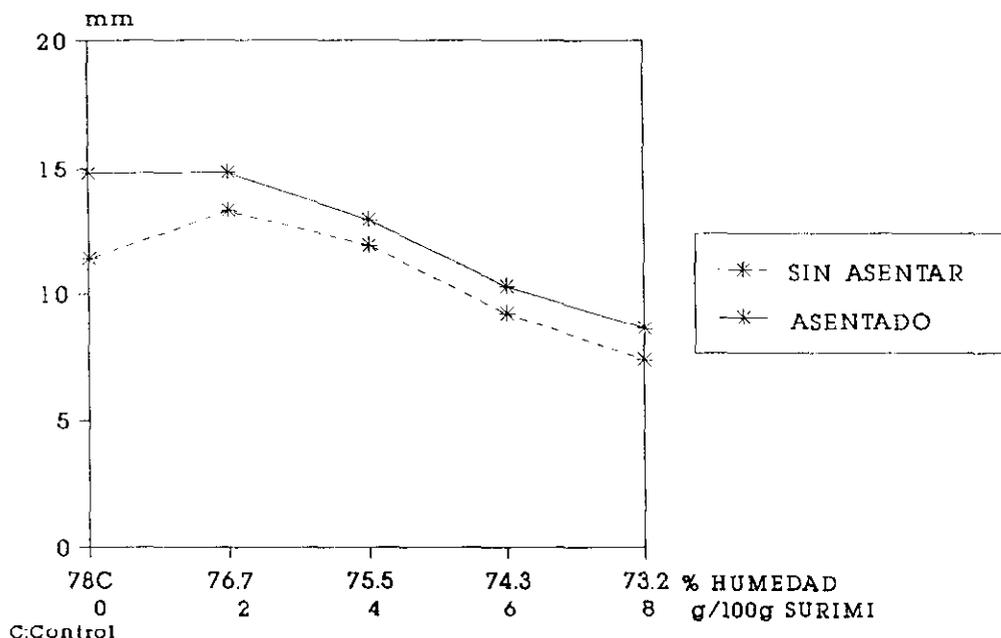


Fig. 6.5.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales

FUERZA MAXIMA A ROTURA CLARA DE HUEVO

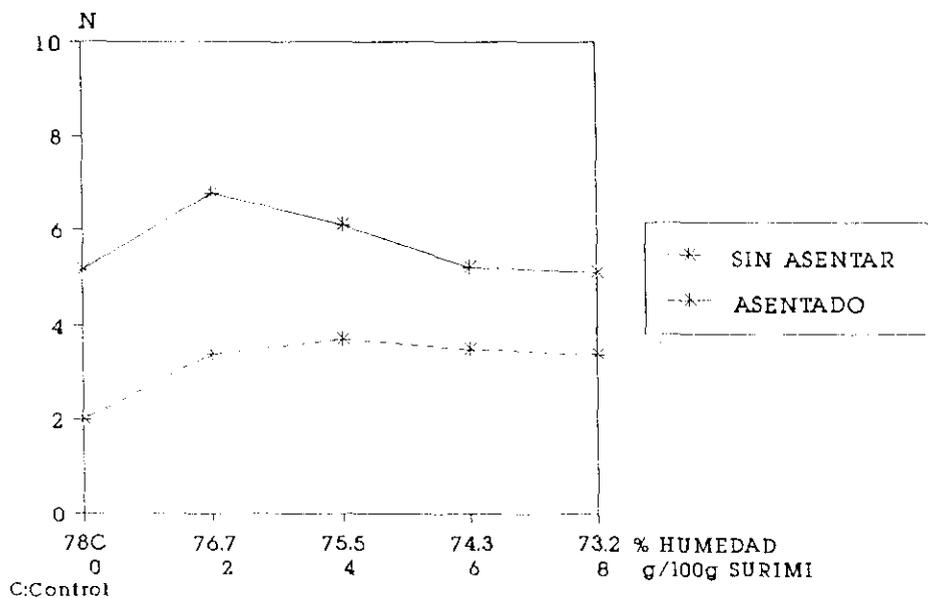


Fig. 6.6.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales

TABLA 6.I. Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferentes concentraciones de clara de huevo y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	1 A
78	4	1 AB	2 A
78	6	1 AB	2 A
78	8	1B	1 A

TABLA 6.II Análisis de varianza de la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y distinto tratamiento térmico.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 ACD
78	2	1 AB	1 BC
78	4	1 AB	1 CD
78	6	1 B	2 D
78	8	1 B	1 D

TABLA 6.III Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
78	4	1 A	2 A
78	6	1 A	2 A
78	8	1 A	1 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de clara de huevo ($p < 0,05$).

TABLA 6.IV. Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a distintas concentraciones de clara de huevo y humedades finales y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 ABC	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 AB	2 A
74.5	6	1 BC	1 A
73.2	8	1 C	1 A

TABLA 6.V. Análisis de varianza de la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 AB
76.7	2	1 A	1 A
75.5	4	1 AB	1 AB
74.5	6	1 BC	1 BC
73.2	8	1 C	1 C

TABLA 6.VI. Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 A	2 A
74.5	6	1 A	1 A
73.2	8	1 A	1 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas en las diferentes concentraciones de clara de huevo y humedades finales ($p < 0,05$).

significativas con respecto a los geles con 78 y 76.7% de humedad para DR cuando se añaden 6 y 8g/100g de *surimi* (tabla 6.V).

En los lotes sin asentamiento no encontramos diferencias significativas para RG y FR (tablas 6.IV y 6.VI) mientras que DR disminuye al aumentar la concentración de clara de huevo apareciendo diferencias significativas para los lotes con 74.5 y 73.2% de humedad (tabla 6.V). Para estos mismos lotes los resultados de TP son bajos, lo que representa que el incremento de clara de huevo en el gel hace que sean más quebradizos.

En los geles con 80% y 82% de humedad los valores de RG, DR y FR son superiores para los geles asentados (Fig 6.7, 6.8 y 6.9).

Teniendo en cuenta la humedad final de los lotes control (sin clara de huevo) los valores de RG, FR y DR disminuyen a medida que aumenta la humedad final y de forma más acusada en los geles asentados. Los valores de TP fueron de 5 para todos los geles. Al añadir 2g de clara de huevo/100g de *surimi* las diferencias entre los lotes asentados y sin asentar disminuyen para los geles con un 78% de humedad.

Para las tres humedades estudiadas, comparando los geles asentados con clara de huevo con respecto a su control se aprecia como disminuye la RG para los lotes con 78% de humedad mientras que se incrementa con humedades del 80 y 82%. Al realizar el análisis estadístico se encontraron diferencias significativas en los lotes asentados entre los controles y los lotes con clara de huevo para RG y FR con 80 y 82% de humedad y no con 78% (tablas 6.X, 6.XI y 6.XII). Para los geles sin asentar se apreciaron incrementos de RG cuando se añade la clara de huevo en las tres humedades estudiadas aunque únicamente muestran diferencias significativas para los valores de DR (tabla 6.XI) los lotes de 78 y 82% de humedad.

Comparando entre si los geles con clara de huevo (tablas 6.VII, 6.VIII, 6.IX) se observa como para los lotes asentados se encontraron diferencias significativas entre los geles con 78 y 82% de humedad debido a un descenso de los valores de FR ya que no se

RESISTENCIA DEL GEL CLARA DE HUEVO

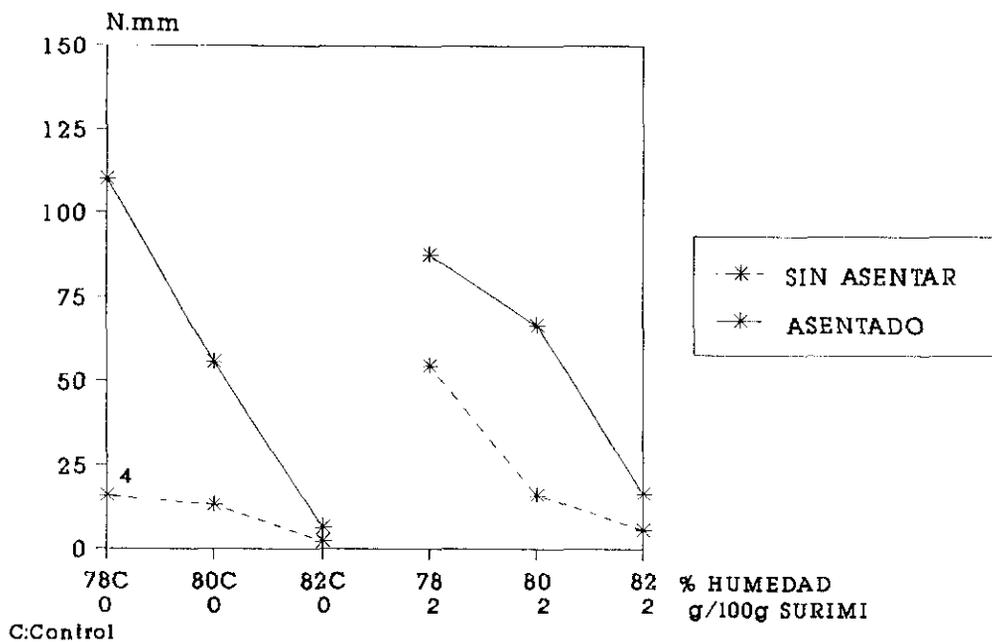


Fig. 6.7.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales. El número que aparece en el interior de la figura corresponde a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

DEFORMACION A ROTURA CLARA DE HUEVO

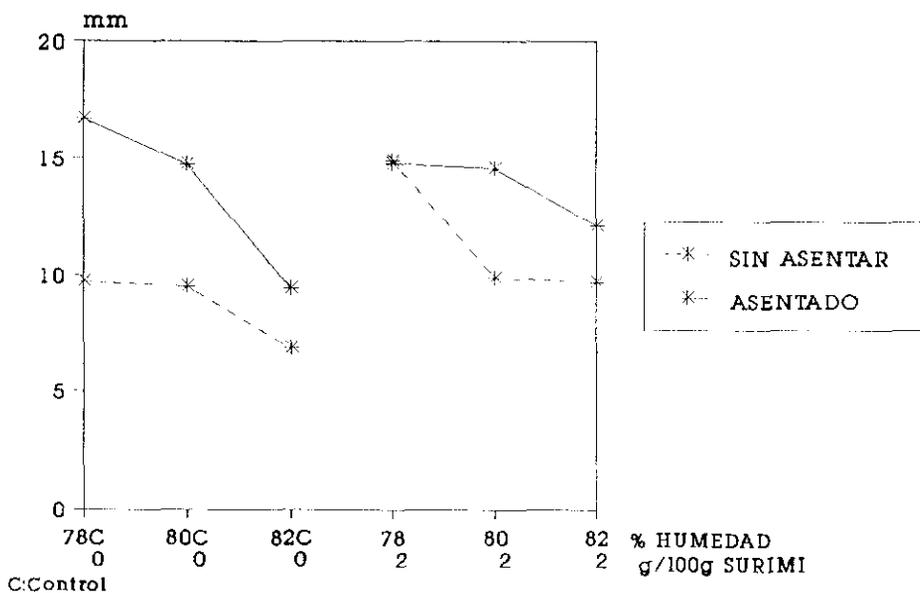


Fig. 6.8.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales.

FUERZA MAXIMA A ROTURA CLARA DE HUEVO

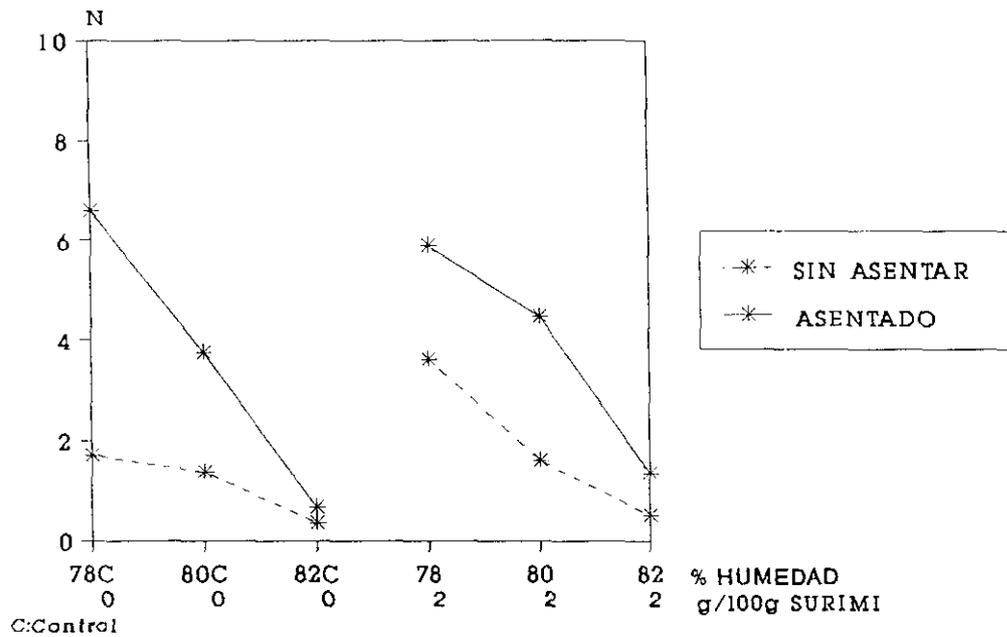


Fig. 6.9.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentado con distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes humedades finales

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA CLARA DE HUEVO

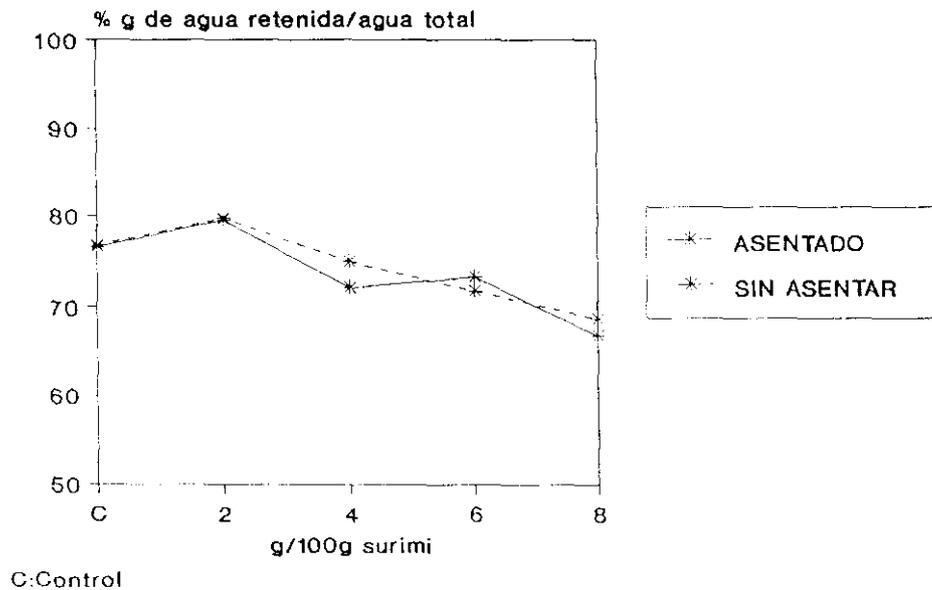


Fig. 6.10.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentado con diferentes concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final

TABLA 6.VII Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a distintas humedades y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	2	1 A	1 A
80	2	1 AB	2 AB
82	2	1 B	1 B

TABLA 6.VIII Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a distintas humedades y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	2	1 A	1 A
80	2	1 A	1 AB
82	2	1 B	1 B

TABLA 6.IX Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	2	1 A	1 A
80	2	1 A	2 B
82	2	1 A	1 B

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes humedades ($p < 0,05$).

TABLA 6.X Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferentes humedades concentraciones de clara de huevo y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	1 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 B	2 A
82	0	1 A	1 A
82	2	1 B	2 A

TABLA 6.XI Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	1 B
80	0	1 A	2 A
80	2	1 A	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 B

TABLA 6.XII Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de clara de huevo y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	1 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 B	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de clara de huevo ($p < 0,05$).

encontraron diferencias significativas para los valores de DR. Para los geles sin asentar se observa un descenso de los valores de RG y FR con valores intermedios para los geles con 80% de humedad (Fig 6.7 y 6.9). Sin embargo los valores de DR fueron muy similares en los geles con 80 y 82% de humedad y diferentes de los de 78% de humedad. A 78% de humedad los valores de DR fueron similares para los geles asentados y sin asentar (Fig 6.8).

Los valores más altos de RG, DR y FR observados en todos los casos en los geles asentados frente a los calentados directamente observado por algunos autores (Okada, 1985; Niwa y col., 1988d; Chung y Lee, 1990) se podría justificar por el hecho de favorecer la gelificación de una de las proteínas frente a la otra bien por temperaturas o bien por tiempos de calentamiento como ya ha sido señalado para el caso del almidón (capítulo 5). Chung y Lee (1990) incrementan la fuerza de geles de abadejo de Alaska con un calentamiento directo añadiendo un 3% de clara de huevo y fueron Niwa y col., (1988d) quienes demostraron que existe una mayor adhesividad de la clara de huevo al *surimi* cuando se calientan ambos directamente, con lo cual la interacción entre ambas proteínas es mayor cuando no tiene lugar un asentamiento previo al calentamiento. El asentamiento previo permitiría a la proteína miofibrilar formar la red a bajas temperaturas formando una estructura inicial fuerte y luego al gelificar la clara de huevo lo haría de tal manera que se mantiene esta estructura. En cambio, en los geles sin asentar la gelificación de ambas proteínas podría ser simultánea de tal manera que la proteína miofibrilar no formase una estructura tan buena como la de los geles asentados y en este caso la clara de huevo formaría una estructura base junto con la proteína miofibrilar. El incremento de estos valores se debe a la FR estando estos resultados de acuerdo con los obtenidos por Okada (1985).

Okada (1964) explica el descenso de la RG observado en sus geles de *surimi* con clara de huevo añadida por la confluencia de diferentes factores, como son el menor contenido en proteína miofibrilar, la interferencia de la proteína globular o el efecto de dilución del agua ya que no toda el agua añadida para ajustar la humedad de la clara de huevo es retenida por esta.

La RG de los geles asentados con clara de huevo va disminuyendo con concentraciones crecientes de clara de huevo tanto en los geles con humedad final del 78% (Fig 6.1) como los geles que no tienen ajustada la humedad (Fig 6.4) por el descenso de los valores de DR siendo este descenso más acusado en el lote de geles a los que no se les ajusta la humedad final. Esto hace que los geles sean más friables aunque los valores de FR se mantienen. Niwa y col. (1988c) obtuvieron resultados similares en y_d al disminuir estos a medida que incorporan concentraciones crecientes de clara de huevo sin ajustar la humedad final de los geles de *surimi* de abadejo de Alaska y lo justifican por la formación de una red más densa (Niwa y col., 1988b y c).

En los geles en donde la humedad final se ajustó al 78% el descenso de los valores de RG parece estar más relacionado con la disminución de la cantidad de AM (tabla 5.IV). Al disminuir la AM y aumentar la concentración de clara de huevo se podría producir una interferencia en la formación de la red y ello explicaría que a concentraciones elevadas (8g) la calidad del *surimi* fuese baja con un TP de 4. Empleando concentraciones más bajas a 8g/100g de *surimi* los geles aún contienen la suficiente proteína miofibrilar dando geles de buena calidad. De la misma manera se puede justificar el que al añadir clara de huevo sin ajustar la humedad final de los geles todos los valores de TP sean de 5 ya que la cantidad de AM no varía tanto como en el caso de los lotes con la humedad final del 78%.

Resultados similares son los que obtuvieron Chung y Lee (1990) al añadir 3% de clara de huevo al *surimi* de abadejo de Alaska y ajustar los geles a un 78% de humedad final. Aunque observaron un incremento de RG con respecto al control no encontraron diferencias significativas entre el lote con clara de huevo y el lote control.

En los geles control y con clara de huevo de 80 y 82% de humedad final la disminución de los valores de RG respecto al 78% de humedad puede deberse tanto al bajo contenido de AM (tabla 5. IV) como a la disminución de la sustancia seca aunque parece se puede atribuir más a la sustancia seca por un mayor descenso de los valores de FR. Los valores de TP fueron de 5 para los geles con 80 y 82% de humedad y los de DR de geles con clara de huevo (tabla 6.IX) no presentaron diferencias significativas con respecto a los lotes

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA CLARA DE HUEVO

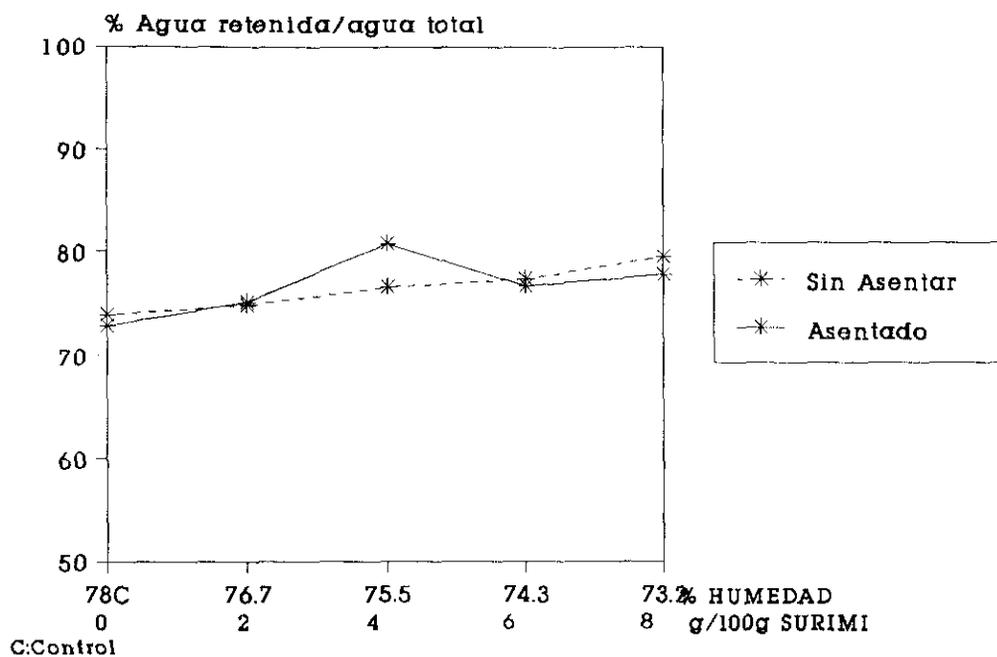


Fig. 6.11.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de clara de huevo y distintas humedades finales.

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA CLARA DE HUEVO

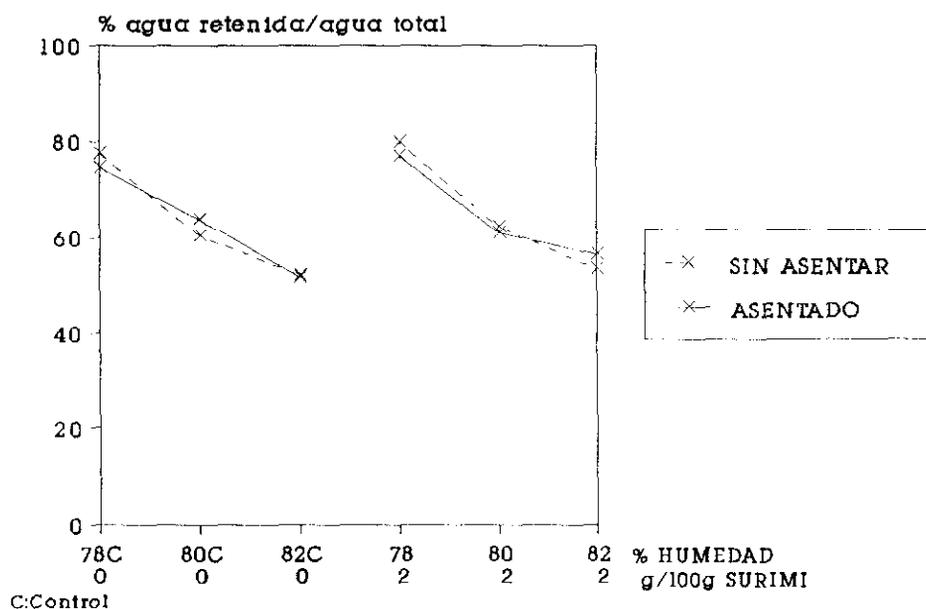


Fig. 6.12.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de clara de huevo y distintas humedades finales.

con 78% de humedad con lo que parece se deduce que la funcionalidad del gel a elevadas humedades se mantiene y existiría una relación entre la elasticidad del gel y el contenido en agua como ya indican otros autores (Niwa y col., 1988b)

Alvarez y col. (1992) encuentran diferente efecto de la clara de huevo en los geles de abadejo de Alaska asentados y calentados en función de la humedad final de los geles. Así para los geles asentados con 73% de humedad final la clara de huevo no ejerce un efecto positivo en la RG y si lo hace cuando la humedad final del gel es del 83%.

6.3.2 Capacidad de retención de agua

Cuando la humedad de los geles asentados y sin asentar se ajustó al 78% (Figura 6.10) se observa un ligero aumento de la CRA con 2g de clara de huevo/100g de *surimi* para luego descender a medida que aumenta la concentración de clara de huevo. Para estos geles no se encontraron diferencias significativas entre los lotes control y con 2g de clara de huevo y sí entre estos lotes y el resto con concentraciones superiores. No se apreciaron tampoco diferencias significativas entre los lotes con 4, 6 y 8g de clara de huevo (tabla 6.XIII). Estos resultados podrían indicar que la proteína del *surimi* retendría más agua que la de la clara de huevo y el efecto de la clara de huevo en la textura de los geles no se debe a que esta absorba agua como ocurre con algunos polisacáridos (Niwa y col., 1988b y d). En los geles con almidón (Fig 5.10 y 5.11) si observamos un incremento de los valores de CRA aunque estos no se correspondían con un aumento de la RG para los geles de 78% de humedad y humedades inferiores (Fig 5.1 y 5.4). Sin embargo aumentan los resultados de RG con humedades del 80 y 82% (Fig 5.7). Esta disminución de la CRA podría relacionarse con los datos obtenidos de RG y DR indicando que un descenso de la CRA hace que la fuerza del gel y más concretamente la elasticidad del gel (relacionando elasticidad con DR) sea menor y que se pueda deber a un efecto de dilución del *surimi* o de que no toda el agua añadida sea retenida por la clara de huevo como ya apuntaba Okada (1964). El los geles con 78% de humedad sin asentar presenta valores de CRA similares a los asentados sin encontrar diferencias significativas entre ellos (tabla 6.XIII), lo que indicaría un menor efecto del tratamiento térmico en la CRA que en la textura.

TABLA 6.XIII Análisis de varianza para la variable CRA a distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 A
78	2	1 A	1 A
78	4	1 B	1 AC
78	6	1 B	1 AC
78	8	1 B	1 BC

TABLA 6.XIV Análisis de varianza para la variable CRA a distintas concentraciones de clara de huevo y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 A
76.7	2	1 A	1 A
75.5	4	1 A	1 A
74.5	6	1 A	1 A
73.2	8	1 A	1 A

TABLA 6.XV Análisis de varianza para la variable CRA en geles con clara de huevo a diferentes humedades y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g de <i>surimi</i>	ASENTADOS	SIN ASENTAR
78	2	1 A	1 A
80	2	1 B	1 B
82	2	1 B	1 C

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes humedades ($p < 0,05$).

Chung y Lee (1990) por el contrario encontraron diferencias significativas con respecto al control reteniendo este más agua que al añadir 3% de clara de huevo.

La CRA de los geles sin ajuste de humedad final (Fig. 6.11) mejora ligeramente a medida que aumenta la concentración de la clara de huevo y disminuye la humedad del gel aunque no se encuentran diferencias significativas entre los lotes ni por tratamiento térmico ni por concentración de ingrediente (tabla 6.XIV).

En la Figura 6.12 se muestran los resultados de CRA obtenidos en geles con 78, 80 y 82% de humedad con y sin clara de huevo. Se observa un descenso de los valores de CRA al incrementar la humedad de los geles con diferencias significativas para los geles asentados con 2g de clara de huevo entre los lotes de 78% de humedad con los de 80 y 82%. En los geles sin asentar se aprecian diferencias significativas entre los geles con clara de huevo a las tres humedades estudiadas. Para estos geles no se apreciaron diferencias significativas entre los dos tratamientos térmicos (tabla 6.XV).

6.3.4 Microscopía

Microscópicamente (Fig 6.13) se observa que la clara de huevo se distribuye de forma muy homogénea (los glóbulos de clara de huevo son en general del mismo tamaño y equidistantes en la red) formando parte de la red tridimensional dando continuidad a la estructura. Ziegler y Foegeding (1990) consideran que la ovalobúmina es capaz de formar una estructura "compleja" con la AM.

A 500X, con 78% de humedad y 2g/100g de *surimi* (Fig 6.13a) se manifiesta una estructura fibrosa ordenada con el ingrediente muy bien mezclado. Esta estructura fibrosa a 10000X (Fig 6.13b) se presenta con la proteína con una morfología globular-redondeada y la clara de huevo aparece como agregados globulares. A 500X el gel de 8g/100g de *surimi* y 78% de humedad (Fig 6.13c) presenta una morfología similar a la del gel con 2g de clara de huevo (ambas 500X) aunque la densidad de la malla es más compacta apreciándose más agregados de clara de huevo distribuidos en el gel. Este hecho concuerda con los datos

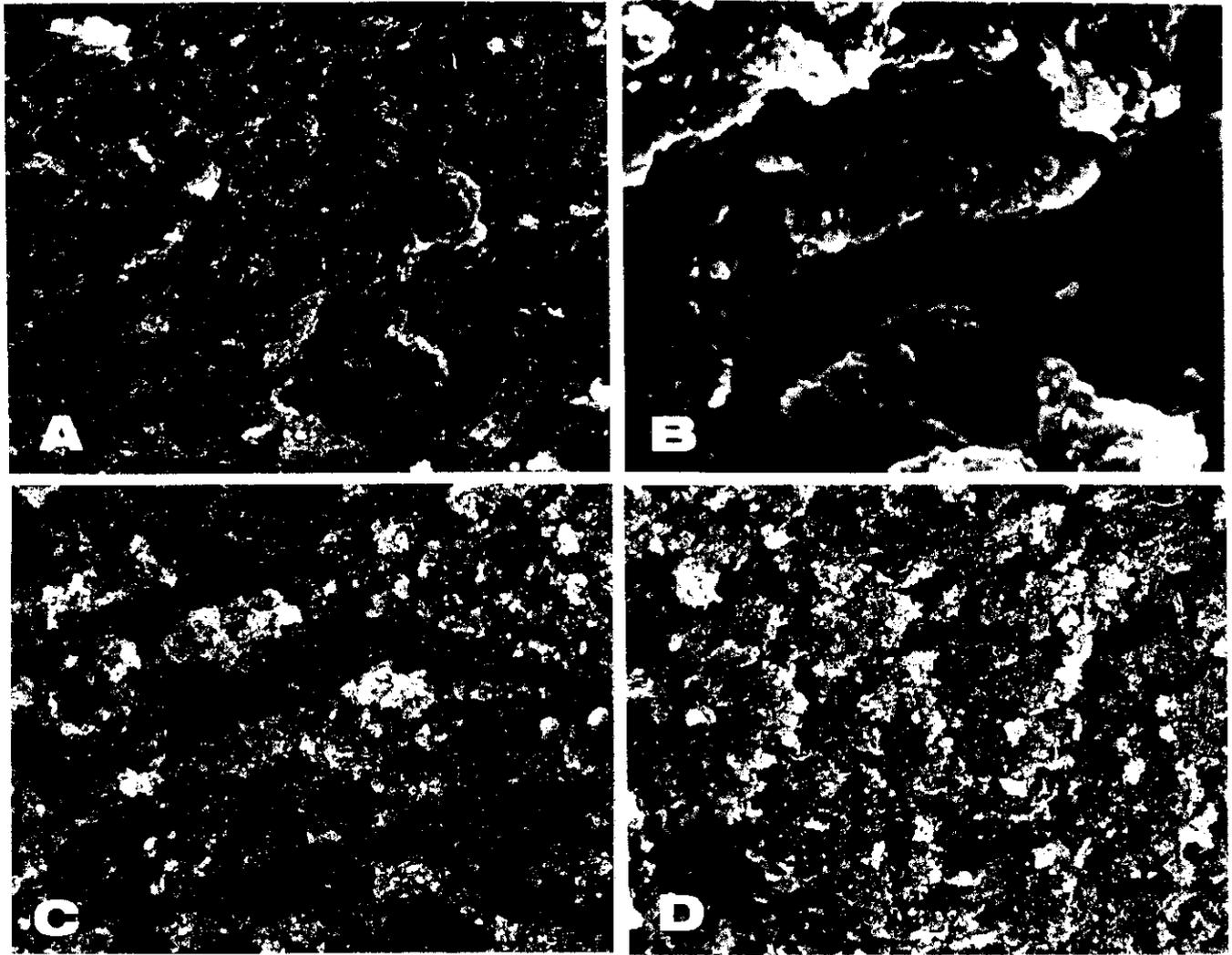


Fig 6.13 Geles de *surimi* con clara huevo. a: Geles de *surimi* con 2 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x500). b: Geles de *surimi* con 2 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x10.000). c: Geles de *surimi* con 8 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x500). d: Geles de *surimi* con 8 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 73,2% de humedad final (x500)

obtenidos en RG y DR que son más bajos a esta concentración seguramente porque la compactación de la malla hace que esta estructura sea mas fragil rompiendose con más facilidad y dando valores más bajos. También con 8g/100g de *surimi* la CRA es menor lo que coincide con los resultados expuestos por Niwa y col. (1988b) en donde afirma que los geles que retienen menor cantidad de agua resultan menos elásticos.

Cuando se añaden 8g/100g de *surimi* sin ajustar la humedad al 78% (humedad 73,2%) la morfología es similar a la que presenta el gel con 78% de humedad (Fig 6.13d).

6.3.5 Color

En cuanto al color, para los geles con 78% de humedad y clara de huevo el parámetro L^* (Fig 6.14) se incrementa con respecto al control al incrementar la concentración de clara de huevo siendo los datos más altos los correspondientes a los geles con 8g/100g de *surimi* en ambos tipos de geles. Para el parámetro a^* (Fig 6.15) no se observaron diferencias muy marcadas entre los diferentes lotes y los valores oscilaron entre -1 y 0. Los valores obtenidos para el parámetro b^* (Fig 6.16) indican un ligero incremento con concentraciones crecientes de clara de huevo. En base a estos resultados se deduce que la clara de huevo tiene un efecto de incremento de luminosidad en los geles que se refleja en los valores de L^* . Este efecto ya ha sido citado por otros autores (Roussel y Cheftel (1988)). El incremento de los valores del parámetro b^* indica un aumento de las intensidad del color amarillo producido por la mayor incorporación de albumina en polvo de tonalidad amarillenta.

ANÁLISIS DE COLOR CLARA DE HUEVO

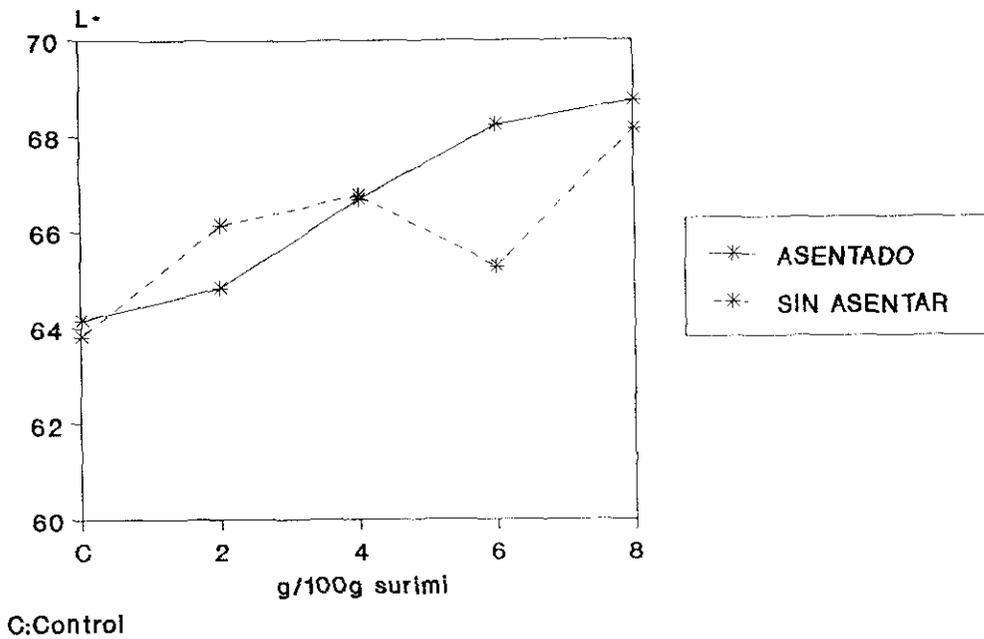


Fig. 6.14.- Análisis de color (parámetro L*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final

ANÁLISIS DE COLOR CLARA DE HUEVO

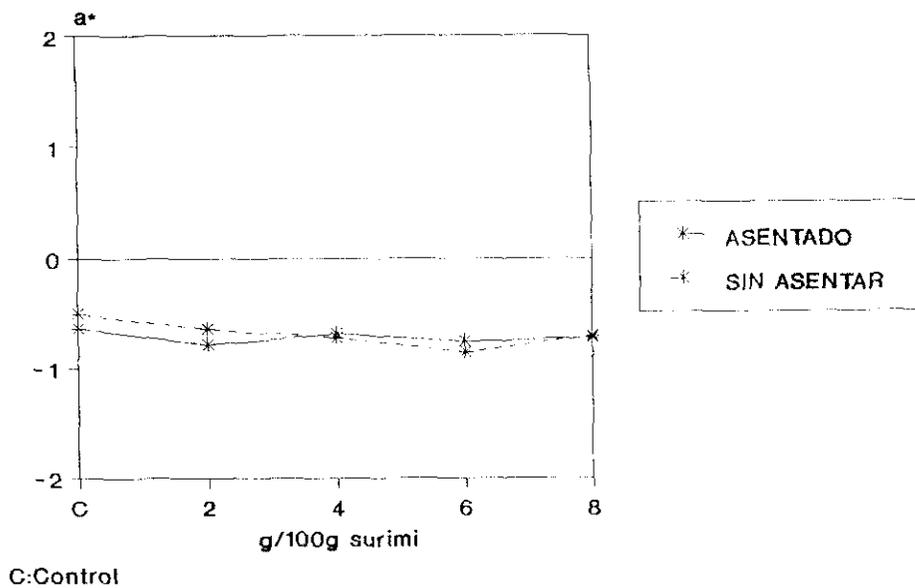


Fig. 6.15.- Análisis de color (parámetro a*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final

ANÁLISIS DE COLOR CLARA DE HUEVO

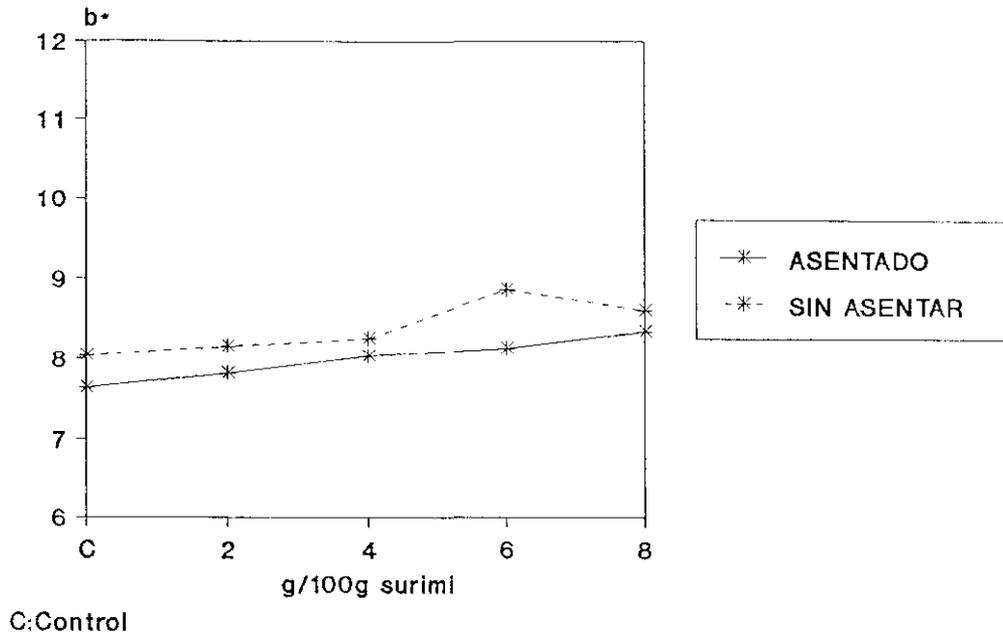


Fig. 6.16.- Análisis de color (parámetro b^*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de clara de huevo y 78% de humedad final

Capítulo 7

Capítulo 7.

EFFECTO DEL AISLADO DE SOJA EN LOS GELES DE *SURIMI* DE SARDINA

7.1 INTRODUCCION

7.1.1 Definición

La soja se utiliza como ingrediente en forma de proteínas aisladas que se obtienen a partir de la fracción proteica contenida en la judía de soja, por medio de una precipitación isoelectrica seguida de un proceso de neutralización. Las proteínas aisladas de soja tienen un contenido proteico mínimo del 90% en base seca, con un alto grado de funcionalidad en un sinnúmero de aplicaciones alimentarias, y están exentas de los carbohidratos de soja que se sabe imparten características indeseables de sabor, aroma y digestibilidad.

7.1.2 Estructura y propiedades químicas de las proteínas de soja

Aproximadamente un 85-95% de las proteínas de soja son globulinas, insolubles en agua a pH cercano a su punto isoelectrico (pH 4.5) pero solubles en soluciones salinas diluidas o a pH neutro y superiores. Estas globulinas se clasifican de acuerdo a sus propiedades de sedimentación en fracciones 2S, 7S, 11S y 15S. Las fracciones mayoritarias son la 7S (globulina 7S o conglicinina) y la 11S (11S globulina o glicinina) que representan un 37% y 31% del total de las globulinas respectivamente y son las que participan en el proceso de gelificación de las proteínas aisladas de soja (Ziegler y Foegeding, 1990).

Las proteínas de soja son moléculas de pesos moleculares elevados que oscilan entre 186000 y 210000 daltons la fracción 7S y de 350000 daltons la fracción 11S. Se trata de proteínas heterogéneas con complejas estructuras cuaternarias. Sus reacciones de asociación-disociación dependen de las condiciones iónicas de la solución en la que se encuentren (Hermansson 1986).

La fracción 7S es un trímero compuesto de seis diferentes combinaciones de 3 subunidades: α (57000 daltons), β (58000 daltons) y β' (42000 daltons) asociadas por interacciones hidrofóbicas. Esta fracción contiene un 4% de carbohidratos que se extraen para elaborar el aislado de proteína de soja.

La fracción 11S es una única proteína formada por doce subunidades (seis ácidas y seis básicas) unidas a pares por puentes disulfuro. La estructura cuaternaria queda formada al establecerse enlaces electrostáticos y puentes de hidrógeno entre dos anillos hexagonales que contienen los pares ácidos y básicos. Los anillos se disocian con calor o a baja fuerza iónica ($<0,1$) (Ziegler y col., 1990).

La presencia de NaCl estabiliza la estructura cuaternaria de la proteína de soja haciendo que esta sea más resistente a la desnaturalización. También la concentración salina influye en la temperatura de gelificación que aumenta a medida que aumenta la concentración de sal. Microscópicamente la adición de sal no altera la estructura de los geles de conglicinina tan drásticamente como ocurre en el caso de los geles de glicinina (Hermansson 1986).

7.1.3 Formación del gel de proteína de soja

Catsimpoalas y Meyer (1970) propusieron un mecanismo de gelificación de la proteína de soja que comienza con un desdoblamiento y disociación de la proteína por la acción del calor. Posteriormente, con la intervención de enlaces no covalentes se forma una estructura reversible a modo de agregado que denominan "progel". Después, si las condiciones son apropiadas se forma una agregación irreversible hasta la formación de un gel definitivo con formación de enlaces covalentes.

La glicinina y conglucina forman estructuras a modo de redes filamentosas ordenadas. Los filamentos de glicinina se asocian construyendo una estructura cilíndrica. Los de conglucina forman estructuras más irregulares y entrelazadas que la glicinina e incluso pueden llegar a formarse complejos a modo de agregados posiblemente formando espirales dobles por disociación de la estructura cuaternaria y reasociación de subunidades (Hermansson 1986).

Entre los factores que influyen en la formación del gel en diferentes sistemas modelo de proteínas de soja encontramos tiempos y temperaturas de calentamiento así como concentración proteica (Ziegler y Foegeding, 1990). En cuanto a la temperatura de gelificación del aislado de proteína de soja hay que tener en cuenta que esta varía en función del tiempo de calentamiento, fuerza iónica y pH siendo muy difícil establecer una temperatura óptima de gelificación ya que depende de las condiciones del medio. Hermansson (1978) señala dos picos endotérmicos en un termograma por calorimetría diferencial de barrido a pH neutro y en ausencia de sal, correspondientes el primero a la temperatura de desnaturalización de la fracción 7S (76°C) y el segundo a cambios conformacionales de la fracción 11S (91°C). Si la proteína de soja se utiliza como ingrediente en un sistema, el número de factores que influyen en la gelificación aumenta y esta puede dar como resultado una red ordenada o la formación de estructuras agregadas. La formación de gel de aislados de proteína se efectúa de diferente manera a como lo hace la proteína nativa debido a las condiciones de procesado que causan desnaturalización y diferentes estados de agregación (Hermansson 1986). En estudios realizados el geles con proteína de soja por Chung y Lee (1990) observaron como tiempos prolongados de calentamiento disminuyen la RG.

7.1.4 Aplicación del aislado de soja en alimentos

Las proteínas aisladas de soja se han utilizado en la industria de la alimentación humana, como fuente única de proteína en el caso de alimentos maternizados y como ingrediente proteico en alimentos para adultos. Esta proteína es muy utilizada en la industria cárnica.

7.1.5 Utilización del aislado de soja en geles de *surimi* y productos alimenticios derivados del *surimi*

La proteína aislada de soja se utiliza más recientemente en productos derivados del *surimi* sobre todo por su capacidad gelificante y emulsionante, así como por el efecto que tiene en el aumento de la RG de los geles de *surimi* por la capacidad de retener agua (Suzuki, 1981; Kent Holt, 1985; Hermansson, 1983), influyendo en la textura final de los geles. Este efecto tiene incluso lugar añadiendo bajas concentraciones de aislado de soja (Sano, 1988). Sin embargo, un elevado contenido de aislado de soja confiere al producto final un color algo amarillento y un ligero aroma poco deseable (Suzuki, 1981; Okada, 1985; Lee y col., 1992).

Los aminoácidos hidrofóbicos presentes en la proteína permiten a esta interactuar con la AM formando una estructura de red común (Chung y Lee, 1990; Niwa y col. (1988d). Niwa y col. además comprobaron que la proteína de soja interactúa mejor cuando ambas proteínas gelifican conjuntamente a temperaturas de 40°C que se corresponden con temperaturas de asentamiento aunque las condiciones fisicoquímicas no permiten esta interacción y el efecto fortificante en el gel es debido a la capacidad de absorber agua por parte de la proteína resultando dos redes distintas aún dando resultados similares de RG (Niwa y col., 1988b).

Chung y Lee (1990) consiguen resultados diferentes utilizando dos tipos de aislados de soja dependiendo además de la temperatura empleada. Niwa y col. (1988d) estudiando el grado de adhesividad de *surimi* y del aislado de soja observaron una mayor interacción entre ambos compuestos cuando los geles se calientan directamente a 80°C.

Areche y Fujii (1979) aumentan la RG en geles elaborados a partir de *surimi* de sardina cuando la concentración añadida es del 3%. Al incrementar la concentración de proteína de soja disminuye la RG.

Al igual que con la clara de huevo, la utilización de esta proteína resulta más indicada para elaborar geles a partir de *surimi* de baja calidad (Areche y Fujii, 1979; Okada, 1985;

Roussel y Cheftel, 1988; Foegeding y Lanier, 1990) y especialmente indicado para productos con un elevado contenido graso dada la capacidad de esta proteína de interactuar con lípidos (Hermansson, 1983; Okada 1985). También se ha visto un efecto positivo en la RG inhibiendo el fenómeno de *modori* (Okada, 1985).

El efecto de las proteínas de soja en el color de los geles tiene una influencia diferente según la especie utilizada. Areche y Fujii (1979) estudian comparativamente el efecto de las proteínas de soja en geles elaborados a partir de *surimi* de abadejo de Alaska y de sardina. De este estudio concluyen que en el *surimi* de abadejo de Alaska las proteínas de soja disminuye la blancura que incluso llega a oscurecerse cuando la concentración añadida es del 10%. En cambio, el efecto en los geles de sardina es diferente aumentando la blancura cuando se añade un 3% para luego permanecer constante este parámetro cuando aumenta la concentración.

7.2 MATERIALES Y METODOS

7.2.1 Diseño del experimento

El efecto del aislado de soja varía en función de la concentración de sal, pH y tratamiento térmico empleado (Okada, 1985). Resulta por ello difícil establecer cuál es la incidencia de la adición de proteína de soja en la textura de los geles ya que como ocurre con la clara de huevo a pesar de haber muchos trabajos, son diferentes las variables utilizadas haciendo dificultosa la interpretación de los resultados. Otro factor limitante de gran importancia es la cantidad de agua disponible, ya que como se ha indicado el efecto del aislado de soja en la RG puede ser debido a la capacidad de retener agua interfiriendo con otros componentes implicados en la gelificación.

Así mismo no existen estudios en profundidad acerca del efecto del aislado de soja en geles elaborados a partir de *surimi* de sardina con un mayor contenido en lípidos que el *surimi* de especies magras.

Por ello se han elaborado geles de *surimi* de sardina con diferentes cantidades de aislado de soja añadida y en dos sistemas diferentes siguiendo en esquema empleado para los otros ingredientes. En uno de los sistemas la humedad de los geles y la sustancia seca permanece constante al ajustar la humedad final del gel mientras que en otro sistema se incrementa la sustancia seca del gel y disminuye la humedad al no ajustar la humedad final de los geles cuando se añaden concentraciones crecientes de aislado de soja a una masa inicial de *surimi* sin aislado de soja de 78% de humedad. Con ello se pretende estudiar el efecto de la proteína añadida en condiciones en la que la AM del gel es sustituida por el aislado de soja y por otro lado el efecto del aislado de soja en condiciones de baja humedad. Además se ha estudiado el efecto del aislado de soja en un sistema con un elevado contenido en agua como son los geles con 80 y 82% de humedad.

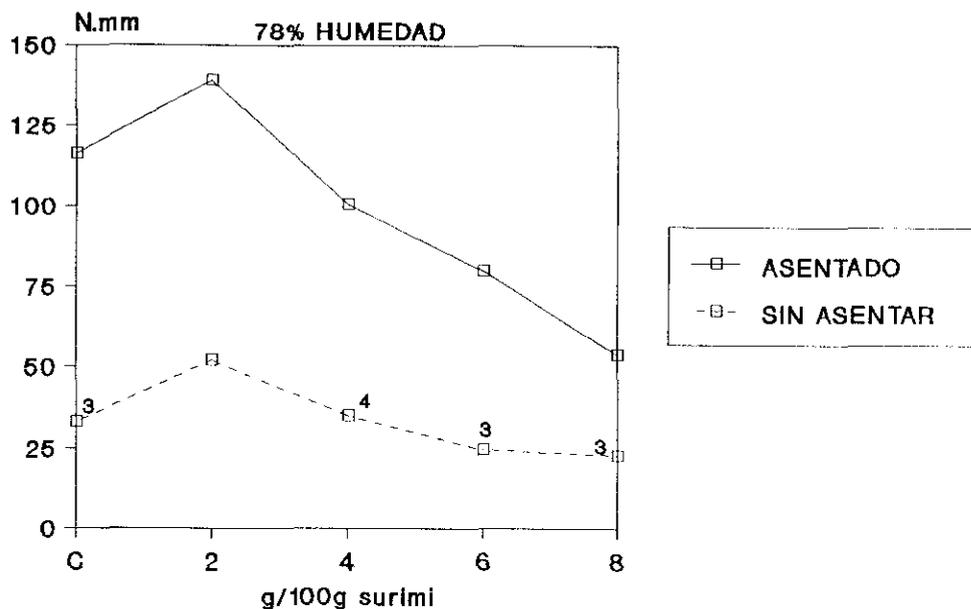
7.2.2 Elaboración de los geles con aislado de soja

Los geles se elaboraron siguiendo el protocolo general expuesto en el apartado (2.2.2. del capítulo 2). Las concentraciones de aislado de soja añadidas al sol de AM fueron de 2, 4, 6, y 8g de aislado de soja/100 g de *surimi*. La mezcla se realizó en condiciones de vacío durante 2 minutos hasta conseguir una correcta mezcla con el resto de los componentes. El efecto de las diferentes concentraciones del ingrediente en los geles se estudió teniendo en cuenta la humedad final del gel. Para cada concentración añadida se ajustó la humedad final a 78% o bien se añadió el ingrediente una vez la masa se ajustó al 78% de humedad de tal forma que la humedad final de los geles era diferente según la concentración añadida: 76,7%, 75,5%, 74,3%, 73,2% de humedad para los geles a los que se les añade 2, 4, 6 y 8g/100g de *surimi* respectivamente.

También se elaboraron geles con 2g de aislado de soja/100g de *surimi* ajustando la humedad final a 80% y 82% de humedad.

El tratamiento térmico aplicado fué una temperatura de calentamiento de 90°C y 30 minutos con y sin un asentamiento previo de 35°C durante 30 minutos.

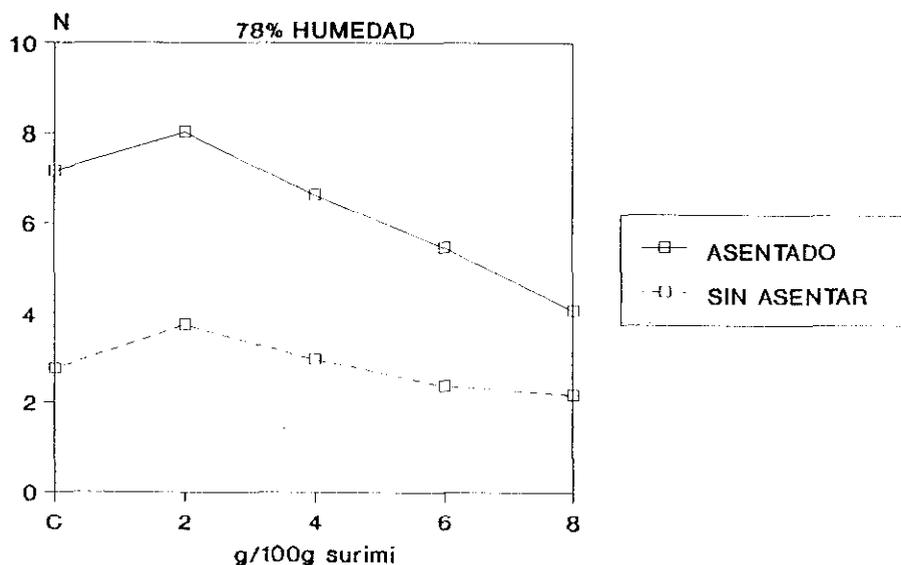
RESISTENCIA DEL GEL AISLADO DE SOJA



C:Control

Fig. 7.1.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

FUERZA MAXIMA A ROTURA AISLADO DE SOJA



C:Control

Fig. 7.2.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

Se ha utilizado proteína aislada de soja PP500 de Protein Technologies International (Barcelona) por ser un ingrediente recomendado para la elaboración de productos derivados del *surimi* por la casa comercial que lo distribuye.

7.3 RESULTADOS Y DISCUSION

7.3.1 Textura

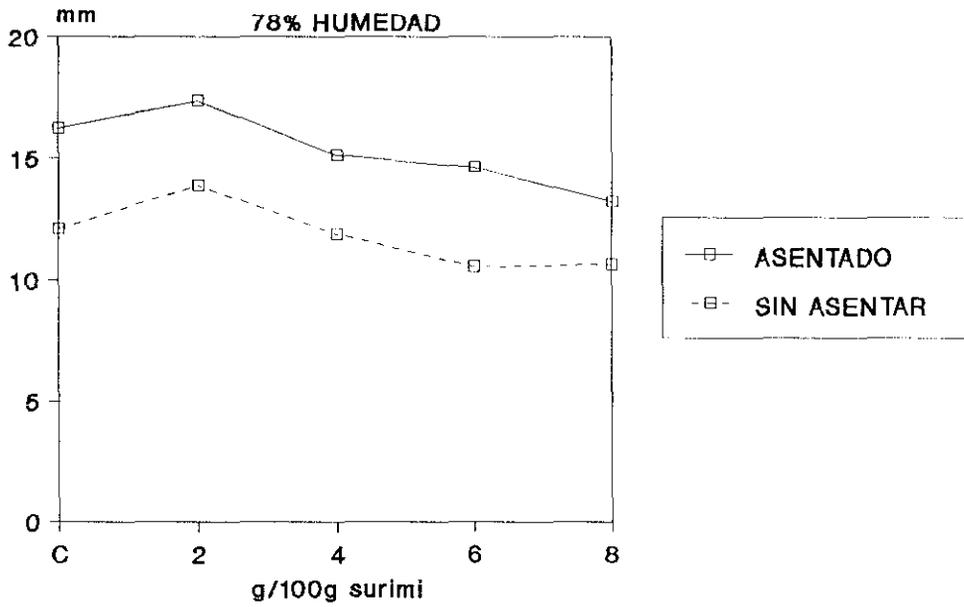
En los geles en los que la masa tiene ajustada la humedad final al 78% (Fig 7.1) se observa como los geles asentados muestran una RG, DR e FR mayor que los calentados directamente (Fig 7.1, 7.2 y 7.3) con diferencias significativas para los dos tratamientos térmicos a cualquier concentración de aislado de soja (tablas 7.I, 7.II y 7.III). Esto se debe sobre todo a los valores de FR ya que la DR se modifica menos y se mantienen paralelos entre los dos tratamientos térmicos para cualquier concentración de aislado de soja estudiada (Fig 7.2 y 7.3).

La RG presenta un máximo con 2g de aislado de soja añadido por cada 100g de *surimi* y a partir de esta concentración disminuye de forma lineal en los geles asentados a medida que aumenta la concentración aunque nunca se alcanzan los valores que en geles calentados directamente (Fig 7.1).

El lote que presenta valores más bajos es el que contiene 8g de aislado de soja añadido/100g de *surimi* siendo los valores de RG y FR significativamente diferentes del resto de los lotes. En los geles calentados directamente a 90°C durante 30 minutos se observa que los valores más altos también son los obtenidos al añadir 2g de aislado de soja/100g de *surimi* y este lote es el único que tiene un valor de 5 en el TP (Fig 7.1) siendo más bajos para el resto de los lotes incluido el lote control.

En las Figuras 7.4, 7.5 y 7.6 se representan los resultados obtenidos de RG, FR y DR de geles de *surimi* de sardina a los que se les añaden concentraciones de aislado de soja de

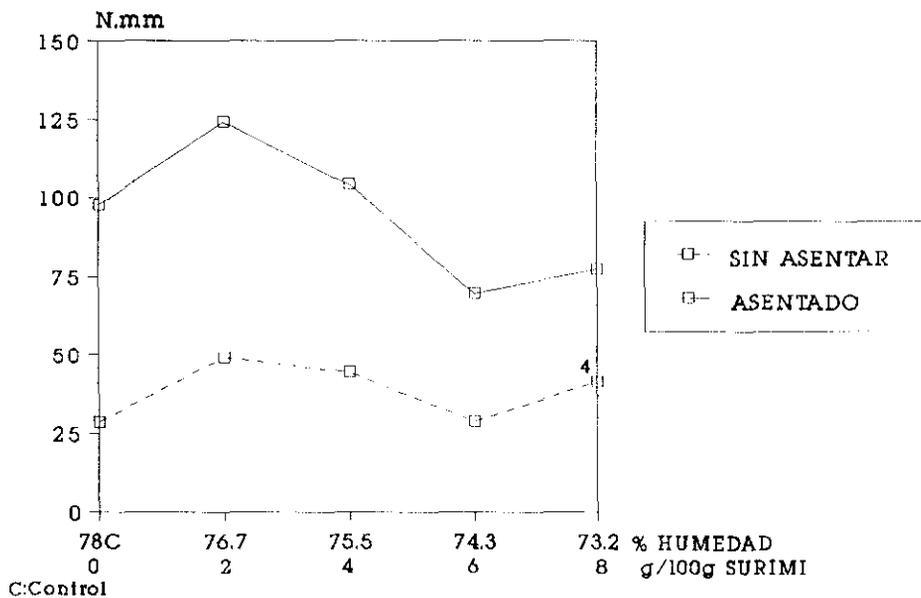
DEFORMACION A ROTURA AISLADO DE SOJA



C:Control

Fig. 7.3.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

RESISTENCIA DEL GEL AISLADO DE SOJA



C:Control

Fig. 7.4.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales. El número que aparece en el interior de la figura corresponde a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

FUERZA MAXIMA A ROTURA AISLADO DE SOJA

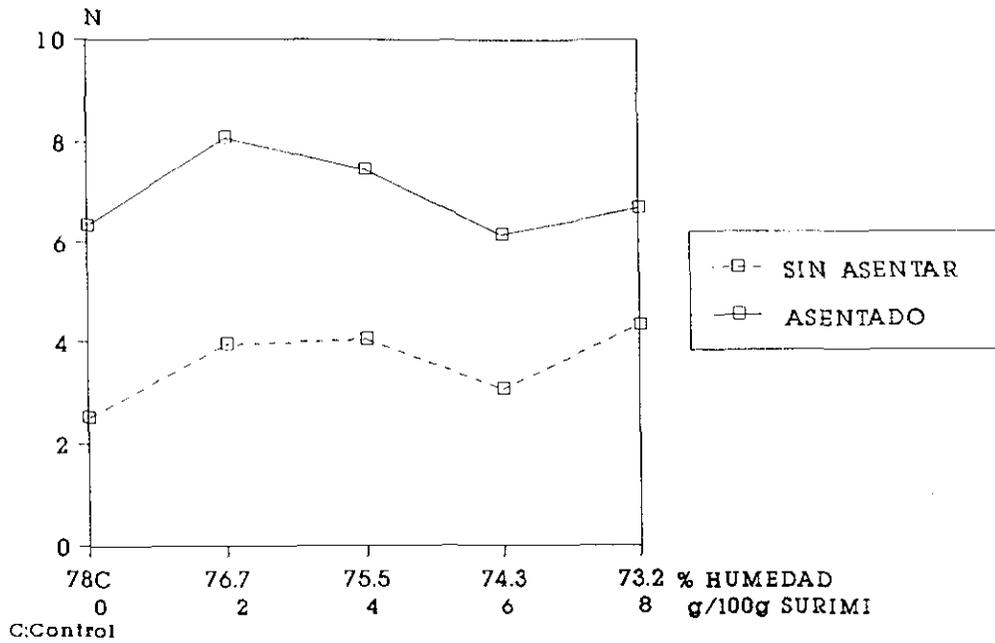


Fig. 7.5.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales.

DEFORMACION A ROTURA AISLADO DE SOJA

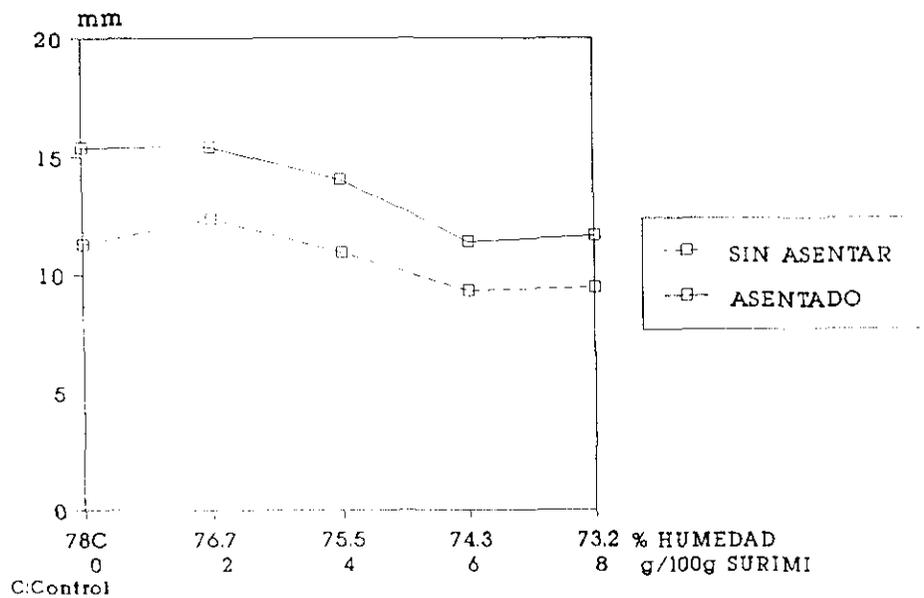


Fig. 7.6.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentar con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales.

TABLA 7.I Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferentes concentraciones de aislado de soja y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 AB
78	2	1 A	2 A
78	4	1 BC	2 AB
78	6	1 C	2 B
78	8	1 D	2 B

TABLA 7.II Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de aislado de soja y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 AB
78	2	1 A	2 A
78	4	1 BC	2 AB
78	6	1 C	2 B
78	8	1 D	2 B

TABLA 7.III Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de aislado de soja y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 A
78	2	1 A	2 B
78	4	1 BC	2 A
78	6	1 CD	2 A
78	8	1 D	2 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas por concentración de soja añadida ($p < 0,05$).

2, 4, 6 y 8g por 100g de *surimi* sin ajustar la humedad final y sometidos a los dos tratamientos térmicos descritos.

Al igual que ocurre con los lotes con aislado de soja y humedad final del 78% la RG, FR y DR superiores en los geles asentados que en los geles sin asentar aunque para los lotes con 6 y 8g/100g de *surimi* los valores de RG y DR no presentan estadísticamente diferencias significativas para los dos tratamientos térmicos (tabla 7.IV y 7.V). Si encontramos diferencias para las mismas concentraciones en FR (tabla 7.VI)

Para los geles asentados sin ajuste de humedad final (Fig 7.4) se observa para los valores de RG un aumento con respecto al control cuando la concentración de aislado de soja añadida es de 2g (76.7% de humedad final) que se debe sobre todo a un aumento de la FR (Fig 7.5) ya que los valores de DR son similares (Fig 7.6). Estadísticamente no encontramos diferencias significativas para los geles asentados control y a concentraciones de 2 y 4g de aislado de soja (tablas 7.IV, 7.V y 7.VI). Por encima de 2g y hasta los 6g a medida que disminuye la humedad del gel disminuye la RG de forma lineal estabilizándose a partir de esta última concentración.

En los geles calentados directamente la RG con respecto al control es ligeramente mayor a cualquier concentración estudiada si bien no existen diferencias significativas entre los lotes para los valores de RG y FR (Fig 7.4)(tabla 7.IV, 7.V). El lote con 8g de aislado de soja/100g de *surimi* aunque con una RG alta presenta un valor de TP de 4.

En los lotes de geles asentados en donde la humedad final se ajustó al 80 y 82% con 2g de aislado de soja añadido cabe destacar el descenso acusado de RG, FR y DR con respecto al control con 78% de humedad final del gel (Fig 7.7, 7.8 y 7.9). A humedades del 80 y 82% se observan diferencias significativas para RG y DR entre los geles control y con 2g de aislado de soja (tabla 7.VII y 7.VIII).

En los geles con 80% y 82% de humedad los valores de RG, DR y FR son superiores para los geles asentados con respecto a los geles sin asentar encontrando diferencias

TABLA 7.IV Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferentes concentraciones de aislado de soja y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 AB	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 AB	2 A
74.5	6	1 B	1 A
73.2	8	1 B	1 A

TABLA 7.V Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de aislado de soja y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 A	2 A
74.5	6	1 A	2 A
73.2	8	1 A	2 A

TABLA 7.VI Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de aislado de soja y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 AB
76.7	2	1 A	2 A
75.5	4	1 A	2 AB
74.5	6	1 B	1 B
73.2	8	1 B	1 B

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes concentraciones y humedades finales ($p < 0,05$).

RESISTENCIA DEL GEL AISLADO DE SOJA

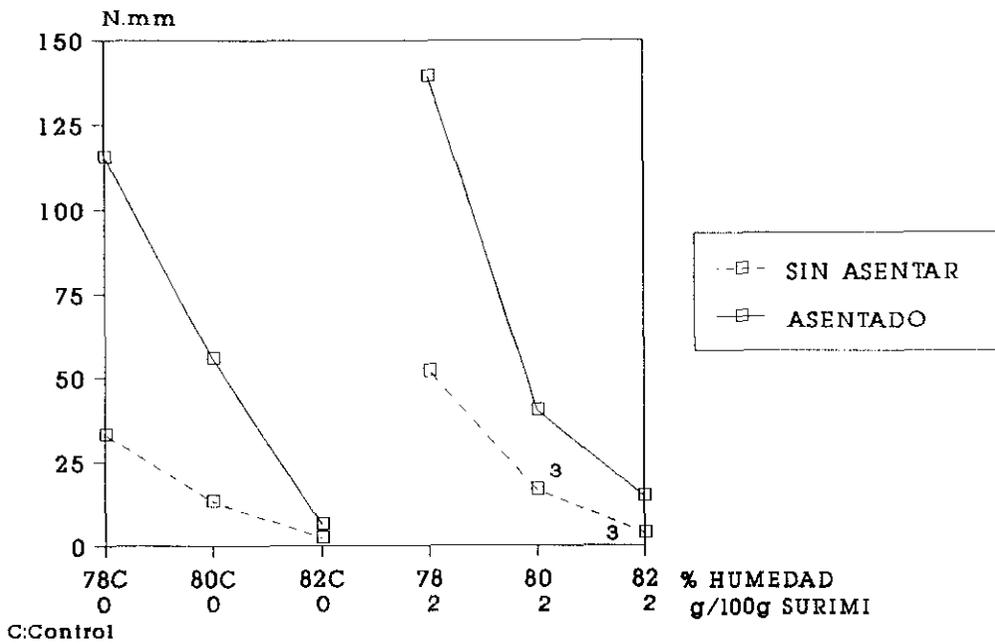


Fig. 7.7.- Resistencia (N.mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

FUERZA MÁXIMA A ROTURA AISLADO DE SOJA

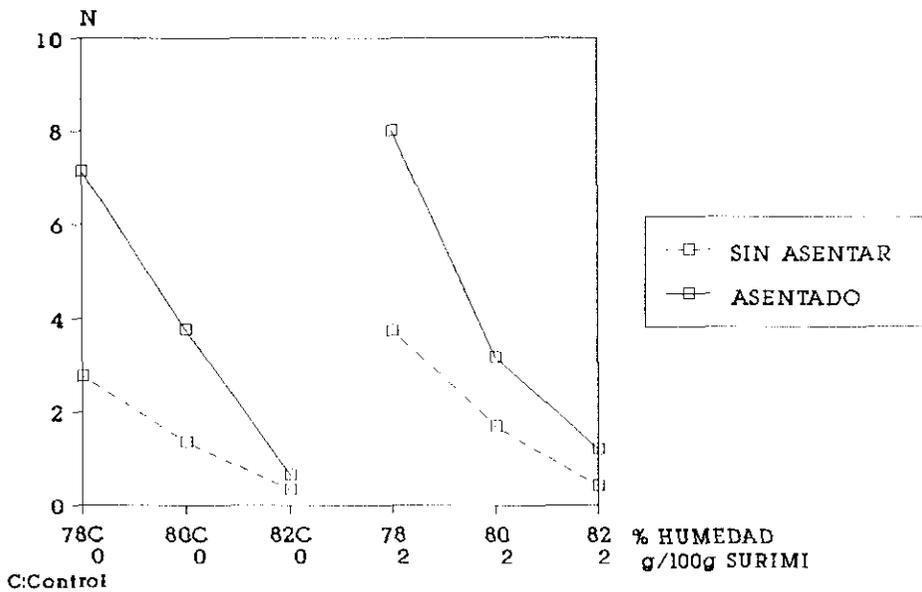


Fig. 7.8.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales.

DEFORMACION A ROTURA AISLADO DE SOJA

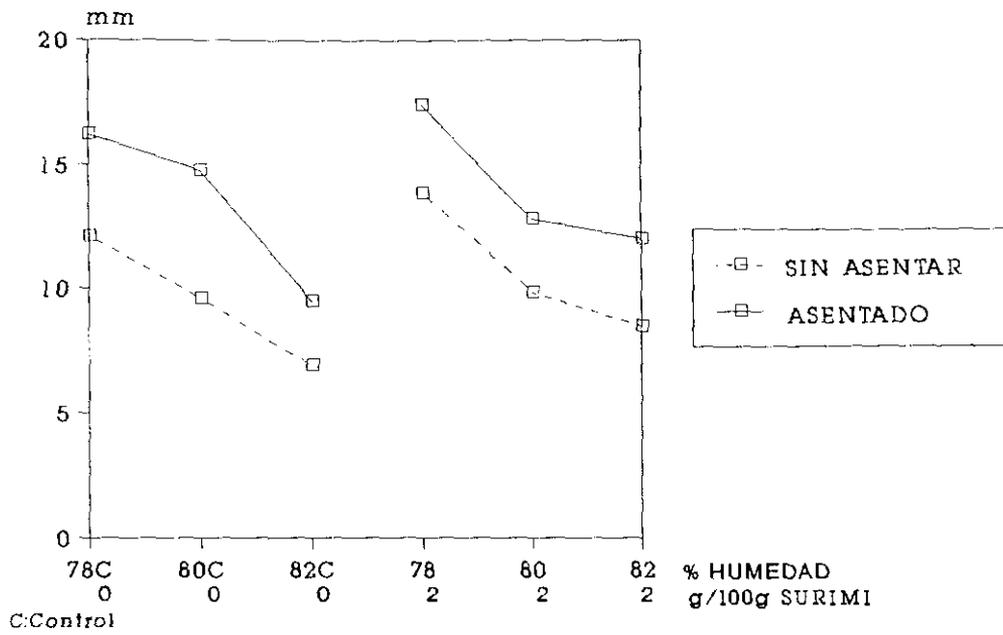


Fig. 7.9.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados y sin asentados con distintas concentraciones de aislado de soja y diferentes humedades finales.

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA AISLADO DE SOJA

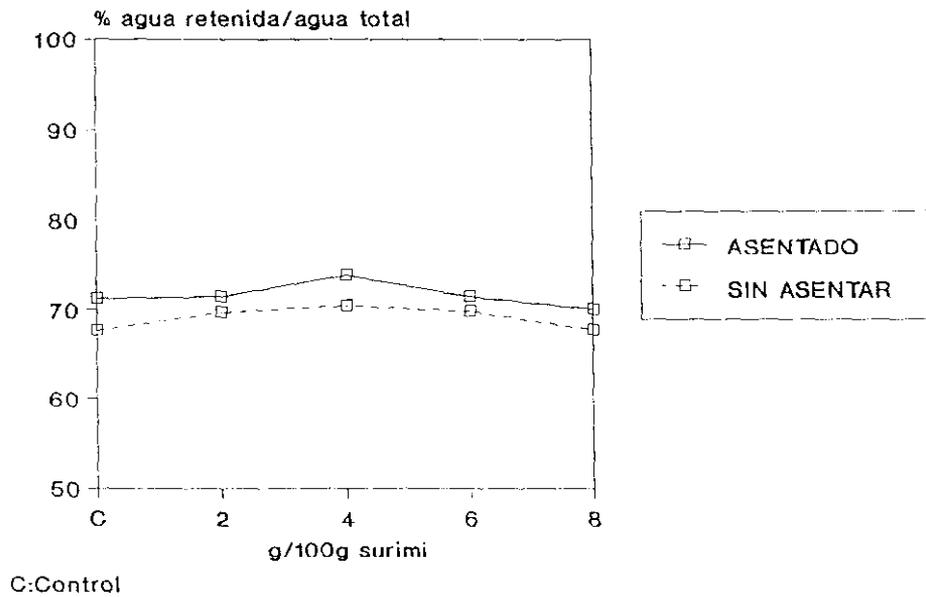


Fig. 7.10.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

significativas para el tratamiento térmico al comparar geles asentados y sin asentar entre los lotes control y con 2g de aislado de soja/100g de *surimi* (Fig 7.7, 7.8 y 7.9 y tablas 7.VII, 7.VIII y 7.IX).

Teniendo en cuenta la humedad final de los lotes control (sin aislado de soja) los valores de RG, FR y DR disminuyen en general a medida que aumenta la humedad final y de forma más acusada en los geles asentados. Los valores de TP fueron de 5 para todos los geles control. Sin embargo al añadir 2g de aislado de soja/100g de *surimi* en los geles asentados para 78 y 82% de humedad se incrementan los valores con respecto al control mientras que disminuyen con 80%. En todos los casos se encontraron diferencias significativas entre los dos tipos de geles para la variable RG. Para los lotes sin asentar únicamente a 78% de humedad se encuentran diferencias significativas para RG y FR entre los lotes control y con aislado de soja (tablas 7.VII, 7.VIII, y 7.IX).

La diferente RG para geles con aislado de soja asentados o calentados directamente también ha sido observada por otros autores (Chung y Lee, 1990). Para interpretar los resultados diferentes por tratamiento térmico hay que referirse a las temperaturas de gelificación del *surimi* y del ingrediente que se añade pero sobre todo al proceso de gelificación de la proteína predominante. Niwa y col. (1988d) encuentran mayor grado de adhesividad entre la AM y el aislado de soja a temperaturas de 80°C indicando una mejor interacción entre ambos elementos con un calentamiento directo. Sin embargo hay que tener en cuenta que la proteína predominante para nuestros geles es la AM para la que se incrementan los valores de RG con un asentamiento previo. Esto explicaría en nuestro caso la mayor diferencia de los valores de RG, FR y DR para los geles asentados con respecto a los no asentados, que va disminuyendo a medida que aumenta la concentración de ingrediente añadido por disminuir la cantidad de AM llegando incluso a no apreciarse diferencias significativas entre los geles asentados y calentados directamente con 6 y 8g/100g de *surimi* con humedades del 74,5 y 73,2%.

Cuando se fija la variable humedad final del gel el descenso de los valores de RG, FR y DR para los geles asentados se relaciona más con la disminución del porcentaje de AM al

TABLA 7.VII Análisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) a diferentes concentraciones de aislado de soja, humedad final y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 B	2 B
80	0	1 A	2 A
80	2	1 B	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 A

TABLA 7.VIII Análisis de varianza para la variable fuerza máxima a rotura (FR) a diferentes concentraciones de aislado de soja, humedad final y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 B	2 B
80	0	1 A	2 A
80	2	1 A	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 A

TABLA 7.IX Análisis de varianza para la variable deformación a rotura (DR) a diferentes concentraciones de aislado de soja, humedad final y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	2 A
78	2	1 A	2 A
80	0	1 A	2 A
80	2	1 B	2 A
82	0	1 A	2 A
82	2	1 B	2 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas por concentración de soja añadida ($p < 0,05$).

ir aumentando la concentración de aislado de soja añadido (tabla 5.IV). Chung y Lee (1990) también obtuvieron con geles con 78% de humedad final una mayor RG en los geles con 3% de aislado de soja para luego disminuir la RG en geles con 6 y 9% de aislado de soja.

En los geles sin asentar la repercusión de un menor porcentaje de AM se ve influenciada por una temperatura menos apropiada para la obtención de buenos geles de AM y más adecuada para la gelificación del aislado de soja. El primer hecho lo demuestran la menor calidad de estos geles con valores bajos de TP y el segundo la menor diferencia entre los valores obtenidos por diferentes concentraciones ya que con concentraciones elevadas la gelificación de una mayor cantidad de aislado de soja ayuda a nivelar los resultados.

Al modificar la humedad final de los geles por la incorporación del aislado de soja descenden los valores de RG y DR. El incremento de sustancia seca produce un descenso de los valores de DR indicando una menor funcionalidad de los geles. Areche y Fujii (1979) encontraron también resultados similares para *surimi* de sardina, y los valores de TP siguieron la misma pauta que los de RG lo que no ocurría en *surimi* de abadejo de Alaska en donde los valores de TP permanecieron constantes para todas las concentraciones estudiadas.

El hecho de que la variación del porcentaje de AM (parámetro que se modifica más al ajustar la humedad de los geles) incida en la FR y DR y el contenido en sustancia seca (parámetro que se modifica más al no ajustar la humedad de los geles) únicamente en la DR estaría indicando un mayor grado de funcionalidad de la AM frente a la del aislado de soja independientemente de la cantidad de agua disponible. Así mismo, el descenso lineal a partir de los geles con 2g de aislado de soja/100g de *surimi* más acusado de los valores de RG y FR en los geles en donde se incrementa la concentración de aislado de soja sin ajustar la humedad frente a los de 78% de humedad parece indicar un mayor efecto de la pérdida de funcionalidad de la AM que el posible incremento de la sustancia seca en los geles.

Los geles control con 80 y 82% de humedad obtuvieron bajos valores en textura al coincidir un menor contenido en AM con una menor densidad de malla y un elevado

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA AISLADO DE SOJA

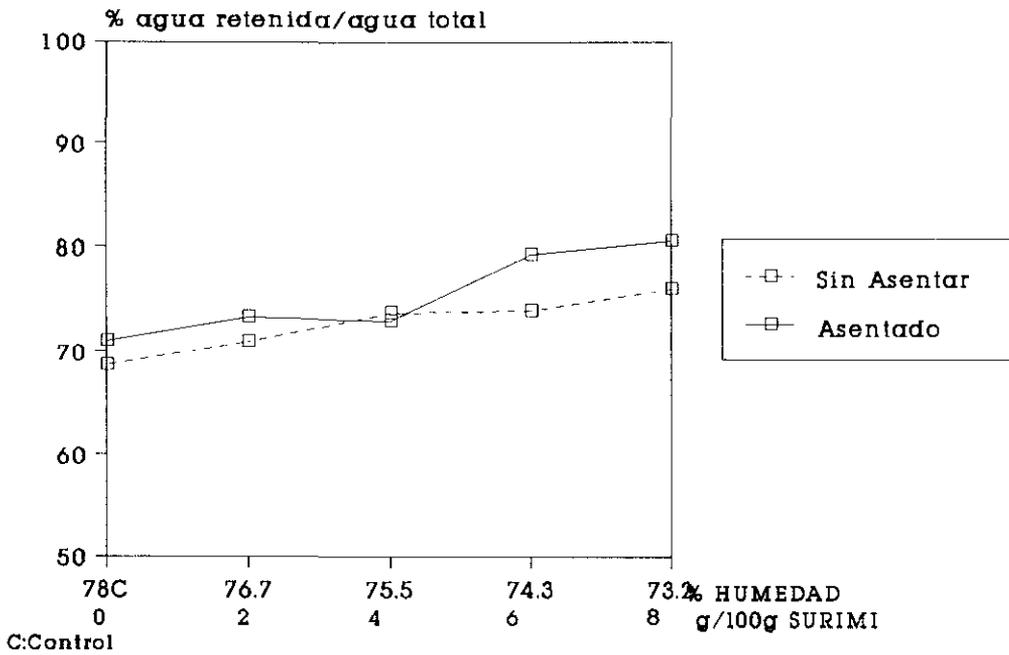


Fig. 7.11.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y distintas humedades finales.

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA AISLADO DE SOJA

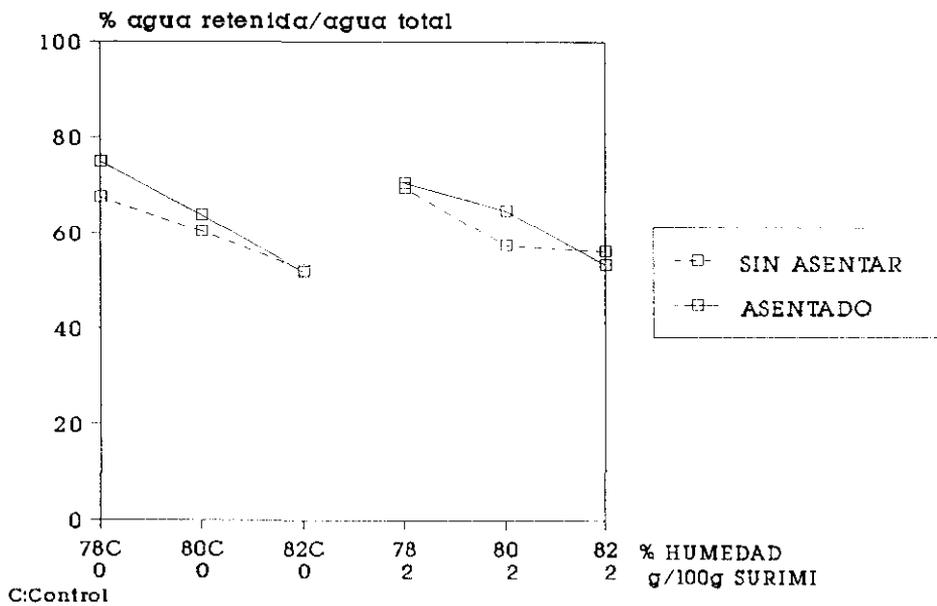


Fig. 7.12.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y distintas humedades finales.

contenido en agua y la presencia del aislado de soja apenas mejora (con 82% de humedad) o disminuye (80% de humedad) la RG.

7.3.2 Capacidad de retención de agua

Los resultados de CRA se muestran en las Figuras 7.10, 7.11 y 7.12 y las tabla 7.X, 7.XI y 7.XII. Se observa que a cualquier concentración estudiada y para los dos tratamientos térmicos los resultados fueron muy similares no encontrando apenas diferencias por tratamiento térmico, humedad y concentración de ingrediente añadido. Solo se encontraron diferencias por concentración de aislado de soja para los geles asentados sin ajuste de humedad en donde los geles tienen una mayor tendencia a retener más agua al incrementar la concentración de aislado de soja (tabla 7.XI).

En el caso de los geles con 78% de humedad el efecto del ingrediente en la RG en estas condiciones no se puede atribuir a una menor retención de agua por parte del aislado de soja, ya que cuando se añade en concentraciones crecientes a geles con 78% de humedad final no existen diferencias significativas ni por tratamiento ni por concentración de aislado de soja (tabla 7.X) lo que indicaría que el gel con aislado de soja retiene la misma cantidad de agua que el gel de AM sin aislado de soja. Resultados similares son los obtenidos por Niwa y col. (1988c) para *surimi* de abadejo de Alaska tanto para geles asentados como para los no asentados.

El incremento de la CRA en los geles con concentraciones crecientes de aislado de soja y decrecientes en humedad puede ser la responsable de que se recupere algo la RG que es mayor con 8g de aislado de soja que con 6g repercutiendo como lo hace en los valores de DR. Niwa y col. (1988d) apoyan este hecho ya que consideran que parte del efecto del aumento de RG y más concretamente en la DR de los geles con aislado de soja se debe a la capacidad de retención de agua por parte del ingrediente. Parece que el aislado de soja a esta concentración retiene agua siendo suficiente para aumentar la RG. Con 2 y 4g el aislado de soja pudiera interaccionar con la AM ocupando posibles enlaces que hubieran interaccionado con el agua o reteniéndola actuando como relleno dentro de la red de AM formada. Cuando

TABLA 7.X Análisis de varianza para la variable CRA a diferentes concentraciones de aislado de soja y diferentes tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 A
78	2	1 A	1 A
78	4	1 A	1 A
78	6	1 A	1 A
78	8	1 A	1 A

TABLA 7.XI Análisis de varianza para la variable CRA a diferentes concentraciones de aislado de soja y humedades finales y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g DE <i>SURIMI</i>	CON ASENTAMIENTO	SIN ASENTAMIENTO
78	0	1 A	1 A
76.7	2	1 AB	1 A
75.5	4	1 AB	1 A
74.5	6	1 B	1 A
73.2	8	1 B	1 A

TABLA 7.XII Análisis de varianza para la variable CRA en geles con aislado de soja a diferentes humedades y distintos tratamientos térmicos.

HUMEDAD	g/100 g de <i>surimi</i>	ASENTADOS	SIN ASENTAR
78	2	1 A	1 A
80	2	1 AB	1 A
82	2	1 B	1 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre diferentes humedades finales ($p < 0,05$).

la concentración de aislado de soja aumenta parte de este aislado de soja retendría agua sin llegar a interactuar con la AM.

En el caso de los geles asentados con diferente humedad final se aprecia una tendencia al aumento de la CRA. Otros autores (Areche y Fujii, 1979) encontraron sin embargo una disminución de la CRA a medida que incrementaban la concentración de proteínas de soja en *surimi* de sardina de un 3 a un 10% y Chung y Lee (1990) lo explican indicando que una mayor densidad de la malla hace que esta expulse mayor cantidad de agua. Esta disparidad en los resultados podría deberse a que estos autores emplean una técnica diferente ya que expresan los resultados como la cantidad de agua liberada tras ejercer una presión en la muestra y esta cantidad dependerá de la fuerza ejercida con la posible rotura de la malla formada entre otros factores (Trout, 1988).

Para los geles con 80 y 82% de humedad, La CRA de estos geles fué la más baja de todos como se observa en la figura 7.12. En los geles con 2g de aislado de soja/100g de *surimi* se aprecian diferencias significativas entre los geles con 78 y 82% de humedad y no se observaron entre los geles con 78 y 80% ni tampoco entre los geles con 80 y 82% tal y como se observa en la tabla 7.XII. Al añadir 2g de aislado de soja se incrementa la RG, FR y DR con 82% de humedad respecto al control y no con 80% lo que parece indicar un mejor efecto del ingrediente con un elevado contenido en agua.

7.3.3 Microscopía

En la Figura 7.13 se muestran las micrografías obtenidas de geles con aislado de soja.

Observando a 500X, geles asentados con 2g de aislado de soja añadido (Fig 7.13a), y con una humedad final del gel del 78%, se aprecia una morfología del gel homogénea y fibrosa en donde el aislado de soja aparece formando pequeños acúmulos en la superficie de una red bien formada. La estructura homogénea y fibrosa de los geles asentados se corresponde con unos buenos resultados en textura.

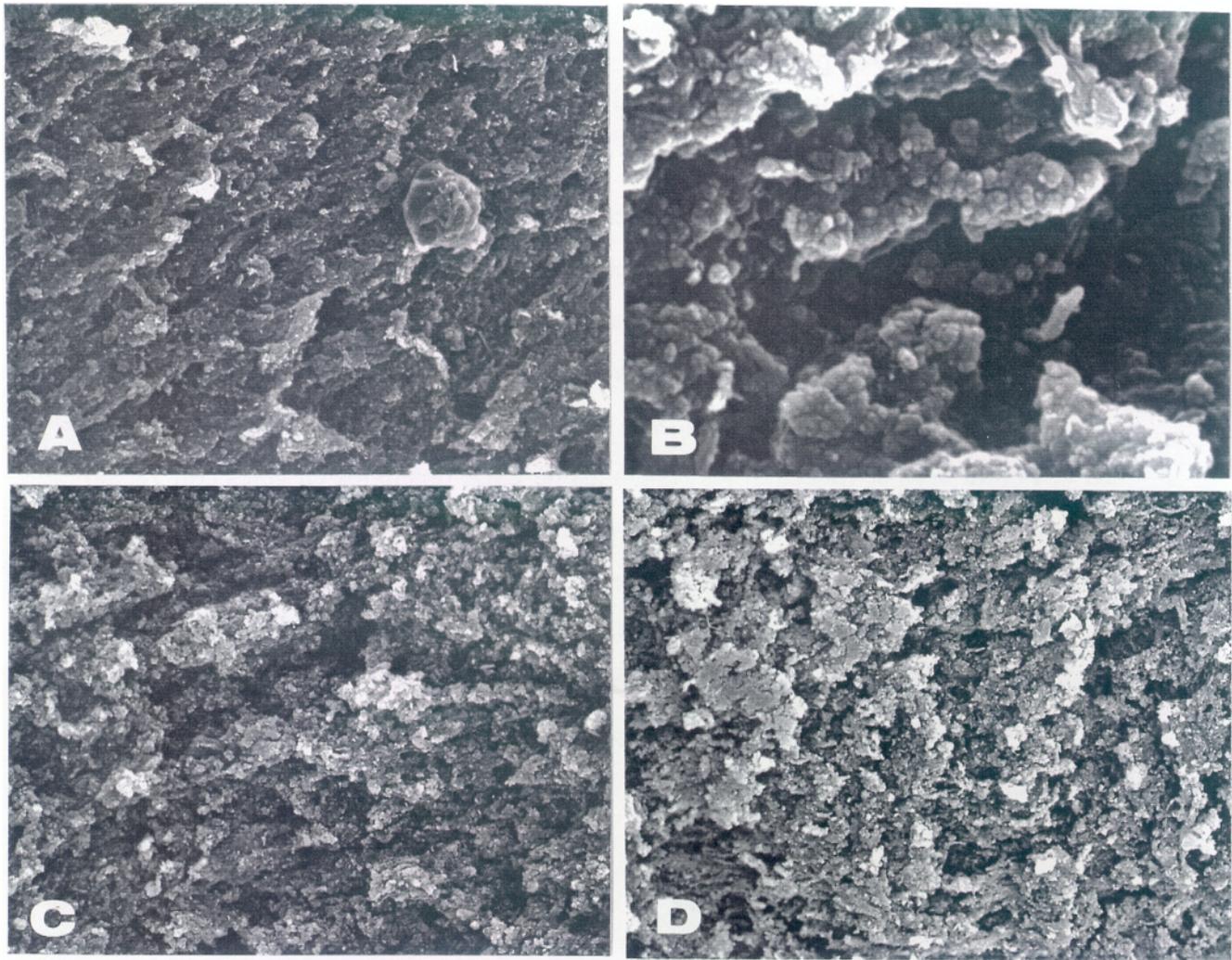


Fig 6.13 Geles de *surimi* con clara huevo. **a:** Geles de *surimi* con 2 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x500). **b:** Geles de *surimi* con 2 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x10.000). **c:** Geles de *surimi* con 8 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 78% de humedad final (x500). **d:** Geles de *surimi* con 8 g de clara de huevo/100 g de *surimi*. 73,2% de humedad final (x500)

Cuando se asienta el gel que contiene 8g de aislado de soja aparecen grandes acúmulos de aislado de soja rodeados por la red de AM (Fig 7.13b) que rompen la estructura fibrosa homogénea presente en el gel con 2g de aislado de soja. Ampliando una zona de red de AM a 6000X (Fig 7.13c) se observa una estructura fibrilar semejante a la de los geles con 2g de aislado de soja. Esta estructura se corresponde con valores más bajos de RG y de CRA frente a los controles respectivos y también frente a los geles que contenían 2g de aislado de soja. Este efecto podría deberse a una peor dispersión durante la mezcla del aislado de soja con el sol de *surimi* a elevadas concentraciones.

También se observó al microscopio a 500X (Fig 7.13d) la morfología de los geles con 73,2% de humedad que se corresponden con geles con 8g de aislado de soja añadido. Estos geles presentan una estructura compacta en donde no se diferencian claramente la AM de la proteína de soja y son geles que obtuvieron mejores resultados de RG y FR que los anteriores.

Parece por tanto que existe una diferencia por concentración de aislado de soja haciendo que actúe de distinta manera (Chung y Lee, 1990). Según Ziegler y Foegeding (1990) en los geles con aislado de soja se podría formar una estructura "compleja" en donde el aislado de soja actuaría como coingrediente asociándose directamente con el componente gelificante principal ("relleno activo") (Ring y Stainsby, 1982). Esta asociación tendría lugar por medio del establecimiento de interacciones hidrofóbicas durante el periodo de asentamiento (Niwa y col, 1988b y d; Chung y Lee, 1990). Esto podría corresponderse con lo observado en los geles de baja humedad y 8g de aislado de soja y con los de 78% de humedad y 2g de aislado de soja (Fig 7.13d y 7.13a). Pero la gelificación de ambos ingredientes pudiera también tener lugar de forma independiente y se formaría una estructura "simple" para Ziegler y Foegeding (1990) con partículas dispersas que parece se corresponde con lo observado en la micrografía 7.13b. El hecho de encontrar el aislado de soja mal disperso en los geles con 78% de humedad podría ser debido a que el aislado de soja hubiera formado grumos que no se formaron cuando la cantidad de agua fue menor.

ANÁLISIS DE COLOR AISLADO DE SOJA

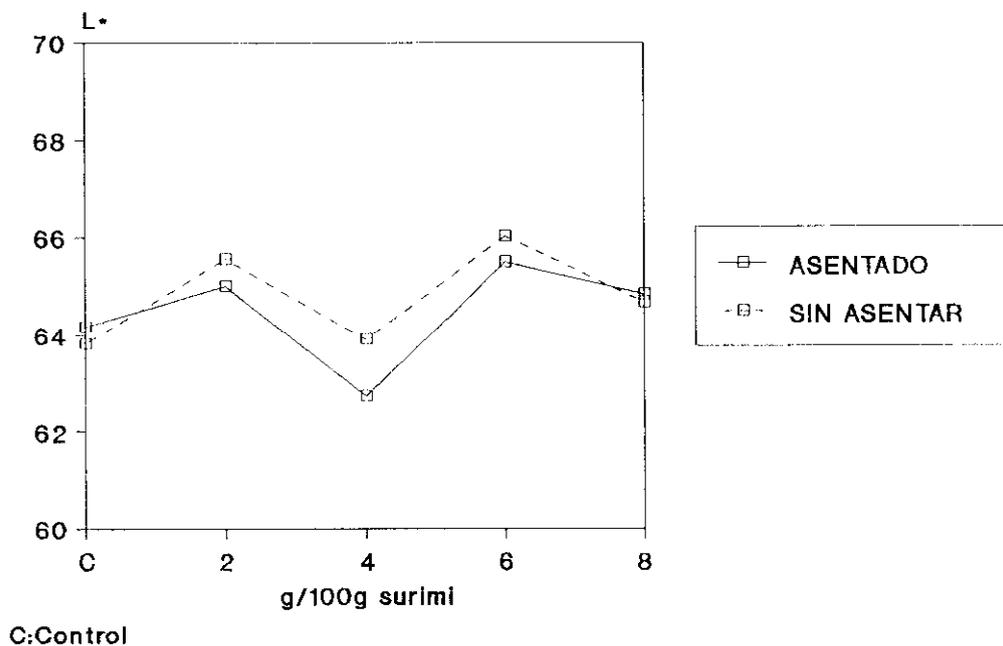


Fig. 7.14.- Análisis de color (parámetro L*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

ANÁLISIS DE COLOR AISLADO DE SOJA

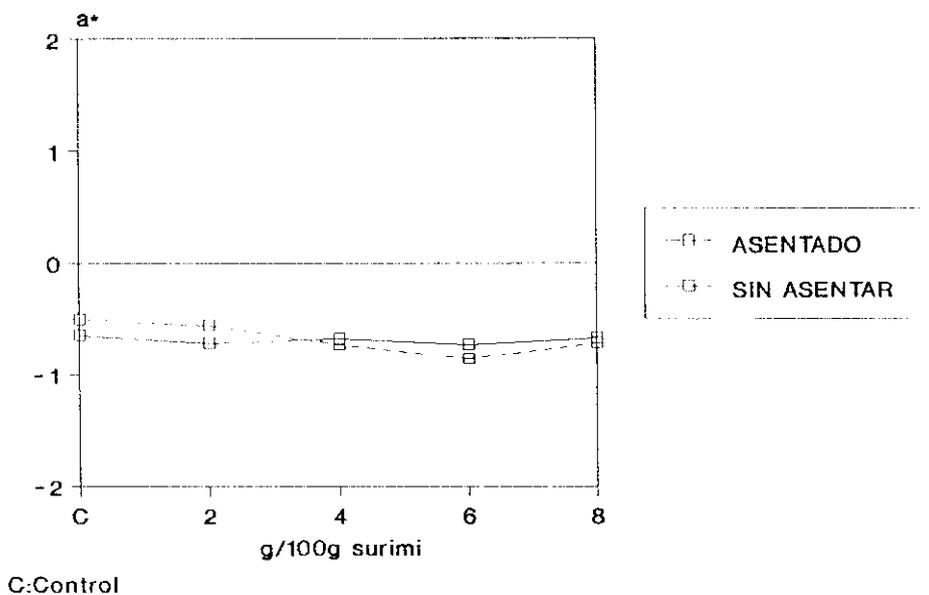


Fig. 7.15.- Análisis de color (parámetro a*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

7.3.4 Color

Los resultados de color mostrados en las Figuras 7.14 (parámetro L^*), 7.15 (parámetro a^*) y 7.16 (parámetro b^*) indican un aumento de los valores de b^* para los geles a medida que se añade mayor porcentaje de aislado de soja. Los valores de L^* y a^* permanecen más o menos constantes para todas las concentraciones estudiadas.

Areche y Fujii (1979) sin embargo encuentran que la incorporación de las proteínas de soja hace que aumente la luminosidad del producto para una concentración del 3% para permanecer invariable con concentraciones crecientes en geles elaborados a partir de *surimi* de sardina.

Teniendo en cuenta el distinto tratamiento térmico no se observan unas diferencias muy marcadas si bien para los valores de b^* los valores son superiores para los geles asentados para todas las concentraciones. El incremento de los valores de b^* se atribuye al color algo amarillo del aislado de soja utilizado.

ANÁLISIS DE COLOR AISLADO DE SOJA

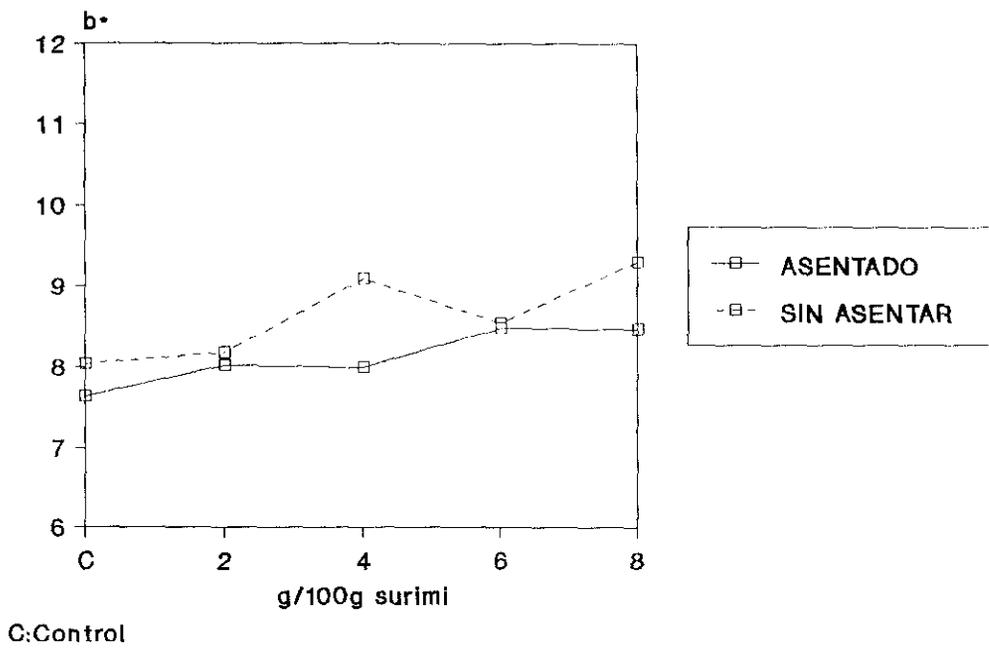


Fig. 7.16.- Análisis de color (parámetro b^*) de geles asentados y sin asentados con diferentes concentraciones de aislado de soja y 78% de humedad final.

7.4 EFECTO DE LA ADICION DE ALMIDON, ALBUMINA Y SOJA EN LA TEXTURA DE GELES DE SURIMI DE SARDINA. (CAPITULOS 5,6 Y 7)

Como ya se ha expuesto anteriormente, existen muchos parámetros que influyen en la textura final de los geles de *surimi*. La humedad final del gel (Okada, 1964; Suzuki, 1981; Hermansson, 1983), tratamiento térmico utilizado (Okada, 1985; Niwa y col, 1988d; Chung y Lee, 1990), cantidad de proteína miofibrilar (Okada, 1964), tipo y concentración del ingrediente (Suzuki, 1981; Okada, 1985; Lee y col., 1992), capacidad de interacción con la AM (Niwa y col., 1988b y d; Chung y Lee, 1990) o la calidad del *surimi* (Areche y Fujii, 1979; Okada, 1985; Roussel y Cheftel, 1988; Foegeding y Lanier, 1990) se encuentran entre los factores más importantes y han sido previamente discutidos para cada ingrediente.

Por todo ello y en vista de la disparidad de resultados encontrados en la bibliografía se diseñó el estudio sistemático en el que en igualdad de condiciones (tratamiento térmico, concentración de sal, tiempos de amasado, etc.) se intenta determinar la influencia de otros factores en los geles de *surimi* de sardina como la cantidad de proteína miofibrilar, concentración de ingrediente y humedad final del gel.

Los resultados obtenidos al añadir diferentes concentraciones de ingrediente y ajustar la humedad final al 78% son indicativos de la influencia de la concentración de AM que disminuye al incrementar la concentración del ingrediente (tabla 5.IV).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos (Fig 5.1 a 5.3, 6.1 a 6.3 y 7.1 a 7.3) si se aprecia un efecto negativo de la disminución de la cantidad de AM. Parece ser que existe una determinada concentración de AM para la cual la red formada posee unas características óptimas que reflejan una buena textura. Al ir añadiendo más cantidad de ingrediente y disminuir por tanto la concentración de AM, dependiendo del ingrediente, del tratamiento térmico y de la concentración del ingrediente el efecto es diferente. Así el ingrediente podría actuar ejerciendo un efecto positivo o negativo en la red de AM. En los geles asentados en los que la red de AM se formaría primero, el almidón empleado no ejerce un efecto positivo como reflejan los resultados obtenidos (Fig 5.1). Sin embargo la clara de huevo si bien parece

que no ejerce un efecto muy positivo como de aprecia del menor resultado obtenido con 2g con respecto al control (Fig 6.1) entre 2 y 6g parece ser que se forma una estructura de red en donde el efecto de la disminución de la AM se compensa con el efecto de la posible formación de una estructura "soporte" o de "relleno" de clara de huevo. Con el aislado de soja si se observa un efecto positivo con un óptimo a concentraciones de 2g/100g de *surimi*, disminuyendo la RG al incrementar la concentración (Fig 7.1). Este efecto positivo sería posiblemente similar al de la clara de huevo.

El efecto del calentamiento directo es similar para la clara de huevo y aislado de soja y algo diferente para el almidón. Esta similitud encontrada entre el aislado de soja y la clara de huevo para los geles sin asentar que no se aprecia en los geles asentados podría indicar que al favorecerse la creación de una red mixta por calentamiento directo el comportamiento de ambos ingredientes resultase similar mientras que en con un asentamiento previo el diferente comportamiento podría deberse a un distinto efecto de "relleno" más positivo en el caso del aislado de soja.

Para poder apreciar el efecto del incremento de la concentración del ingrediente se elaboraron geles con concentraciones crecientes de ingrediente a partir de un gel control de 78% de humedad. La humedad de estos geles con ingrediente añadido va pues disminuyendo a medida que la concentración de ingrediente aumenta (Fig 5.4 a 5.6, 6.4 a 6.6 y 7.4 a 7.6).

Los resultados indicarían un efecto negativo del incremento de la concentración en los geles. Este efecto se aprecia en los valores de DR de forma similar para los tres ingredientes. Al reflejarse este efecto fundamentalmente en los valores de DR se podría establecer la relación entre el incremento de la sustancia seca en la deformación de los geles haciendo que estos sean más friables. Se consigue sin embargo un óptimo con concentraciones de 2g de ingrediente debido a que los valores de DR se mantienen y se incrementan los de FR con respecto a los controles.

El estudio de la influencia de la humedad final para los geles de *surimi* de sardina queda reflejado en las Figuras 5.7 a 5.9, 6.7 a 6.9 y 7.7 a 7.9.

Se puede observar un efecto positivo del ingrediente cuando la humedad final es alta (80 y 82%) aunque la red de AM es muy debil debido al efecto simultaneo de la menor concentración de AM y un mayor contenido en agua.

Teniendo en cuenta los resultados al fijar la humedad final se observa un óptimo diferente para cada ingrediente. Con respecto al control son los lotes con 78% de humedad en los que se observa un incremento de los valores de RG al añadir el aislado de soja. Para la clara de huevo y el almidón este incremento se aprecia a humedades del 80%. Este hecho podría explicar el diferente comportamiento de los geles de clara de huevo y almidón con respecto al aislado de soja observado en los geles con 78% de humedad final y concentraciones crecientes de ingrediente (Fig 5.1, 6.1 y 7.1).

Capítulo 8

Capítulo 8.

EFECTO DE LOS KAPPA E IOTA CARRAGENATOS EN LOS GELES DE *SURIMI* DE SARDINA

8.1 INTRODUCCION

8.1.1 Definición

El término "carragenato" se utiliza para designar a los polisacáridos galactanos que se encuentran en la matriz intercelular de numerosas especies de algas rojas de la clase *Rhodophyta*.

El "carragenato" se obtiene del "Carragheen Moss" (*Chondrus crispus*), alga que recibe su nombre del condado de Carragheen en Irlanda que es la fuente más importante de los carragenatos. Sin embargo existen otras algas rojas que constituyen también la materia prima para la obtención de los carragenatos (Stanley 1990).

La Comunidad Económica Europea y las especificaciones de la FAO/OMS enumeran cinco familias diferentes de algas rojas que se pueden utilizar para la extracción de carragenatos. Se encuentran distribuidas por las costas del Atlántico norte aunque actualmente se cultiva con el fin de satisfacer la demanda actual del producto.

8.1.2 Estructura

La unidad que se repite en los carragenatos es un disacárido. Se puede decir que los carragenatos tienen una estructura A-B-A (polímeros sulfatados de unidades de D-galactosa enlazadas alternando enlaces alfa (α)(1-3)(A) y beta (β)(1-4)(B)).

La diferencia entre las fracciones de carragenatos se debe al número y posición de los grupos sulfato y de la posible presencia de grupos 3,6 anhidro unidos en posiciones 1 y 4. Se diferencian así cinco fracciones: iota (ι), kappa (κ), lambda (λ), mu (μ) y nu (ν). Solo los iota y kappa carragenatos poseen capacidad gelificante y entre ellos se diferencian en su estructura química por tener el iota carragenato un grupo sulfato adicional. La misma diferencia se observa entre los mu y nu. La estructura de los kappa e iota carragenatos es tal que los segmentos de dos moléculas pueden formar una doble hélice que enlaza las cadenas moleculares en una red tridimensional. La presencia de fracciones mu y nu interrumpen la regularidad de la cadena produciéndose los pliegues (Sanofi, 1987). Para incrementar el efecto gelificante se extraen los carragenatos en medio alcalino eliminando los grupos sulfato de las fracciones Mu y Nu que se transforman en fracciones kappa e iota. Por ello a los Mu y Nu se les denomina "precursores" de las fracciones iota y kappa (Sanofi, 1987; Stanley, 1990). En el caso de los lambda carragenatos no se puede formar la hélice por la conformación de los residuos de galactosa. Esto, junto con un destacable carácter aniónico con fuertes repulsiones de carácter electrostático hacen que el lambda carragenato no forme gel.

8.1.3 Propiedades químicas y físicas

Las propiedades químicas y físicas varían de acuerdo con su estructura. Así, cuanto más altamente sulfatados están los carragenatos son más hidrofílicos y en consecuencia más solubles en agua. Por fracciones podemos decir que los lambda con tres grupos sulfato, son solubles en agua fría. Los kappa y los iota en el otro extremo requieren calor (40-70°C) para su disolución.

En cuanto a la concentración, a medida que esta aumenta, la viscosidad se incrementa debido al mayor número de interacciones entre los polímeros.

Los carragenatos tienen un carácter fuertemente aniónico por la presencia de los grupos sulfato y reaccionan fácilmente con cationes. De esta manera se elaboran como sales de calcio, potasio, sodio o combinadas. El ácido del carragenato no se puede producir ya que el carragenato se hidroliza a pH bajos. En solución, la estabilidad máxima del carragenato se encuentra a pH 9. Normalmente se recomienda no utilizarlo al pH inferiores a 3,5.

8.1.4 Formación del gel

Los carragenatos iota y kappa son agentes gelificantes termoreversibles que requieren la presencia de iones para gelificar. La temperatura de gelificación oscila entre los 40 y 50°C.

Es necesario un tratamiento térmico para que se produzca su solubilización. Las macromoléculas se agregan espontáneamente durante el enfriamiento posterior creándose los enlaces necesarios para la gelificación. Parece ser que la alternancia de residuos $^4C_1-^1C_4$ permite a las macromoléculas reordenarse formándose cadenas interrumpidas por pliegues (entrecruzamientos). Estos pliegues permiten la formación de hélices por asociación con otras cadenas. En los iota y kappa carragenatos los grupos sulfato se localizan en la superficie de la hélice. Así las cadenas se pueden agregar por su parte interna y formar dobles hélices.

8.1.4.1 kappa carragenato

La formación de la red dependerá del catión utilizado y de la concentración de iones utilizada. En los niveles empleados en la práctica, limitados por consideraciones sensoriales, a mayor concentración de iones mayor fuerza de gelificación.

En los kappa carragenatos el ion potasio tiene un efecto neutralizante en los grupos sulfato. Estos grupos sulfato impiden una correcta gelificación y al ser neutralizados,

favorecen la interacción entre las hélices y la consiguiente formación de la red. Se forman de este modo geles opacos, duros que eliminan agua por sinéresis. El ión potasio produce geles con sabores extraños.

La presencia de iones sodio modifica la gelificación reduciendo su capacidad gelificante. Esto ocurre ya que debido al mayor tamaño del ion, que impide su entrada en la red no se produce el mismo efecto que con el potasio. En productos que contienen cloruro sódico es posible sustituir hasta un 0.5% del cloruro sódico por cloruro potásico sin perjudicar el sabor del producto. Esto tiene especial interés a la hora de utilizar el carragenato en productos alimenticios en donde el cloruro sódico se utiliza como ingrediente.

También se pueden formar geles con calcio. El catión calcio favorece las interacciones intermoleculares al enlazar grupos sulfato de diferentes hélices. Añadido en pequeñas cantidades aumenta la fuerza del gel pero los geles son más quebradizos.

8.1.4.2 Iota carragenato

La red del Iota carragenato está formada por una serie de hélices dobles y pliegues dando lugar a una estructura elástica y transparente.

La sal más utilizada y más ampliamente estudiada es el cloruro potásico por dar los geles más firmes, elásticos, cohesivos y transparentes aunque en el caso del Iota carragenato este gelifica mejor con iones calcio para formar un gel muy elástico y cohesivo totalmente transparente y exento de sinéresis. Interacciona bien con el agua y puede gelificar bien con concentraciones elevadas de ion sodio.

Los Iota carragenatos son estables a la congelación y descongelación por lo que se utiliza selectivamente en alimentos congelados.

8.1.5 Aplicación de los carragenatos en alimentos

Se emplean por su efecto estabilizante evitando la separación de fases (Sharma, 1981), como agente gelificante y como agente espesante (Stanley 1990; Sharma 1981).

Además de la aplicación para alimentación animal se utiliza mucho en alimentación humana sobre todo en la industria láctea y cárnica. En esta última para la elaboración de análogos, material para embutir, ligante en hamburguesas, como ingrediente funcional para la elaboración de análogos de carne (Ledward 1990), en masas cárnicas como sustitutivo de grasa por carragenatos sin variar la textura del producto (Barbut y Mittal, 1989b; Foegeding y Ramsey, 1986 y 1987).

En la industria láctea tiene múltiples aplicaciones; así se utiliza como estabilizante en espumas (merengues), batidos fríos, leche evaporada, alimentos infantiles; como agente gelificante y espesante en flanes, rellenos de pastelería, quesos etc. (Stanley 1990 y FMC)

Otras aplicaciones fuera del campo de la alimentación son en pastas de dientes y cremas (FMC)

En pescado hay un estudio de Da Ponte y col. (1986) acerca del efecto de los iota y kappa carragenatos para disminuir la producción de dimetilamina y formaldehído en merlán (*Merlangius merlangus*).

8.1.6 Utilización de carragenatos en *surimi* y productos alimenticios derivados del *surimi*

Existen estudios sobre el efecto de los carragenatos en las propiedades gelificantes del *surimi*, en la estabilidad de estos geles durante su almacenamiento en congelación y su posterior descongelación así como la influencia de diferentes sales para la fabricación de los geles mixtos de *surimi* y carragenatos (Llanto y col., 1990; Bullens y col., 1990).

Para algunos autores de entre los tipos de carragenatos los iota son los que poseen mejores propiedades para su utilización tanto en surimi como en derivados del surimi (Llanto y col., 1990; Bullens y col., 1990). Estos resultados confirman los obtenidos en músculo picado de Da Ponte y col (1985) que encuentran que el iota carragenato mejora la capacidad de retención de agua y la estabilidad en el producto congelado frente al kappa carragenato. También el iota carragenato posee un efecto crioprotector reduciendo los niveles de sacarosa añadidos de un 4% a un 2% con la adición de un 0.5% de carragenato. Su efecto en la estabilidad durante el almacenamiento en congelación se produce porque los geles presentan el mismo tamaño de cristales de hielo iniciales dando lugar a una textura más firme y suave con una distribución uniforme del agua (Bullens y col. 1990). En geles elaborados a partir de surimi algunos autores consideran que el iota es el carragenato de elección ya que se presenta como el más funcional de todos, aumentando la fuerza del gel, la capacidad de retención de agua, la estabilidad durante su almacenamiento en congelación y estabiliza las propiedades sensoriales durante su almacenamiento (Llanto y col., 1990; Bullens y col., 1990).

Otros autores sin embargo encuentran que el kappa carragenato tiene un mejor efecto en la RG. Nakayama y col. (1988b) estudian el efecto del kappa e iota carragenato en geles de surimi de sardina y observaron un marcado aumento en la FR y un leve incremento en la DR para los geles con kappa carragenatos mientras que con iota carragenatos los valores de FR aumentaron de forma moderada y los de DR no se modifican. Niwa y col. (1988b y c) observan un aumento de la RG en geles de surimi de abadejo de Alaska con diferentes concentraciones de kappa carragenato y al igual que Nakayama y col. (1988b) encuentra un incremento mayor de la FR frente a la DR que va disminuyendo cuando la concentración es superior al 4%.

En cuanto al estudio acerca del mecanismo de acción del carragenato cuando este se incorpora a un sistema proteico como es la AM hay que señalar la doble posibilidad del carragenato de interaccionar con la proteína o bien de actuar como relleno de la red proteica gelificando o reteniendo agua.

Modliszewski (1983) haciendo referencia a la primera posibilidad señala que una propiedad importante de los carragenatos es la capacidad que estos poseen para formar complejos con proteínas dando lugar a un sistema proteico estable. Esta interacción proteína-carragenato se basa en dos mecanismos:

1- atracción electrostática entre grupos amino de las proteínas (carga +) y los grupos sulfato de los carragenatos (carga -)

2- formación de puentes por medio de cationes divalentes entre los grupos ester sulfato de los carragenatos y los grupos carboxyl de las proteínas.

Por otra parte, la capacidad de retener agua del carragenato en un sistema mixto surimi-carragenato ha sido observada por Niwa y col. (1988b y d).

8.2 MATERIALES Y METODOS

8.2.1 Diseño del experimento

Los resultados obtenidos por los distintos autores varían mucho en función de las condiciones de trabajo. Dependiendo de la especie utilizada, tratamiento térmico además de otras muchas condiciones se observaban resultados diferentes e incluso algo contradictorios. Se pretende con este estudio ver el efecto de los kappa e iota carragenatos en los geles elaborados con surimi de sardina bajo idénticas condiciones de humedad final, fuerza iónica, temperaturas y tiempos de calentamiento entre otras. Ya que la temperatura de gelificación de los carragenatos oscila entre los 40 y 50°C se estudiará el efecto de distintos tiempos de asentamiento a una temperatura próxima a la de gelificación del carragenato y óptima para la gelificación de la AM (35°C).

8.2.2 Elaboración de los geles con kappa e iota carragenatos

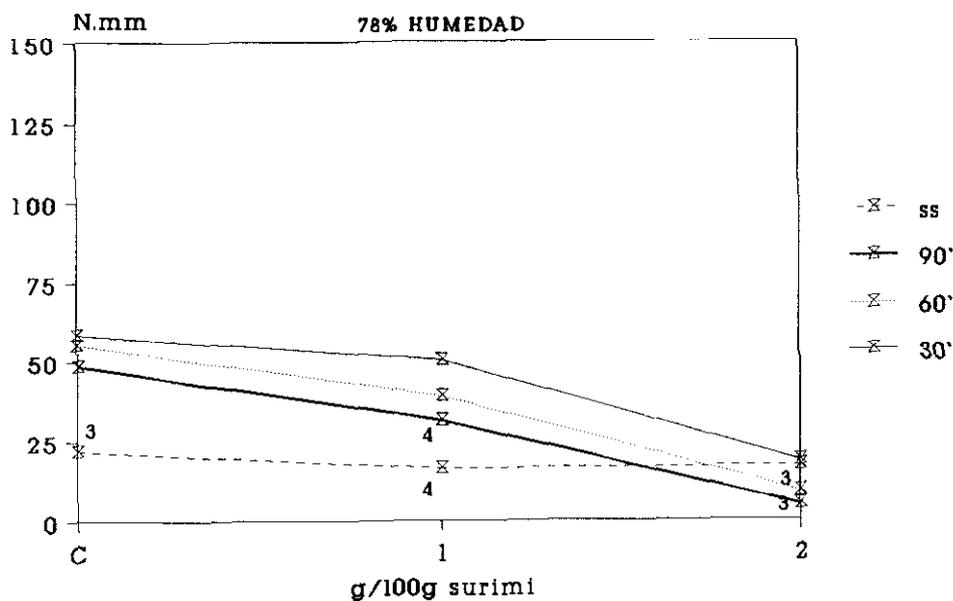
Los geles se elaboraron siguiendo el protocolo general expuesto en el apartado (2.2.2. del capítulo 2). Las concentraciones de carragenato añadidas al sol de AM fueron de 1 y 2g de ingrediente/100 g de surimi. La mezcla se realizó en condiciones de vacío durante 2 minutos hasta conseguir una correcta mezcla del ingrediente con el resto de los componentes. La humedad de todos los geles se ajustó al 78% por ser la humedad uno de los factores que más influyen en la textura final de los geles.

El tratamiento térmico aplicado fue de una temperatura de asentamiento de 35°C durante 30, 60 o 90 minutos para los iota carragenatos y de 30 o 60 minutos para los kappa carragenatos. Después se calentaron a 90°C durante 30 minutos. Un lote de geles elaborados con iota carragenatos se sometió directamente a tratamiento de 90°C durante 30 minutos sin asentamiento previo. Al obtenerse valores bajos de RG sin un asentamiento previo y con tiempos de 90 minutos de asentamiento, estos tratamientos térmicos no se aplicaron al utilizar el kappa carragenato.

El iota carragenato Gelcarin seleccionado para la elaboración de los geles es específico para su utilización en productos derivados del surimi y contiene además carbonato potásico, carbonato sódico y sulfato cálcico. Su número de identificación según la normativa comunitaria es el E407.

El kappa carragenato Secogel "E" elegido contiene sales de calcio y potasio en la fórmula y entre las aplicaciones se incluyen los geles de pescado.

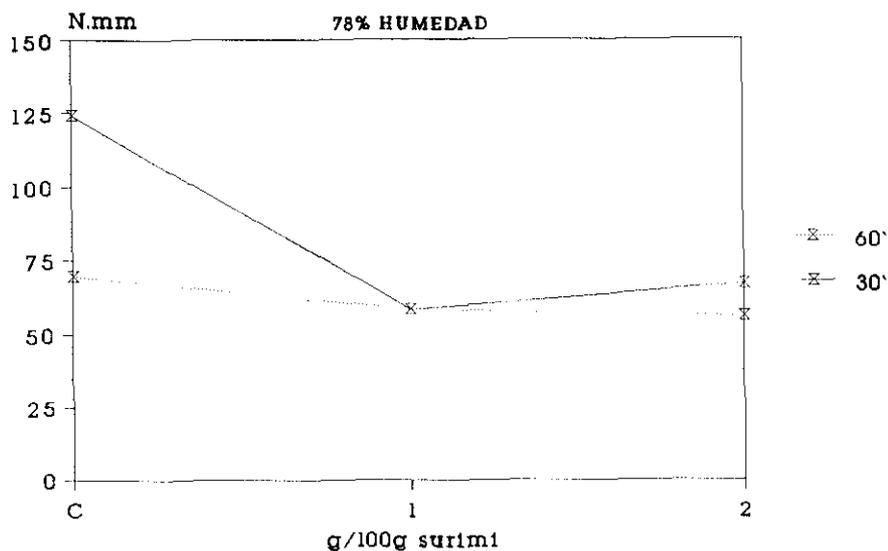
RESISTENCIA DEL GEL IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentat

Fig. 8.1.- Resistencia (N.mm) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentat con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final. Los números que aparecen en el interior de la figura corresponden a la prueba de plegado; sólo se indican los valores inferiores al máximo.

RESISTENCIA DEL GEL KAPPA CARRAGENATO



asentados a 35 C

Fig. 8.2.- Resistencia (N.mm) de geles asentados a diferentes tiempos, con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final. La prueba de plegado fué máxima en todos los geles.

8.3 RESULTADOS Y DISCUSION

8.3.1 Textura

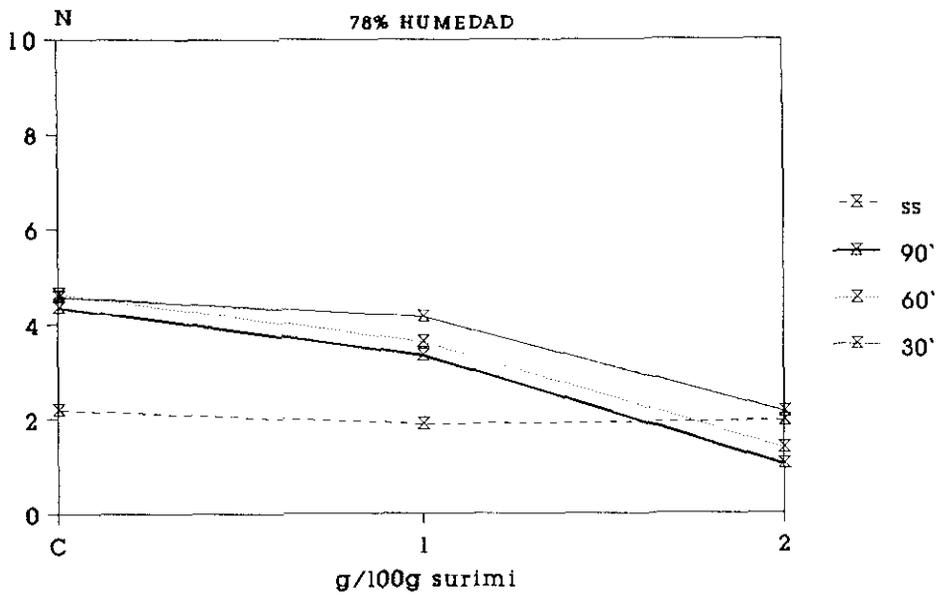
La incorporación del iota y kappa carragenato a las masas de surimi, en ningún caso mejora la RG, siendo los lotes control los que presentan valores más altos de RG para los diferentes tratamientos térmicos estudiados (Fig 8.1 y 8.2).

En los geles con iota carragenatos (Fig 8.1) la RG disminuye a medida que aumenta la concentración del carragenato a excepción del lote sin asentar en donde no existen variaciones. La misma tendencia se observa para los valores de FR y DR (Fig 8.3 y 8.4). El comportamiento de los diferentes lotes con respecto al tratamiento térmico sigue la misma tendencia que para los controles cuando la concentración de carragenato añadida es de 1g/100 g de surimi, es decir, entre los lotes con asentamiento la RG disminuye a medida que se aumenta el tiempo de asentamiento (tabla 8.I) y la RG del gel es siempre menor cuando los geles no tienen un asentamiento previo, siendo este lote significativamente distinto al resto de los lotes en el caso de los lotes control y con 1g de carragenato (tabla 8.I). Cuando la concentración añadida es de 2g/100g de surimi no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos térmicos. Para el lote sin asentar no se observaron diferencias significativas en función de la concentración de carragenato siendo la calidad de todos estos geles muy baja (tabla 8.I).

En cuanto al TP los valores son inferiores a 5 para todos los geles sin asentar y en algunos asentados dependiendo del tiempo de asentamiento (Fig 8.1).

Resultados similares con disminución de los valores de RG son obtenidos por Da Ponte y col. (1987) en músculo de bacalao picado al que añaden iota carragenato y distintos a los obtenidos por Llanto y col. (1990) y Bullens y col. (1990), si bien estos autores utilizan el iota carragenato junto con almidón, lo que hay que tener en cuenta ya que existe un efecto sinérgico del carragenato con el almidón.

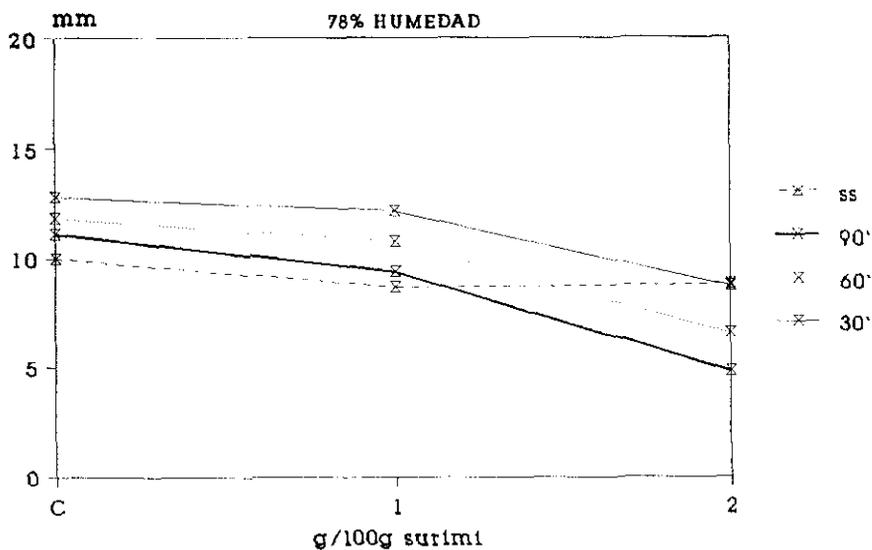
FUERZA MAXIMA A ROTURA IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentar

Fig. 8.3.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentar con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

DEFORMACION A ROTURA IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentar

Fig. 8.4.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentar con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

FUERZA MAXIMA A ROTURA KAPPA CARRAGENATO

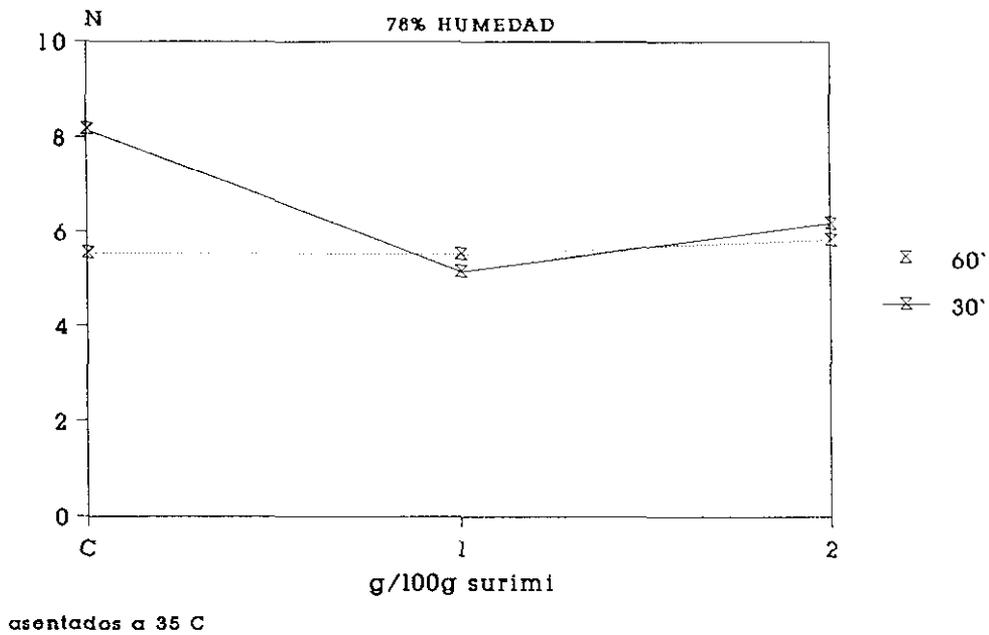


Fig. 8.5.- Fuerza máxima a rotura (N) de geles asentados a diferentes tiempos, con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

DEFORMACION A ROTURA KAPPA CARRAGENATO

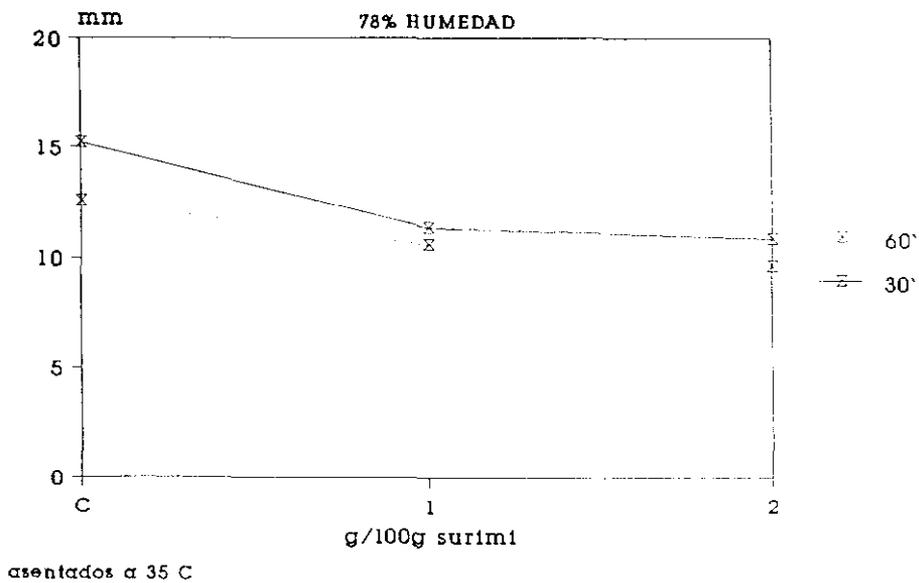


Fig. 8.6.- Deformación a rotura (mm) de geles asentados a diferentes tiempos, con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

TABLA 8.I. Analisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) de los geles con iota carragenato y las variables tratamiento térmico y concentración de ingrediente

	SIN INGREDIENTES	1g/100g de INGREDIENTE	2g/100g de INGREDIENTE
35°C 30' + 90°C 30'	1A	1A	2A
35°C 60' + 90°C 30'	1A	2AB	3A
35°C 90' + 90°C 30'	1A	2B	3A
90° 30'	1B	1C	1A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes concentraciones de carragenato ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre distintos tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

TABLA 8.II Analisis de varianza para la variable resistencia del gel (RG) de los geles con kappa carragenatos y las variables tratamiento térmico y concentración de ingrediente.

g/100g de SURIMI	TRATAMIENTO TERMICO	
	ASENTADOS 35°C 30 minutos	ASENTADOS 35°C 60 minutos
C	1 A	2 A
1	1 B	1 A
2	1 B	1 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre distintas concentraciones de carragenatos ($p < 0,05$).

La menor RG por concentración de carragenato pudiera atribuirse a la disminución de la concentración de AM al añadir el ingrediente.

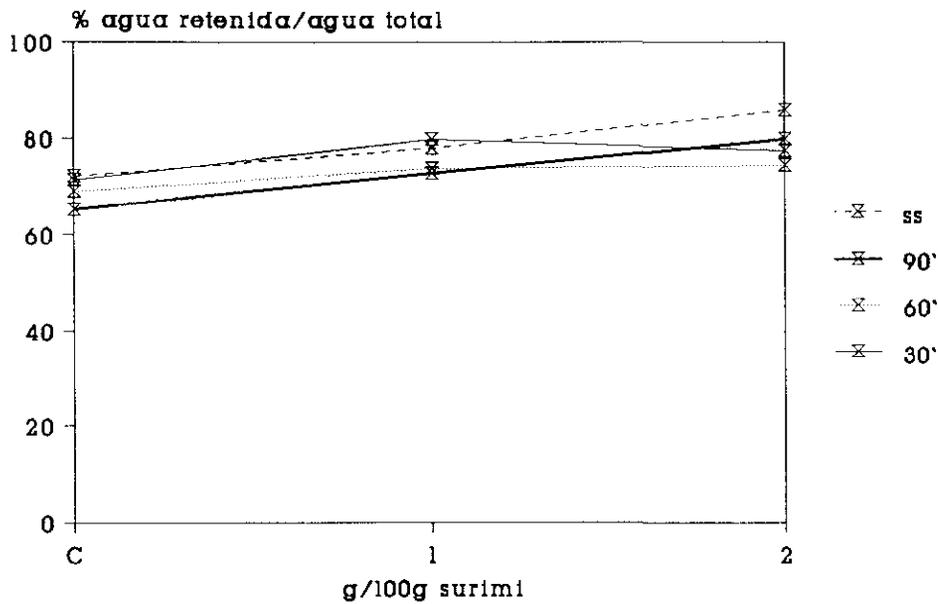
El kappa carragenato con respecto al iota carragenato, muestra valores ligeramente más altos de RG, FR y DR (Fig 8.2, 8.5 y 8.7) para las dos concentraciones estudiadas si bien los controles del kappa carragenato fueron superiores a los del iota carragenato. Los lotes control obtuvieron resultados muy diferentes según el tratamiento térmico empleado con valores de RG, FR y DR más altos para los geles asentados durante 30 minutos. No se observan diferencias por tratamiento térmico en los lotes con kappa carragenatos (Fig 8.2, 8.5 y 8.6 y tabla 8.II).

En músculo picado de sardina Nakayama y col. (1988b) obtienen mejores geles con kappa carragenatos que con iota aunque los valores de RG disminuyen cuando aumentan la concentración sobre todo debido a una disminución de los valores de DR aunque en su caso se podría atribuir a la diferente humedad de los geles que disminuye a medida que aumenta la concentración del ingrediente. Niwa y col. (1988c) obtienen resultados similares a los nuestros ajustando la humedad de los geles. Llanto y col. (1990) comparan el efecto del iota y kappa carragenatos en geles elaborados junto con almidón y encuentran un efecto positivo en la RG únicamente cuando utilizan iota carragenato. Esto podría deberse al efecto sinérgico con el almidón más acusado en el caso del iota carragenato.

8.3.2 Capacidad de retención de agua

En cuanto a la capacidad de retención de agua de los iota carragenatos (Fig 8.7), esta aumenta al añadir el ingrediente mostrando diferencias significativas en los geles asentados con respecto al lote control para todos los tratamientos térmicos de asentamiento exceptuando los 60 minutos de asentamiento. Para los lotes sin asentamiento el lote que aparece significativamente distinto es el que contiene 2g/100g de *surimi* con respecto al control y al lote con 1g/100g de *surimi* (tabla 8.III). Este incremento de la CRA no se corresponde con incrementos de los valores de textura. Sin embargo otros autores consideran que un posible efecto positivo en la textura podría deberse a la CRA (Niwa y col., 1988b).

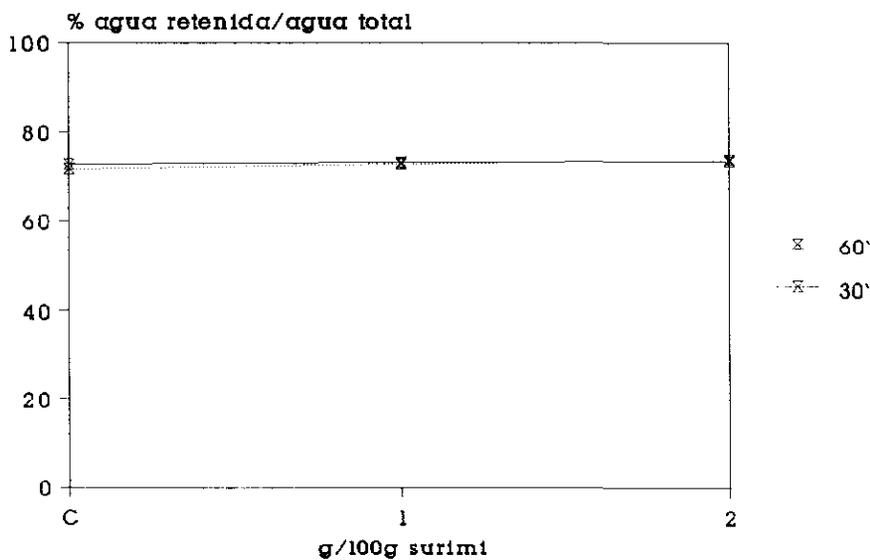
CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentar

Fig. 8.7.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentar, con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA KAPPA CARRAGENATO



asentados a 35 C

Fig. 8.8.- Capacidad de retención de agua (% agua retenida/agua total) de geles asentados a diferentes tiempos, con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

TABLA 8.III Análisis de varianza para la variable CRA de los geles con iota carragenatos y las variables concentración de ingrediente y tratamiento térmico

g/100g DE SURIMI	TRATAMIENTO TERMICO			
	SIN ASENTAR	ASENTADOS		
		35° 30'	35° 60'	35° 90'
C	1 A	2 A	2 A	2 A
1	1 A	2 B	1 A	1 B
2	1 B	2 B	2 A	2 B

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre distintas concentraciones de carragenatos ($p < 0,05$).

TABLA 8.IV Análisis de varianza para la variable CRA de los geles con kappa carragenatos y las variables concentración de ingrediente y tratamiento térmico

g/100g de SURIMI	TRATAMIENTO TERMICO	
	ASENTADOS 35°C 30 minutos	ASENTADOS 35°C 60 minutos
C	1 A	1 A
1	1 A	1 A
2	1 A	1 A

Los números distintos en la misma fila indican diferencias significativas entre diferentes tratamientos térmicos ($p < 0,05$).

Las letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre distintas concentraciones de carragenatos ($p < 0,05$).

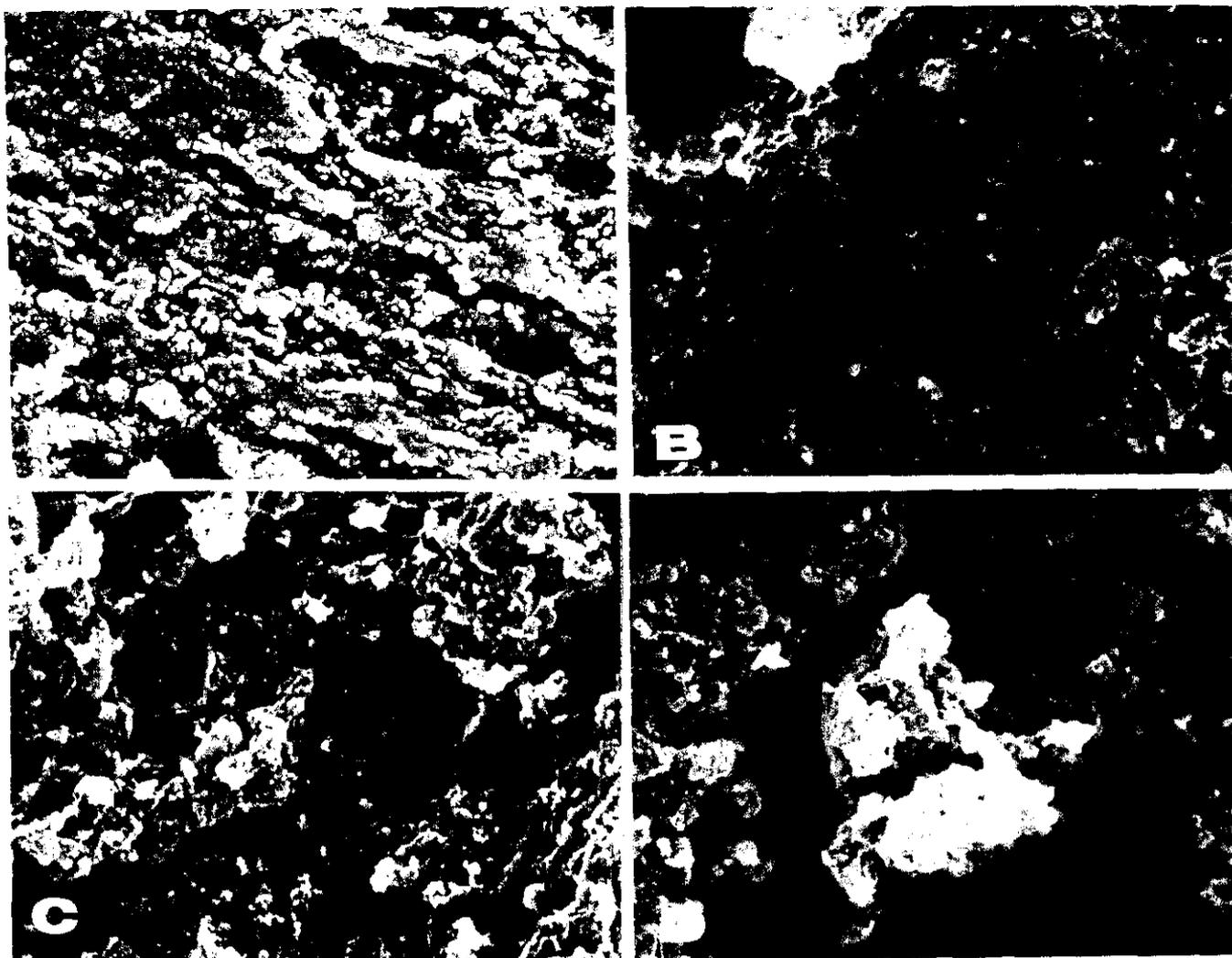


Fig 8.9 Geles de *surimi* con iota carragenato. a: Geles control de *surimi* sin carragenato (x6.000). b: Geles de *surimi* con 1 gramo de carragenato/100 g de *surimi* calentados directamente (x5000). c: Geles de *surimi* con 1 gramo de carragenato/100 g de *surimi* asentados durante 30 minutos(x5000). d: Geles de *surimi* con 1 gramo de carragenato/100 g de *surimi* asentados durante 90 minutos (x5000)

Los valores de CRA de los kappa carragenatos (Fig 8.8) no muestran diferencias significativas ni por el tratamiento térmico ni por la concentración de ingrediente siendo iguales al control (tabla 8.IV).

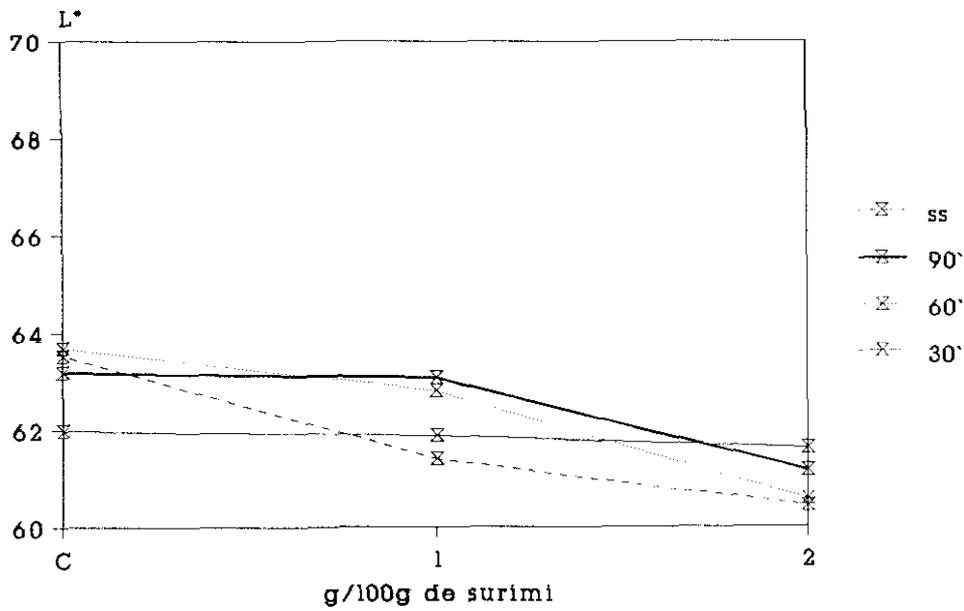
8.3.3 Microscopía

La observación microscópica de los iota carragenatos al añadir 1g/100g de surimi se muestra en la fig 8.9. La estructura del gel es diferente según el tratamiento térmico. En el lote control (Fig 8.9a) se muestra una estructura de red de AM ordenada. Al añadir el carragenato y calentar directamente el gel sin un asentamiento previo la red de AM ya no se presenta ordenada y si se observa una red formada por el carragenato (Fig 8.9b). Al asentar el gel durante 30 minutos (Fig 8.9c) se observan dos redes superpuestas que se corresponden con la red de AM y del carragenato estableciendo esta última mediante una estructura fibrosa uniones con la red de AM. Con 90 minutos de asentamiento desaparece la estructura de red definida (Fig 8.9d) y se corresponde con una baja calidad del gel como indican los bajos resultados de TP (Fig 8.1). La red de carragenato observada al calentar los geles directamente podría servir de soporte a una red debil de AM y ser por tanto la responsable de la estabilidad de los valores de RG y CRA obsevada en los geles con carragenato (Fig 8.1 y 8.7).

8.3.4 Color

En las Fig 8.10, 8.11 y 8.12 se muestran los resultados del análisis de color de los geles con iota carragenato. Teniendo en cuenta la diferente concentración de carragenato se aprecia una disminución de los valores de L^* y un ligero incremento del parámetro b^* en los geles con 1 y 2g de carragenato/100g de *surimi* con respecto al control (Fig 8.10 y 8.12) indicando que el carragenato aporta al producto un tono amarillento repercutiendo en el parámetro L^* . En el parámetro L^* también se encontraron diferencias por tratamiento térmico según la concentración empleada. Los geles que fueron asentados durante 30 minutos mostraron valores de L^* diferentes para el lote control con respecto al resto de los controles y no se modificaron una vez que se incorporó el carragenato para ninguna de las concentraciones estudiadas.

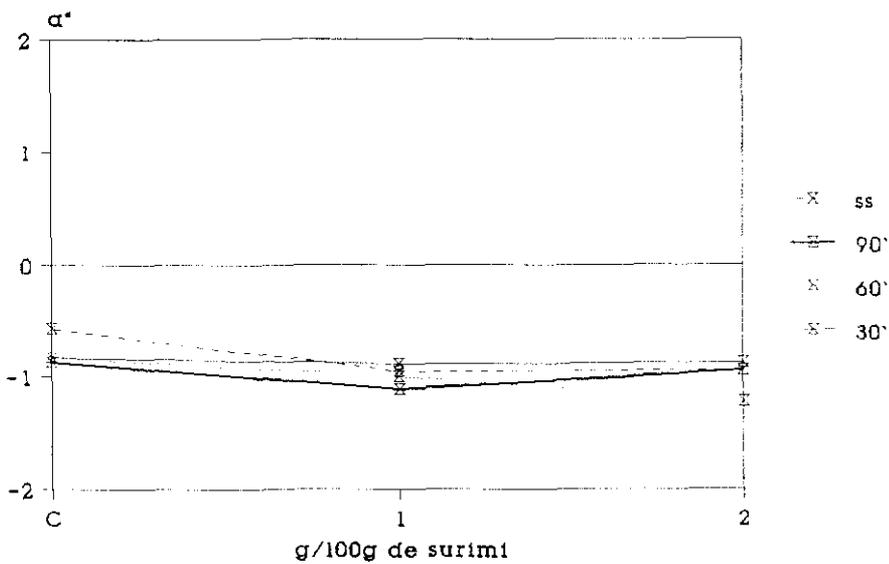
ANALISIS DE COLOR IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentat

Fig. 8.10.- Análisis de color (parámetro L*) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentat con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

ANALISIS DE COLOR IOTA CARRAGENATO



asentados a 35 C ss:sin asentat

Fig. 8.11.- Análisis de color (parámetro a*) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentat con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

ANALISIS DE COLOR IOTA CARRAGENATO

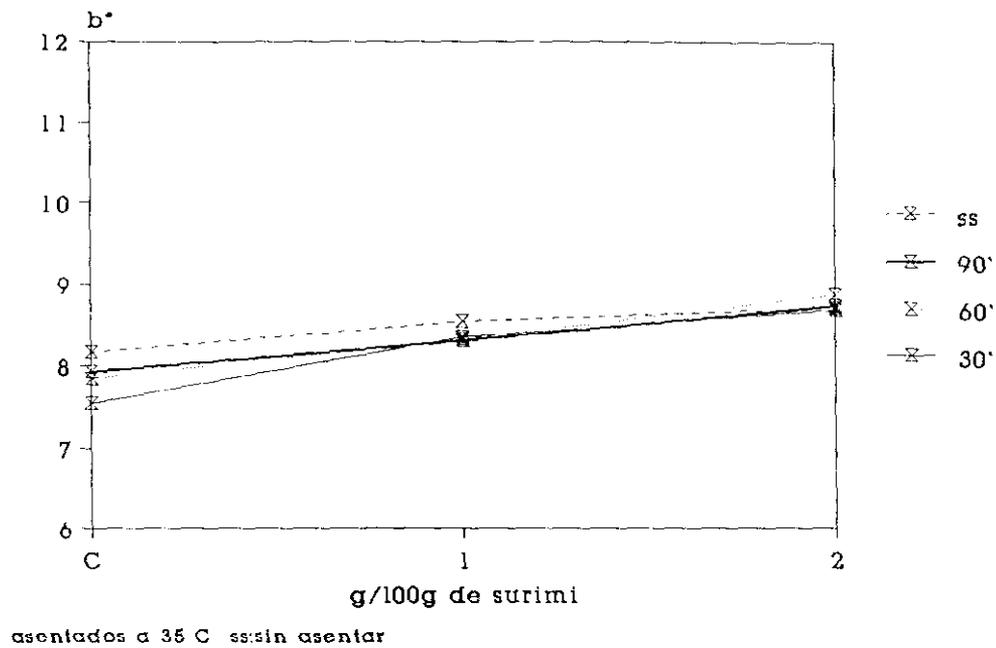


Fig. 8.12.- Análisis de color (parámetro b^*) de geles asentados a diferentes tiempos y sin asentar con distintas concentraciones de iota carragenato y 78% de humedad final

ANALISIS DE COLOR KAPPA CARRAGENATO

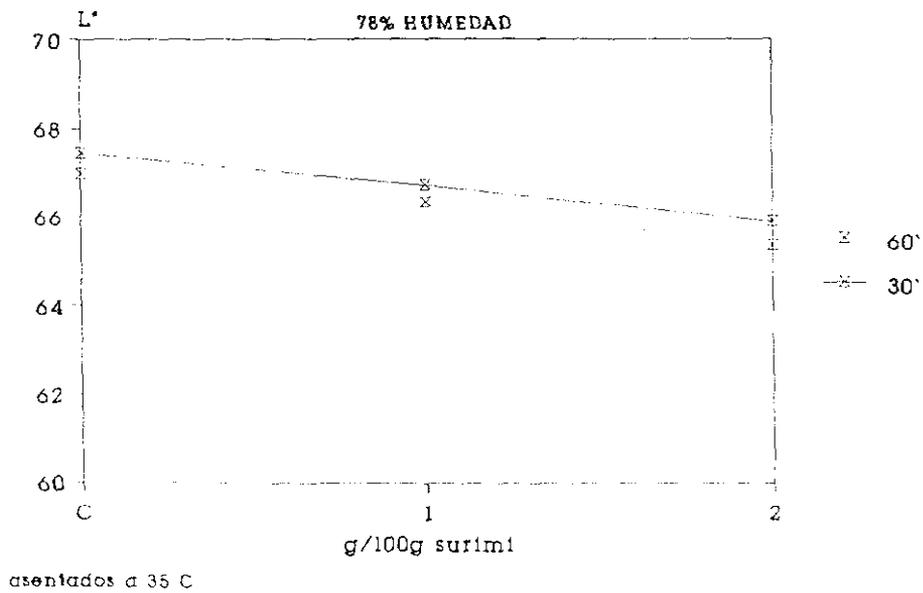
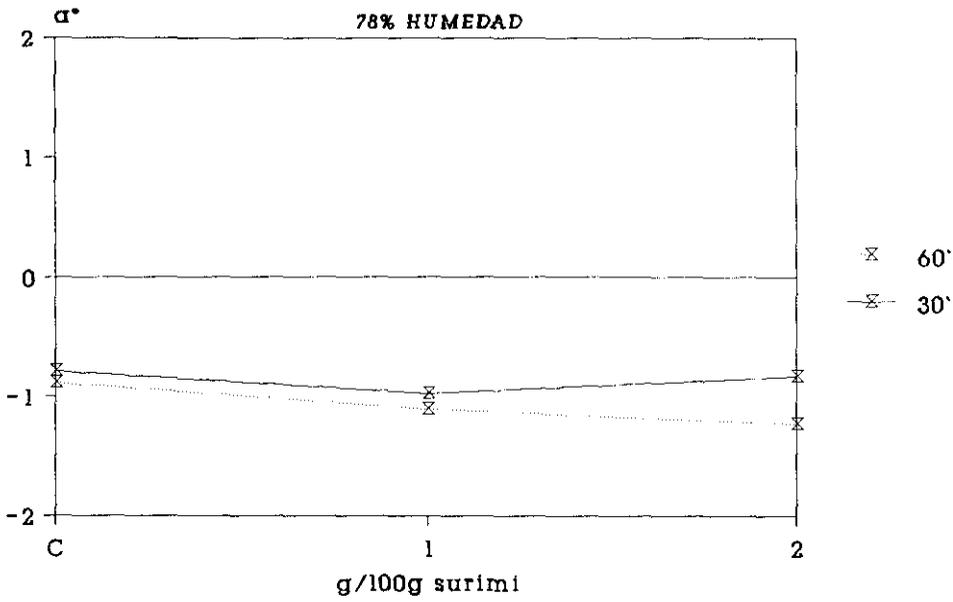


Fig. 8.13.- Análisis de color (parámetro L^*) de geles asentados a diferentes tiempos con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

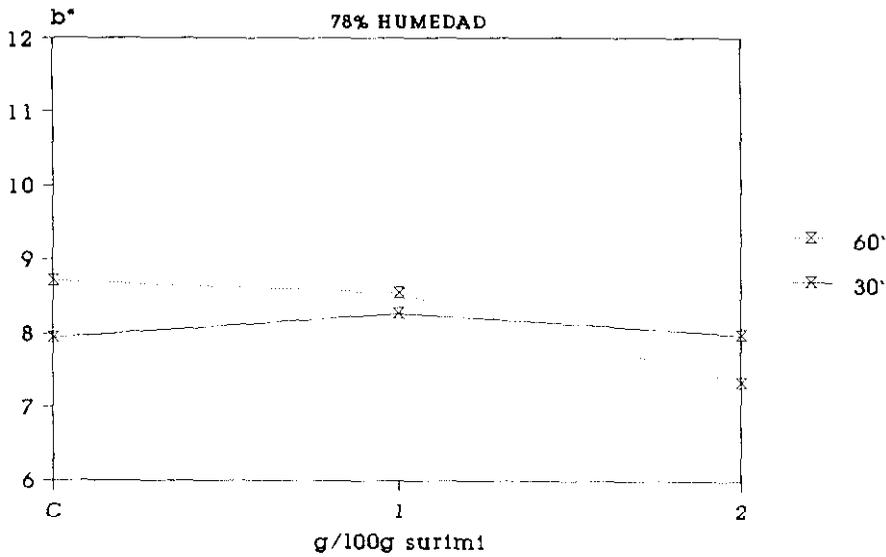
ANALISIS DE COLOR KAPPA CARRAGENATO



asentados a 35 C

Fig. 8.14.- Análisis de color (parámetro a*) de geles asentados a diferentes tiempos con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

ANALISIS DE COLOR KAPPA CARRAGENATO



asentados a 35 C

Fig. 8.15.- Análisis de color (parámetro b*) de geles asentados a diferentes tiempos con distintas concentraciones de kappa carragenato y 78% de humedad final

El parámetro a^* apenas se modificó al añadir el carragenato tal y como se observa en la Fig 8.11.

Con respecto a los kappa carragenatos no se observan marcadas diferencias entre los geles. Se aprecia un leve descenso de los valores de L^* en los lotes con kappa carragenato con respecto al control siendo este descenso algo más evidente con 2g de carragenato/100g de *surimi* (Fig 8.13). Los valores de a^* no se modificaron de forma acusada para los diferentes tratamientos térmicos y concentraciones de kappa carragenatos (Fig 8.14). Los valores de b^* se modificaron en función de la concentración de kappa carragenatos disminuyendo con 2g de carragenato/100g de *surimi* para los geles asentados durante 60 minutos y permanecieron más o menos invariables para tiempos de asentamiento de 30 minutos (Fig 8.15).

Capítulo 9 - CONCLUSIONES

Capítulo 9.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en los geles elaborados con *surimi* de sardina se establecen las siguientes conclusiones:

1. Para obtener geles con alta resistencia mecánica a partir de *surimi* de sardina, es indispensable que en el tratamiento térmico se aplique una fase de asentamiento.
2. El incremento del tiempo de amasado y de la concentración de sal produce una mejor ordenación de la red con buenas características texturales cuando se emplea el mismo tratamiento térmico y a temperaturas de amasado que no excedan los 10°C.
3. Existe un óptimo de humedad final del gel alrededor del 78% en el que la resistencia es máxima. Por encima o por debajo de esta humedad disminuye la fuerza del gel o la deformación.
4. La formación de una malla de máxima resistencia, se consigue aplicando una temperatura de asentamiento durante un tiempo determinado. La prolongación de este tiempo hace disminuir la resistencia de los geles *kamaboko* finales.
5. A temperaturas inferiores a 40°C el tiempo de asentamiento en el que se alcanza la resistencia de gel máxima es menor cuanto mas alta es la temperatura

6. La temperatura de asentamiento de 40°C se considera límite, ya que en función de la calidad del *surimi* empleado, puede comenzar la destrucción del gel de forma masiva al aumentar el tiempo de asentamiento.
7. La temperatura de asentamiento de 35°C se considera óptima dentro de las estudiadas ya que se obtiene una red de estructura fibrosa estable, que no se destruye con los tiempos largos de asentamiento estudiados.
8. El fenómeno de *modori* por desnaturalización térmica se observa en los geles *kamaboko* asentados a temperaturas superiores a 40°C, con un máximo de destrucción de gel a 60°C, a pesar de que durante el asentamiento se obtiene una red inicial de buena calidad reológica.
9. Las características texturales de los geles *suwari* no estan necesariamente relacionadas con la textura final de los geles *kamaboko* que se forman al fijar la malla.
10. El tiempo que han de calentarse a 90°C los geles *suwari* para elaborar geles *kamaboko* de alta resistencia, depende de las características de la malla formada durante el asentamiento, ya que el gel *kamaboko* final es la resultante de la destrucción de la red formada durante el asentamiento y la formación de nuevos enlaces durante el calentamiento teniendo como soporte dicha red.
11. La destrucción de la estructura fibrosa de la malla con aparición de zonas globulares que se aprecia por microscopia electrónica de barrido, se produce cuando se incrementa la temperatura o se prolonga el tiempo de asentamiento y calentamiento de los geles.
12. Los valores máximos obtenidos en la prueba de plegado, tradicionalmente utilizada por la industria para evaluar la calidad del *surimi* indican un umbral de calidad que se corresponde con geles de muy distintas características de textura y ultraestructura.
13. La red *suwari* formada a temperaturas de asentamiento a las que la resistencia del gel es máxima, presenta una estructura ordenada constituida fundamentalmente por actomiosina, con

Capítulo 10 - BIBLIOGRAFIA

Capítulo 10.

BIBLIOGRAFIA

1. ACEVEDO ALFONSO, H.M. (1991). *Estudio de la influencia de la congelación y de la conservación al estado congelado en la textura y estructura de quesos puros de oveja tipo semiduro*. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
2. AFDF (Alaska Fisheries Development Foundation) (1987). En: *Surimi. It's American Now!*. Pub. Anchorage (Estados Unidos)
3. AKAHANE, Y., Chihara, S., Yoshida, Y., Tsuchiya, T., Noguchi, S., Ookami, H. y Matsumoto, J.J. (1981). Application of differential scanning calorimetry to food technological study of fish meat fish gels. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **47**, 105-111.
4. AKAHANE, Y. (1983). Processes and formulations for surimi-based products. En: *Alaska Fisheries Development Foundation*, 19-20, Anchorage (Estados Unidos).
5. AKAHANE, Y., Fujino, M. y Shimizu, Y. (1988). Release of Water from Packed *Kamaboko*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 823-828.
6. AKAHANE, Y. y Shimizu, Y. (1989 a). Changes in the water holding capacity *Surimi* caused by the addition of water and sodium chloride and by the subsequent heat treatment. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**, 1821-1826.
7. AKAHANE, Y. y Shimizu, Y. (1989 b). Effects of pH and Sodium Chloride on the water holding capacity of *Surimi* and its gel. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**, 1827-1832.
8. ALVAREZ, C., Montero, P., Tejada, M. y Borderias, A.J. (1990). Modification of gel strength during storage of gels made from Alaska Pollack surimi. En: *Chilling and freezing of new fish products*, 77-83. Aberdeen (Reino Unido), 18-20 de Septiembre. Editado por el Instituto Internacional del Frío, París (Francia).
9. ALVAREZ, C., Couso, I., Tejada, M., Solas, M.T. y Fernández, B. (1992). Action of starch and egg-white on the texture, water-holding capacity and microstructure in surimi gels. En: *Quality assurance in the Fish Industry*, 449-457. H.H. Huss y col. editores. Elsevier Science Applied Publishers, Londres (Reino Unido).

10. AOAC (1975). Official methods of analysis of the "Association of Official Analytical Chemistry". 12th Edition, n° 18.021.
11. AOAC (1975). Official methods of analysis of the "Association of Official Analytical Chemistry". 12th Edition, n° 24.003.
12. AOAC (1975). Official methods of analysis of the "Association of Official Analytical Chemistry". 12th Edition, n° 24.024.
13. ARECHE, N. y Fujii, Y. (1979). Effects of vegetable protein added to frozen surimi on the properties of its kamaboko. *Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, **100**, 1-7.
14. BABBITT, J.K. y Reppond K.D. (1988). Factors affecting the gel properties of surimi. *Journal of Food Science*, **53**, 965-966.
15. BARBUT, S. y Mittal, G.S. (1989 a). Effects of Salt reduction on the Rheological and Gelation Properties of Beef, Pork and Poultry Meat Batters. *Meat Science*, **26**, 177-191.
16. BARBUT, S. y Mittal, G.S. (1989 b). Influence of K⁺ and Ca⁺⁺ on the rheological properties of reduced fat pork sausages containing carrageenans. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **22**, 124-132.
17. BEAS, V.E., Crupkin, M. y Trucco, R.E. (1988). Gelling properties of actomyosin from pre- and post-spawning hake. *Journal of Food Science*, **53**, 1322-1326.
18. BEAS, V.E. y Crupkin, M. (1990). Protein-Protein interactions in gels of pre- and post- spawning fish actomyosin. En: *Chilling and Freezing of New Fish Products*, 269-275. Aberdeen, (Reino Unido), 18-20, September 18-20. Editado por el Instituto Internacional del Frío, París, (Francia).
19. BLIGH, E.G. y Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**, 911-917.
20. BORDERIAS, A.J., Jiménez-Colmenero, F. y Tejada, M. (1985). Parameters affecting viscosity as a quality control for frozen fish. *Marine Fisheries Review*, **47**, 31-42.
21. BOURNE, M.C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, **Julio**, 62-66.
22. BULLENS, C.W., Llanto, M.G., Lee, C.M. y Modliszewski, J.J. (1990). The function of a carrageenan-based stabilizer to improve quality of fabricated seafood products. En: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for increased Profitability*, 313-323. 34th Atlantic Fisheries Technological Conference and Seafood Biotechnology Workshop.

23. BURGARELLA, J.C., Lanier, T.C., Hamann, D.D. (1985 a). Effects of added egg white or whey protein concentrate on thermal transitions in rigidity of croaker surimi. *Journal of Food Science*, **50**, 1588-1606.
24. BURGARELLA, J.C., Lanier, T.C., Hamann, D.D. y Wu, M.C. (1985 b). Gel Strength Development during Heating of Surimi in combination with egg white or whey protein concentrate. *Journal of Food Science*, **50**, 1595-1597.
25. CARBALLO, J., Cavestany, M. y Jiménez-Colmenero, F. (1992). Rheological changes during thermal gelation of meat batters containing surimi from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) or Sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **59**, 117-122.
26. CARECHE M. (1988). *Modificaciones de las proteínas de pescado durante la conservación en el estado congelado: Interacciones lípido-proteína*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid.
27. CATSIMPOOLAS, N. y Meyer, E.W. (1970). Gelation phenomena of soybean globulins. I. Protein-protein interactions. *Cereal Chemistry*, **47**, 559-570.
28. COUSO, I., Alvarez, C., Solas, M.T., Barba, C. y Tejada, M. (1993). Morphology of starch in surimi gels. (enviada a *Food Structure*).
29. CHENG, C.S., Hamann, D.D., Webb, N.B. y Sidwell, V. (1979). Effects of species and storage time on minced fish gel texture. *Journal of Food Science*, **44**, 1087-1092.
30. CHUNG, K.H. y Lee, C.M. (1990). Relationships between physicochemical properties of nonfish protein and textural properties of protein incorporated surimi gel. *Journal of Food Science*, **55**, 972-975.
31. CHUNG K.H. y Lee, C.M. (1991). Water binding and ingredient dispersion pattern effects on surimi gel texture. *Journal of Food Science*, **56**, 1263-1266
32. DA PONTE, D.J.B., Herst, J.M., Roozen, J.P. and Pilnik, W. (1985). Effects of different types of carrageenans and carboxymethyl celluloses on the stability of frozen stored minced fillets of cod. *Journal of Food Technology*, **20**, 587-598.
33. DA PONTE, D.J.B., Roozen, J.P. y Pilnik, W. (1986). Effects of additions, irradiation and heating on the activity of trimethylamine oxidase in frozen stored minced fillets of whiting. *Journal of Food Science*, **21**, 33-43.
34. DA PONTE, D.J.B., Roozen, J.P. y Pilnik, W. (1987). Effects of iota carrageenan, carboxymethyl cellulose and xanthan gum on the stability of formulated minced fish products. *International Journal of Food Science and Technology*, **22**, 123-133.

35. DICCIONARIO MULTILINGUE DE PESCADOS Y PRODUCTOS DE LA PESCA (1968). Fishing News (Books) Ltd., Londres (Reino Unido).
36. FMC Corporation, Marine Colloids Division. General carrageenan application technology. *Introductory Bulletin A-1*. FMC Corporation, Marine Colloids Div. Rockland, (Estados Unidos).
37. FOEGEDING, E.A. y Ramsey, S.R. (1986). Effect of gums on Low-fat meat Batters. *Journal of Food Science*, **51**, 33-36.
38. FOEGEDING, E.A. y Ramsey, S.R. (1987). Rheological and Water-Holding properties of gelled meat batters containing Iota Carrageenan, Kappa Carrageenan or Xanthan gum. *Journal of Food Science*, **52**, 549-553.
39. FOEGEDING, E.A. y Lanier, T.C. (1990). The contribution of nonmuscle proteins to texture of gelled muscle protein foods. En: *Protein Quality and the Effects of Processing*, **34**, 203-298. Editado por R. Dixon Phillips y John W. Finley. Marcel Dekker Inc., Nueva York (Estados Unidos).
40. GOSSETT, P.W. Rizvi, S.S.H. y Baker, R.C. (1984). *Food Technology*, **Mayo**, 67-
41. HAMADA, M. e Inamasu, Y. (1984). Influences of temperature on the viscoelasticity of Kamaboko. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **50**, 537-540.
42. HAMANN, D.D. y Webb N.B. (1979). Sensory and instrumental evaluation of material properties of fish gels. *Journal of Texture Studies*, **10**, 117-130.
43. HAMANN, D.D. (1990). Surimi, a building block for formulated foods. En: *Chilling and freezing of new fish products*, 19-26. Editado por el Instituto Internacional del Frío, París (Francia).
44. HAMANN, D.D., Amato, P.M., Wu, M.C. y Foegeding, E.A. (1990). Inhibition of Modori in surimi by plasma hydrolysate and egg white. *Journal of Food Science*, **55**, 665-669.
45. HAMANN, D.D. y McDonald, G.A. (1992). Rheology and texture properties of surimi and surimi-based foods. En: *Surimi Technology*, 429-500. Editado por T.C. Lanier y C.M. Lee, Marcel Dekker Inc., Nueva York (Estados Unidos).
46. HARDHAM, H.F. (1981). The determination of total and reactive sulfhydryl of whey protein concentrates. *Australian Journal of Dairy Technology*, **36**, 153-
47. HERMANSSON, A.M. (1978). Physico-chemical aspects of soy proteins structure formation. *Journal of Texture Studies*, **9**, 33-58.
48. HERMANSSON, A.M. (1983). Protein functionality and its relation to food microstructure. *Quality Plant Foods Human Nutrition*, 369-388.

49. HERMANSSON, A.M. (1986). Soy protein gelation. *Journal of American Oil Chemists*, **63**, 658-666.
50. HERMANSSON, A.M. (1988). Gel structure and rheology in theory and practice. *SIK Report N° 553*. Department of Food Science, Chalmers University of Technology, (Suecia).
51. HICKSON, D.W., Dill, C.W., Morgan, R.G., Sweat, V.E., Suter, D.A. y Carpenter, Z.L. (1982). Rheological properties of two Heat-Induced protein gels. *Journal of Food Science*, **47**, 783-791.
52. HOLT, D.L., Watson, M.A., Dill, C.W., Alford, E.S., Edwards, R.L., Diehl, K.C. y Gardner, F.A. (1984). Correlation of the rheological behavior of egg albumen to temperature, pH and NaCl. *Journal of Food Science*, **51**, 137-141.
53. HUIDOBRO, A., Montero, P., Jiménez-Colmenero, F., Tejada, M., y Borderias, A.J. (1990). Changes in protein function sardines stored in ice with and without added salt. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, **190**, 195-198.
54. HUIDOBRO A. (1990). *Modificaciones de las propiedades funcionales de músculo de pescado de especies infrautilizadas conservadas en congelación*. Tesis Doctoral. Editorial de la Universidad Complutense de Madrid. **M-21468**
55. HUIDOBRO, A., Pardo, M.V., Borderias, A.J. y Tejada, M., (1992). Effect of different storage methods on some functional properties os sardine muscle. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, **194**, 17-20.
56. HUIDOBRO, A. y Tejada, M. (1993). Gel forming capacity of fish mince during frozen storage. En: *The contribution of refrigeration to the quality of plant and halieutic products*, Joint Meeting of Commissions C2 (Instituto Internacional del Frío), 2-7 de Mayo, Fez (Marruecos).
57. ISIIKAWA, S. (1978). Fish jelly product (kamaboko) and frozen minced meat (frozen surimi) made of sardine-II. Influence of the temperature during the manufacturing process on the jelly strength of kamaboko. *Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, **94**, 37-34.
58. ISHIOROSI, M., Samejima, K., y Yasui, T., (1981). Further studies on the roles of the head and tail regions of the myosin molecule in the heat induced gelation. *Journal of Food Science*. **47**, 114-120.
59. ITAZHAKI, R.F. y Gill, D.M. (1964). A Micro-Biuret method for estimating proteins. *Analytical Biochemistry*, **9**, 401-410.

60. ITO, T., Kitada, N., Yamada, N., Seki, N. y Arai, K. (1990). Biochemical changes in meat of Alaska Pollack caused by soaking in NaCl solution. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 687-693.
61. ITOH, T., Yoshinaka, R. e Ikeda, S. (1979). Effects of cysteine and cystine on the gel formation of fish meat by heating. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **45**, 341-345.
62. JIMENEZ- COLMENERO F., Careche, M. Carballo, J. Cofrades, S. (aceptado para su publicación). Influence of thermal treatment on gelation of actomyosin from different myosystems. *Journal of Food Science*.
63. JOHNSON, T.M. y Zabik, M.E. (1981). Gelation properties of albumen proteins, singly and in combination. *Poultry Science*, **60**, 2071-2083.
64. KATO, N., Nakagawa, N., y Terui, S. (1989 a). Changes in myofibrillar protein in surimi during grounding with NaCl in relation to operating condition of a continuous mixer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1243-1251.
65. KATO, N., Hashimoto, A., Nakagawa, N., y Arai, K. (1989 b). A new attempt to improve the quality of frozen surimi from Pacific mackerel and sardine by introducing underwater mincing of raw materials. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 507-513.
66. KENT HOLT, S. (1985). New product concepts utilizing surimi in combination with isolated soy protein. En: *Proceedings of the International Symposium on engineered seafood including surimi*, 19-21. Noviembre, Seattle, (Estados Unidos).
67. KIM, J.M., Hamann, T.C., Lanier, T.C. y Wu, M.C. (1986). Effects of Freeze-Thaw abuse on the viscosity and Gel-Forming properties of Surimi from two species. *Journal of Food Science*, **51**, 951-956.
68. KIM, J.M. y Lee, C.M. (1987). Effect of Starch of Textural Properties of Surimi gel. *Journal of Food Science*, **52**, 722-725
69. KIM, J.M., Lee, C.M. y Hufnagel, L.A. (1987). Textural properties and structure of starch-reinforced surimi gels as affected by heat-setting. *Food Microstructure*, **6**, 81-89.
70. KINOSHITA, M., Toyohara, H. y Shimizu, Y. (1990). Proteolytic degradation of fish gel (modori-phenomenon) during heating process. En: *Chilling and Freezing of new fish products*, 61-67. Aberdeen, (Reino Unido), 18-20 de Septiembre. Editado por el Instituto Internacional del Frío, Paris (Francia).
71. KNUDSEN, L., Reimers, K., Berner, L. y Jensen, N.C. (1985). A modification of Bligh and Dyer's oil extraction method reducing chloroform vapour outlet. *O.E.A./II*

85. WESTERN EUROPEAN FISH TECHNOLOGISTS' ASSOCIATION, Hamburgo (Alemania).
72. LANIER, T.C., Lin, T.S., Liu, Y.M. y Hamann, D.D. (1982). Heat gelation properties of actomyosin and surimi prepares from Atlantic Creaker. *Journal of Food Science*, **47**, 1921-1925.
73. LANIER, T.C., Hamann, D.D. y Wu, M.C. (1985 a). Application of functionality measurements to least-cost linear programming of surimi based product formulations. *Proceedings of the International Symposium on engineered seafood including surimi*, 264-273. Noviembre, 19-21, Seattle, Washington (Estados Unidos).
74. LANIER, T.C., Hamann, D.D. y Wu, M.C. (1985 b). Development of methods for quality and functionality assessment of surimi and minced fish. *Alaska Fisheries Development Foundation*, Anchorage, Alaska (Estados Unidos).
75. LANIER, T.C. (1986). Functional properties of surimi. *Food Technology*, **40**, 107-114.
76. LANIER, T.C. (1988). Muscle protein functional properties and protease content of surimi prepared from fatty, dark-fleshed fish species. En: *Fatty fish utilization: Upgrading from feed to food*, 247-262. Proceedings of a National Technical Conference, 10-11 de Diciembre, Raleigh (Estados Unidos)
77. LANIER, T.C. y Lee, C.M. (1992). Surimi Technology. Ed. Marcel Dekker, Inc., Nueva York (Estados Unidos).
78. LEDWARD, D.A. (1990). Uses of hydrocolloids in meat and meat analogues. En: *Gels, Thickening and Stabilising agents*. Training Course TOO4, 19-22 de Junio, Leatherhead Food RA, Leatherhead (Reino Unido).
79. LEE, C.M. y Toledo, R.T. (1976). Factors affecting textural characteristics of cooked comminuted fish muscle. *Journal of Food Science*, **41**, 391-397.
80. LEE, C.M. (1984). Surimi process technology. *Food Technology*, **Noviembre**, 69-80.
81. LEE, C.M., Wu, M.C. y Okada, M. (1992). Ingredient and formulation technology for Surimi-based products. En: *Surimi Technology*, 273-302. Editado por T.C. Lanier y C.M. Lee, C.M. Marcel Dekker Inc., Nueva York (Estados Unidos).
82. LEE, N., Seki, N., Kato, N., Nakagawa, N., Terui, S. y Arai, K., (1990). Gel forming ability and cross-linking ability of myosin heavy chain in salted meat paste from threadfin bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 329-336.

83. LEINOT, A. y Cheftel, J.C. (1989). Influence of chilled and frozen storage of sardines on the gelling properties of surimi. En: *Pelagic fish: the resource and its exploitation*. Aberdeen (Reino Unido), 27-29 de septiembre. Fishing News Book Ltd., Oxford (Reino Unido).
84. LEINOT, A. y Cheftel, J.C. (1990). Influence of the fishing season and of chilled or frozen storage of sardine on the solubility and gelling properties of myofibrillar proteins. In: *Chilling and freezing of new fish products*, 29-44. Aberdeen (Reino Unido), 18-20 de septiembre. Editado por el Instituto Internacional del Frío, París (Francia)
85. LEINOT, A. (1991). *Proprietès gelifiantes des proteines myofibrillaires (surimi) de sardines en fonction de la saison de peche et de la durée d'entreposage refrigerè ou congelè des poissons*. Tésis Doctoral. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier (Francia).
86. LILLEVIK, H.A. (1970). The determination of total organic nitrogen. En: *Methods in food analysis. Physical, chemical and instrumental methods of analysis*. Editado por M.A. Joslyn, Academic Press, Nueva York (Estados Unidos).
87. LORIENT, D. (1982). Les proprietés fonctionnelles des proteines animales. En: *Proteinas Animales*, 8-37. Editado por C.M. Bourgeois y P. Le Roux, Technique et Documentation (Lavoisier), Paris (Francia).
88. LLANTO, M.G., Bullens, C.W., Modliszewski, J.J. y Bushway, A.A. (1990). Effects of Carrageenan on gelling potential of surimi prepared from Atlantic Pollock. En: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for increased Profitability*, 305-311. 34th Atlantic Fisheries Technological Conference and Seafood Biotechnology Workshop.
89. MAKINODAN, Y. y Hujita, M. (1990). Effect of the addition of slivers of ginger on the gel strenght of *Kamaboko*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 537-542.
90. MATSUDA, T., Watanabe, K. y Sato, Y. (1981). Heat-induced aggregation of egg white proteins as studied by vertical flat-sheet polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Food Science*, **46**, 1829-1834.
91. MINE, Y., Noutomo, T. y Haga, N. (1990). Thermally induced changes in egg white proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**, 2122-2125.
92. MODLISZEWSKI, J.J. (1983). Carrageenan. *Gum and Starch Technology 18th Annual Symposium*.
93. MONTEJANO, J.G., Hamann, D.D. y Lanier, T.C. (1983). Final strenghts and rheological changes during processing of thermally induced fish muscle gels. *Journal of Rheology*, **27**, 557-579.

94. MONTEJANO, J.G., Hamann, D.D., Ball Jr., H.R. y Lanier, T.C. (1984). Thermally induced gelation of native and modified egg white rheological changes during processing; final strengths and microstructures. *Journal of Food Science*, **49**, 1249-1257.
95. MONTEJANO, J.G., Hamann, D.D. y Lanier, T.C. (1985). Comparison of two instrumental methods with sensory texture of protein gels. *Journal of Texture Studies*, **16**, 403-424.
96. MORRIS V.J. (1990). Starch gelation and retrogradation. En: *Trends in Food Science and Technology*, **Julio**, 2-6.
97. NAGAHISA, E., Nishimoto, S., Fujimoto, S. y Fujita, T. (1981). Kamaboko-forming ability of the jellied meat of Pacific hake. *Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries*, **41**, 901-906.
98. NAKAYAMA, T., Kanoh, S. y Niwa, E. (1988 a). Evaluation of material for imitation crab behavior from stress relaxation data. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 717-724.
99. NAKAYAMA, T., Kashiwagi, Y., Kanoh, S. y Niwa, E. (1988 b). Manufacturing of sardine terrine by addition of carrageenan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 123-128.
100. NISHIMOTO, S.I., Hashimoto, A., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K, Fujita, T. y Arai., K.I. (1987). Influencing factors on changes in myosin heavy chain and Jelly strength of salted meat paste from Alaska Pollack during setting. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2011-2020.
101. NISHIMOTO, S.I., Hashimoto, A., Seki, N. y Arai., K.I., (1988). Setting of mixed meat paste of two fish species in relation to cross-linking reaction of myosin heavy chain. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1227-1235.
102. NIWA, E., (1975). Role of hydrophobic bonding in gelation of fish flesh paste. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries*, **41**, 907-910.
103. NIWA, E., Nakayama, T. y Hamada, I. (1981). Setting of flesh sol induced by ethylsulfonation. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries*, **47**, 915-919.
104. NIWA, E. (1985). Functional aspect of surimi. En: *Proceedings of the International Symposium on engineered seafood including surimi*, 141-147. 19-21 de Noviembre, Seattle, (Estados Unidos). Editores R.E. Martin y R.L. Collete, National Fisheries Institute. Washington D.C. (Estados Unidos).
105. NIWA, E., Wang T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1987). Temperature dependence of elasticity of kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2255-2257.

106. NIWA, E., Chen, T., Kanoh, S., y Nakayama, T. (1988 a). Effect of temperature on the State of water within kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1975-1979.
107. NIWA, E., Chen, T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1988 b). Differential scanning calorimetry of the Kamaboko added with various natural high polymers. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 2139-2142.
108. NIWA, E., Wang, T., Kanoh, S., y Nakayama, T. (1988 c). Strengthening effect of the various natural high polymers on the elasticity of the kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 841-844.
109. NIWA, E., Wang, T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1988 d). Contribution of gelling substance to muscular protein network structure within kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 982-989.
110. NIWA, E., Wang, T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1988 e). Surface hydrophobicity of gelling substance. *Nippon Suisan Gakkaishi* **54**, 1851.
111. NIWA, E., Chen, E., T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1988 f). Entropy elasticity of food gels certified by stress-strain relation. *Nippon Suisan Gakkaishi* **54**, 245-248.
112. NIWA, E., Chen, E., T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1988 g). Entropy elasticity of food gels certified by Gough-Joule effect. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 249-252.
113. NIWA, E., Kanoh, S. Osaka, Y., Nakayama, T., Watabe, S. y Hashimoto, K. (1989 a). Changes in surface hydrophobicity of fish actomyosins induced by urea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 143-146.
114. NIWA, E., Yamada, H., Kanoh, S., y Nakayama, T., (1989 b). Thermal behavior of actomyosin subunits during setting of salted fish flesh sol. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1997-2000.
115. NIWA, E., Wang, T.T., Kanoh, S. y Nakayama, T. (1989 c). Effect of high water-uptake hydrogels on the elasticity of Kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1229-1233.
116. NIWA, E. (1992). Chemistry of Surimi Gelation. En: *Surimi Technology*, 389-420. Editado por T.C. Lanier y C.M. Lee. Marcel Dekker Inc., Nueva York (Estados Unidos).
117. NUMAKURA, T., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., Takama, K., y Arai, A. (1987 a). Changes in the SDS-gel filtration patterns on muscle proteins in salted fish meat paste during setting (suwari). *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 2045-2049.

118. NUMAKURA, T., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., Takama, K., y Arai, A. (1987 b). Effect of quality of surimi on cross-linking reaction of myosin heavy chain during setting. *Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries*, **53**, 633-639.
119. NUMAKURA, T., Mizoguchi, R., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, K., Seki, N. y Arai, A. (1989). Changes in gel forming ability of myosin heavy chain of Alaska pollack surimi denatured by heat treatment. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1083-1090.
120. NUNES, M.L., Mendes, R., Campos, R.M. y Bandarra, N.(1990). Characterization of fatty acids and lipid classes of sardine (*Sardine pilchardus*) and its variation with season. En: *Proceedings of the meeting of Commission C2*. Aberdeen (Reino Unido), 18-20 de Septiembre. Editado por el Instituto Internacional del Frío, Paris (Francia).
121. OFCF (Overseas Fishery Cooperation Foundation) (1984). Japan Deep Sea Trawlers Association. Surimi Workshop. **Capítulo III**.
122. OKADA, M. y Yamazaki, A. (1957 a). Enhancing effect of starch on Jelly strenght of fish meat jelly. I Enhancing effect and gelatinization of starch. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **22**, 583-588.
123. OKADA, M. y Yamazaki, A. (1957 b). Enhancing effect of starch on Jelly strenght of fish meat jelly. II Effect of amylose and amylopectin. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **23**, 476-482.
124. OKADA, M. (1963). Elastic Property of Kamaboko (Fish Meat Jelly). *Bulletin of the Tokai Reference Fisheries Research Laboratory*, **36**, 121-122.
125. OKADA, M. (1964). Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **30**, 225-230.
126. OKADA, M., Miyauchi, D., y Kudo, G. (1973). "Kamaboko"-The giant among japanese processed fishery products. *Marine Fisheries Review*, **35**, 1-6.
127. OKADA, M. (1985). Ingredients on gel texture. En: *Proceedings of the International Symposium on Engineered Seafood Including Surimi*, 515-530. 19-21 de Noviembre, Seattle, Washington (Estados Unidos). Editado por R.E. Marti y R.L. Collette, National Fisheries Institute, Washington D.C.
128. RING, S. y Stainsby, G. (1982). Filler reinforcement of gels. *Progress in Food and Nutrition Science* **6**, 323.
129. ROUSSEL, H. (1988). *Preparation et propriétés gelifiantes du surimi de sardine. Influence de la fraîcheur du poisson, du procédé technologique et de divers additifs chimiques sur les caractéristiques du surimi et des gels protéiques*. Tesis Doctoral. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier (Francia).

130. ROUSELL, H., y Cheftel J.C. (1988). Characteristics of surimi and kamaboko from sardines. *International Journal of Food Science and Technology*, **23**, 607-623.
131. ROUSSEL, H., y Cheftel, J.C. (1990). Mechanisms of gelation of sardine proteins: Influence of thermal processing and of various additives on the texture and protein solubility of kamaboko gels. *International Journal of Food Science and Technology*, **25**, 260-280.
132. SALIBA, D.A., Goegeding, E.A. y Hamann, D.D. (1987). Structural failure and nondestructive rheological analyses of frankfurter batters: Effects of heating rates and sugars. *Journal of Texture Studies*, **18**, 241-259.
133. SANO, T. (1988). *Thermal Gelation of fish muscle proteins*. Tesis Doctoral. Laboratory of Biochemistry. Department of Chemistry. Faculty of Science and Technology. Sophia University, Tokio (Japón).
134. SANOFI, Bio-Industries (1987). Hydrocolloids. *Boletín Informativo*.
135. SEKI, N., Uno, H., Lee, H.H., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T. y Arai, K. (1990). Transglutaminase activity in Alaska Pollack muscle and Surimi, and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 125-132.
136. SHARMA, S.C. (1981). Gums and hydrocolloids in oil-water emulsions. *Food Technology*, **Enero**, 59-67.
137. SHIMIZU, Y., Karata, S. y Nishioka, F. (1976). Extractibility of proteins from fish skeletal muscle at low ionic strengths. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **40**, 1025-1031.
138. SHIMIZU, Y., Toyohara, H. y Lanier, T.C. (1992). Surimi Production from fatty and dark-fleshed fish species. En: *Surimi Technology*, **181-208**. Marcel Dekker, Inc., Nueva York (Estados Unidos).
139. SONU, S.C. (1986). Surimi. NOAA Technical Memorandum National Marine Fisheries Service (NMFS), Terminal Island, (Estados Unidos).
140. STANLEY, D.W. y Tung, M.A. (1976). Microestructure of food an its relation to texture. En: *Rheology and Texture in Food Quality*, 28-78. The AVI Publishing Company, Inc., Westport (Estados Unidos).
141. STANLEY, N.F. (1990). Carrageenans. En: *Food Gels*, 79-119. Editado por P. Harris. Elsevier Applied Science Publishers, Londres (Reino Unido).
142. STEINBERG, M.A. (1979). Past, present and future methods of utilization. En: *Advances in Fish Sciences and Technology*, 434-438. Julio, Jubilee Conference of the Torry Station, Aberdeen (Reino Unido).

143. SUZUKI, T. (1981). Tecnología de las proteínas de pescado y krill. Editorial Acribia S.A. (Zaragoza).
144. SZCZESNIAK, A.S. (1963). Clasification of textural characteristics. *Journal of Food Science*, **28**, 391-396.
145. TANIKAWA, E., Motohiro, T. y Akiba, M. (1985). Marine Products in Japan. Editorial Koseisha Koseikaku Co., Ltd. Tokio (Japón).
146. TEJADA, M., Borderías, A.J. y Jiménez-Colmenero, F. (1987). Myofibrillar and sarcoplasmatic proteins: their role in alterations in certain functional properties of muscle during frozen storage. En: *Proceedings of the IUFOST International Symposium Chemical Changes during Food Processing*, 103-111. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia.
147. THAPON, J.L. (1986). Clara de huevo y productos derivados. En: *Proteínas animales*, 190-214. Editorial El Manual Moderno, S.A., Mexico D.F. (México).
148. TOYOHARA, H. y Shimizu, Y. (1988). Relation between the modori phenomenon and myosin heavy chain breakdown in threadfin-bream gel. *Agricultural and Biological Chemistry*, **52**, 255-257.
149. TROUT, G.R. (1988). Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods- A review of methodology. *Meat Science*, **23**, 235-252.
150. TSUCHIYA, Y., Tsuchiya, T. y Matsumoto, J.J. (1979). The nature of the cross-bridges constituting aggregates of frozen stored carp myosin and actomyosin. En: *Advances in Fish Sciences and Technology*, 434-438. Julio, Jubilee Conference of the Torry Station, Aberdeen (Reino Unido).
151. TSUKAMASA, Y. y Shimizu, Y. (1989). The gel-forming properties of the dorsal muscle from Clupeiformes and Salmonoidei. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 529-534.
152. TSUKAMASA, Y. y Shimizu, Y. (1990). Setting property of sardine and Pacific Mackerel Meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1105-1112.
153. VARELTZIS, K., Zetou, F., Soutos, N. y Tsiaras, I. (1989). Use of hake (*Merluccius merluccius*) surimi in a Frankfurter formulation. *International Journal of Food Science and Technology*. **24**, 277-281.
154. VYNCKE, W. (1981). pH of fish muscle: comparison of methods. *WESTERN EUROPEAN FISH TECHNOLOGISTS' ASSOCIATION*, Copenhagen (Dinamarca).

155. VOISEY, P.W. (1976). Instrumental measurement of food texture. En: *Rheology and texture in food quality*, 79-141. AVI Publishing Company, Inc., Westport, (Estados Unidos).
156. WALL, J.S. y Huebner, F.R. (1981). Adhesion and cohesion. *ACS Symposium Series*, **147**, 111-130.
157. WOODWARD, S.A. y Cotterill, O.J. (1986). Texture and microstructure of heat-formed egg white gels. *Journal of Food Science*, **51**, 333-339.
158. WOODWARD, S.A. (1990). Egg protein gels. En: *Food Gels*, 175-199. Editado por P. Harris. Elsevier Applied Science Publishers, Londres (Reino Unido).
159. WU, M.C., Hamman, D.D. y Lanier, T.C. (1984). Rheological and calorimetric investigations of starch-fish protein systems during thermal processing. *Journal of Texture Studies* **16**, 53-74.
160. WU, M.C., Hamman, D.D. y Lanier, T.C. (1985). Thermal transitions of admixed starch-fish protein systems during heating. *Journal of Food Science*, **50**, 20-25.
161. WU, M.C. (1992). Manufacture of Surimi-Based products. En: *Surimi Technology*, 245-302. Editado por T.C. Lanier y C.M. Lee, C.M. Marcel Dekker Inc., Nueva York (Estados Unidos).
162. WUZBURG, O.B. (1987). Properties and uses for modified starches. CRC Press Inc., Boca Ratón, (Estados Unidos).
163. YAMASHITA, R., Tanaka, M., Nagashima, Y., y Taguchi, T. (1989). Effect of cross-linker on thermal gelation of oval filefish muscle proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 891-895.
164. YAMAZAWA, M. (1990 a). Effect of high temperature heating on physical properties of kamaboko-gel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 497-503.
165. YAMAZAWA, M. (1990 b). Effect of heating temperature on structure and Gel-reinforcing ability of starch granules in Kamaboko-Gel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 505-510.
166. ZIEGLER, G.R. y Foegeding, E.A (1990). The gelation of proteins. En: *Advances in Food and Nutrition Research*, **34**, 203-298. Editado por J.E. Kinsella, Academic Press, Nueva York (Estados Unidos).