

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

“Efecto de Pulsos Ultrasónicos de Alta Frecuencia Sobre las Propiedades Funcionales de Proteínas Sarcoplásmicas del Manto de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)”

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el Título de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Alma Gloria Salazar Fuentes

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Alma Gloria Salazar Fuentes, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico en Alimentos.

Comité de Tesis

Dr. Enrique Márquez Ríos
Presidente

Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera
Secretario

Dr. Aldo Alejandro Arvizu Flores
Vocal

Dr. Alonso Alexis López Zavala
Suplente

DEDICATORIAS

A mis padres, Jesús y Leticia por brindarme su amor y su apoyo incondicional. Por su gran esfuerzo al darme una carrera para mi futuro, les agradezco de corazón que estén conmigo en todo momento. Los quiero mucho

A mi hermana, Rosa María, por estar en los buenos y malos momentos, por aconsejarme y ayudarme siempre. Muchas gracias hermana

A mis tíos, Ma. Del Carmen y Antonio, por recibirme como una hija más en su familia, por brindarme su apoyo a lo largo de mi carrera universitaria. ¡Les agradezco mucho! Nana Carmen, tata Ramón, tía Tere, tío Jorge, tío Fito, tía Bety, Andrea, Diana, Jorgito y Ma. Romina. Sin su cariño y ayuda, este camino hubiera sido aún más difícil de recorrer.

A mi tío, Raymundo, por hacerme crecer como persona, por permitirme estar cerca de él hasta el final. Te extrañare siempre

A mi novio, por todo el amor y el apoyo, por estar a mi lado y animarme siempre

A mis amigos, por brindarme su amistad y cariño en estos últimos años. Los quiero

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, por aceptarme en su plan académico y haberme brindado los conocimientos necesarios para el desarrollo de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por su apoyo económico para la realización de este trabajo.

Al Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos, en especial al Laboratorio de Marinos y al laboratorio de Investigación de Alimentos del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas por permitirme realizar experimentales en sus instalaciones.

A mi director de tesis, Dr. Enrique Márquez Ríos, por todo su apoyo, orientación y motivación durante este último año. Además de, brindarme su tiempo y disposición para la elaboración de mi tesis profesional. Permítame expresarle mi reconocimiento y admiración. Muchas gracias

A mi comité de tesis, Dr. Víctor Ocaño Higuera, Dr. Alexis López Zavala y Dr. Aldo Arvizu Flores, por su ayuda, sugerencias y consejos para la culminación de esta tesis. Les agradezco también, el haber sido parte de mi formación profesional.

A mis colegas y amigos del Laboratorio de Marinos del DIPA, especialmente a Odilia e Iván, por brindarme su apoyo y recomendaciones durante el desarrollo de mis experimentales. Muchas gracias

A todos mis profesores de la carrera, especialmente a la Dra. Ana Irene Ledesma O., por su gran ayuda y disposición, por compartir su conocimientos y experiencia.

A mis colegas y amigos de la carrera, por su compañerismo y solidaridad durante estos últimos años, especialmente a Laura y Fernanda, por compartir sus conocimientos y ayuda al realizar mis experimentales. ¡Gracias!

CONTENIDO

	Página
CARTA DE APROBACIÓN.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
CONTENIDO.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
OBJETIVOS.....	12
ANTECEDENTES.....	13
Pesquería del Calamar Gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	13
Generalidades del Calamar Gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	15
Composición Química del Tejido Muscular.....	17
Proteínas del Tejido Muscular.....	17
Proteínas Miofibrilares.....	17
Proteínas Estromales.....	18
Proteínas Sarcoplásmicas.....	18
Propiedades Funcionales de las Proteínas.....	19
Propiedades Emulsificantes de las Proteínas.....	19
Propiedades Espumantes de las Proteínas.....	19
Hidrofobicidad de Superficie (S_0).....	19
Pulsos Ultrasónicos.....	21
Efecto de Pulsos Ultrasónicos sobre la Propiedad Emulsificante los Alimentos..	22
Efecto de Pulsos Ultrasónicos sobre la propiedad Espumante los Alimentos....	22
HIPÓTESIS.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Materia Prima.....	25
Obtención de Proteína Sarcoplásmica.....	25
Aplicación de Pulsos Ultrasónicos.....	25
Evaluación de Propiedades Funcionales.....	25
Propiedades Emulsificantes.....	25
Actividad Emulsionante (IAE).....	25
Índice de Estabilidad de las Emulsiones (IEE).....	26

Propiedades Espumantes.....	27
Capacidad Espumante.....	27
Estabilidad de la Espuma.....	27
Viscosidad.....	27
Hidrofobicidad de Superficie (S ₀).....	28
Análisis Estadístico.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	29
Obtención de Proteína Sarcoplásmica.....	29
Propiedades Emulsificantes.....	29
Índice de Actividad Emulsificante.....	29
Índice de Estabilidad Emulsificante.....	32
Propiedades Espumantes.....	34
Capacidad Espumante (CE).....	34
Estabilidad Espumante (EE).....	37
Hidrofobicidad de Superficie (S ₀).....	39
Viscosidad.....	41
CONCLUSIONES.....	44
REFERENCIAS.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
Figura 1 Zonas de pesca del calamar gigante en el Golfo de California.....	14
Figura 2 Anatomía externa e interna del calamar gigante.....	16
Figura 3 Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en el índice de actividad emulsificante (IAE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	30
Figura 4 Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en el índice de estabilidad emulsificante (IEE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	32
Figura 5 Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la capacidad espumante (CE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	35
Figura 6 Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la estabilidad espumante (EE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	37
Figura 7 Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la hidrofobicidad superficial (S ₀ -ANS) de las proteínas sarcoplásmicas del manto de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>).....	39
Figura 8 Viscosidad de las proteínas sarcoplásmicas del manto de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>) con la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta energía.....	42

RESUMEN

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco cefalópodo que representa una de las pesquerías más importantes en la región noroeste del Pacífico mexicano. Su atractivo comercial radica en el bajo costo, bajo contenido de grasa, su carne blanca e insípida y posee un alto rendimiento.

Sin embargo, el consumo nacional del calamar gigante es bajo, debido a que la mayor parte de la producción pesquera se destina a exportación. Por lo tanto, algunas investigaciones se han realizado para obtener concentrados proteicos a partir del manto del calamar gigante, para promover su consumo y valor. El proceso convencional para la producción de los mismos genera grandes volúmenes de efluente con alto contenido de proteína soluble, llamadas proteínas sarcoplásmicas.

Con el objetivo de aprovechar este recurso, en el presente estudio se obtuvo proteína sarcoplásmica a partir del manto del calamar gigante, se estudió el efecto que tienen los pulsos ultrasónicos de alta energía sobre las propiedades funcionales (propiedad espumante y emulsificante), así como en la viscosidad e hidrofobicidad de superficie de las proteínas.

El índice de actividad emulsificante (IAE) demostró que con el tratamiento previo de pulsación mejora la capacidad emulsionante, obteniendo valores de 274.87 y 266.53 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ en los tratamientos de 60 y 90 s, respectivamente. En cuanto a la estabilidad emulsificante (IEE), los pulsos de 60 y 90 s obtuvieron valores de 514.28 y 413.49 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, mientras que el de 30 s resultó tener una estabilidad menor, con 243.52 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. Por lo tanto, la aplicación de ultrasonido permite orientar mejor a la proteína y crear una mejor interacción de las proteínas con el aceite.

La capacidad espumante (CE), con 30 s de tiempo de pulsos de ultrasonido, fue de 89 %, siendo este tratamiento el valor máximo. Por otra parte, los tratamientos de 60 y 90 s obtuvieron valores de 70 y 75 %, respectivamente. Asimismo, los valores de la estabilidad espumante (EE) fueron de 64.04, 66.09 y 70.61%, en los tratamientos de 30, 60 y 90 s, respectivamente. Como puede apreciarse, la aplicación de ultrasonido favorece las propiedades funcionales estudiadas, ya que ocurre una desnaturalización, permitiendo la exposición de regiones hidrofóbicas y una interacción en la interface del sistema, obteniendo mayor estabilidad.

De acuerdo con la hidrofobicidad de superficie, los resultados mostraron que en la concentración de 1.5 mg mL^{-1} y al tratamiento de 90 s hay una mayor exposición de grupos hidrofóbicos.

Por otra parte, los valores reportados de viscosidad demuestran un incremento en temperaturas entre 45-50 °C, tanto en los tratamientos con ultrasonido, como en el control (no pulsado). Los resultados obtenidos en dicho estudio indican que las propiedades funcionales de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante aumentan con la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta energía.

INTRODUCCIÓN

El calamar gigante *Dosidicus gigas* (D'Orbigny, 1835) ha representado una de las pesquerías más importantes en el Golfo de California, localizado en la región noroeste del Pacífico mexicano. Este molusco cefalópodo, considerado endémico del Pacífico oriental, se distribuye desde California hasta Chile. (Nesis, 1983, Ehrhardt *et al.*, 1986). Dentro del Golfo de California llega a alcanzar tallas de hasta 120 cm de longitud de manto (lm) y pesos de hasta 35 kg (Nevárez-Martínez, 2000; Ehrhardt *et al.*, 1986).

El calamar gigante puede habitar aguas con profundidad de hasta 500 m aproximadamente; donde los adultos viven en aguas con temperaturas entre 26 y 28 °C o incluso menores.

Su longevidad es alrededor de 1 año, para especies del hemisferio norte, y su mortalidad después del desove es alta (FAO, 2015). Se alimenta de peces mictófidios, sardinias, macarelas, engraúlidos, carángidos (Ehrhardt, 1991), así como de crustáceos y otros cefalópodos (Markaida, 2001).

El atractivo comercial del calamar gigante radica en su bajo costo, bajo contenido de grasa, así como lo insípido y blanco de su carne, además de su alto rendimiento, ya que puede aprovecharse hasta 75 % de sus partes después del eviscerado. Sin embargo, el consumo nacional de calamar es bajo, debido a que ha sido poco difundido a pesar de las características mencionadas.

Actualmente en México, el 89% de la producción pesquera del calamar gigante se destina a la exportación, principalmente a mercados asiáticos, en tanto que el 11% restante se comercializa en el mercado nacional, principalmente fresco, congelado, precocido, tentáculos o "bailarina" (cabeza con tentáculos) y aleta (Salinas *et al.*, 2003). En todos los casos se identifican productos no terminados, por lo que muchos de los productos en base a calamar gigante, que se exportan, son materias primas intermedias para otras industrias, por lo que son productos clasificados con un valor agregado medio.

En Sonora, el creciente aumento de volúmenes de captura total de la pesquería del calamar gigante en la última década ha representado una fuente económica muy importante. Y a pesar de su calidad nutricional, sigue siendo un recurso subvalorado y con un bajo consumo en el estado (Luna *et al.*, 2006; Cortes *et al.*, 2008).

Con el fin de aumentar su valor y promover su consumo, varias investigaciones se han llevado a cabo en la obtención de concentrados de proteínas a partir del manto del calamar gigante. No obstante, el proceso convencional para la producción de los mismos genera

grandes volúmenes de efluente con alto contenido de proteína soluble, llamadas proteínas sarcoplásmicas, que puede causar problemas de contaminación si no se tratan antes de su eliminación (Park y Morrissey, 2000).

Las proteínas sarcoplásmicas son fundamentalmente las albúminas y globulinas. Se localizan dentro del sarcolema y son solubles en agua o en soluciones salinas de baja molaridad (< 50 mM). Comprenden cerca del 30 a 35 % de las proteínas totales del músculo (Xiong, 1997). Se caracterizan por ser buenos agentes emulsificantes y por tener buena capacidad de retención de agua, evitando las pérdidas de humedad por cocción u otros procesos. (Badui, 2006). Lo anterior demuestra que este tipo de proteínas tienen potencial para utilizarse dentro de la industria alimentaria. Su recuperación a partir de los efluentes generados, no sólo reduciría problemas de contaminación por su desecho, sino que también podría promover un mejor aprovechamiento de los recursos marinos (Yongsawatdigul y Hemung, 2010).

En la industria de alimentos, los ultrasonidos de alta intensidad han demostrado ser una tecnología efectiva para el procesamiento y la preservación de los alimentos. Su aplicación tiene la finalidad de mejorar las propiedades químicas, físicas y funcionales en diversos alimentos.

El ultrasonido es una técnica para caracterizar los materiales mediante ondas mecánicas de alta frecuencia, por arriba de 20 KHz, que son transmitidas a través del material (Saggin, 2002). Se puede aplicar para desnaturalizar enzimas, facilitar la extracción de compuestos valiosos de plantas y semillas, ablandar carne y homogeneizar o dispersar sistemas bifásicos, tales como emulsiones o suspensiones (Mason y Cordemans, 1996).

Actualmente se observa un mayor desplazamiento e interés en los ultrasonidos de alta intensidad, ya que su propagación sobre material biológico induce la compresión y descompresión de las partículas, trayendo consigo modificaciones en las propiedades fisicoquímicas y a su vez, mejoramiento en la calidad de varios sistemas. Entre las áreas más estudiadas, destacan el mejoramiento de las propiedades funcionales de las proteínas, ya que se les considera fundamentales para mantener atributos organolépticos y mayor aceptabilidad en los alimentos (Gülseren *et al.*, 2007).

Por lo anterior y considerando al calamar gigante como una materia viable de acuerdo a las características mencionadas, en la presente investigación se estudiará el efecto que tienen los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en las propiedades funcionales de las proteínas sarcoplásmicas del calamar.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia sobre las propiedades funcionales de las proteínas sarcoplásmicas obtenidas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Objetivos Específicos

- Obtener proteína sarcoplásmica del calamar gigante.
- Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos sobre las propiedades emulsificantes y espumantes de proteínas sarcoplásmicas de la solución proteica.
- Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos sobre la hidrofobicidad superficial y la viscosidad de proteínas sarcoplásmicas de la solución proteica.

ANTECEDENTES

Pesquería del Calamar Gigante

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es una especie oceánica y nerítica del Océano Pacífico oriental que se distribuye aproximadamente entre 40 °N y 45 °S (Nigmatullin *et al.*, 2001), es uno de los cefalópodos con mayor talla, el más abundante y grande de los calamares de América del Sur (FAO, 2008).

En México, las principales zonas en donde se ha explotado se localizan en un área delimitada por los 22° y 29° latitud norte y los 106° y 114° longitud oeste, es decir, rodea desde la boca del Golfo de California hasta Santa Rosalía, Baja California Sur y Guaymas, Sonora; por la parte interior del Golfo, y hasta la altura de Bahía Magdalena, por la Costa del pacífico (Salinas *et al.*, 2005). En la Figura 1 se muestra la zona de pesca del calamar gigante en el Golfo de California.

La actividad de esta pesquería se extiende durante todo el año en el Golfo, sólo que presenta un patrón de migración muy particular, concentrándose frente a las costas de Baja California Sur en primavera y verano, y frente a las costas de Sonora en otoño e invierno (Hernández-Herrera *et al.*, 1998; Salinas-Zavala *et al.*, 2003).

La pesquería del calamar gigante en sus inicios se hacía de manera artesanal, lo cual se tradujo en baja producción y un consumo meramente local. No obstante, para los años de 1978 a 1981, la captura de calamar gigante alcanzó su primer periodo de máximas capturas, esto gracias a la presencia de altas concentraciones de la especie, así como al periodo de veda de camarón, lo cual provocó que parte de la flota camaronera se incorporara a la captura del calamar gigante, así como algunos buques japoneses, a través de empresas de co-inversión de capital mexicano y japonés (Klett, 1996).

En el período 1990-2003 su producción experimentó una tasa media de crecimiento anual de 50 % hasta 1997, presentando posteriormente una disminución drástica, la cual fue recuperándose hasta 2002 (SAGARPA-CONAPESCA 2003).

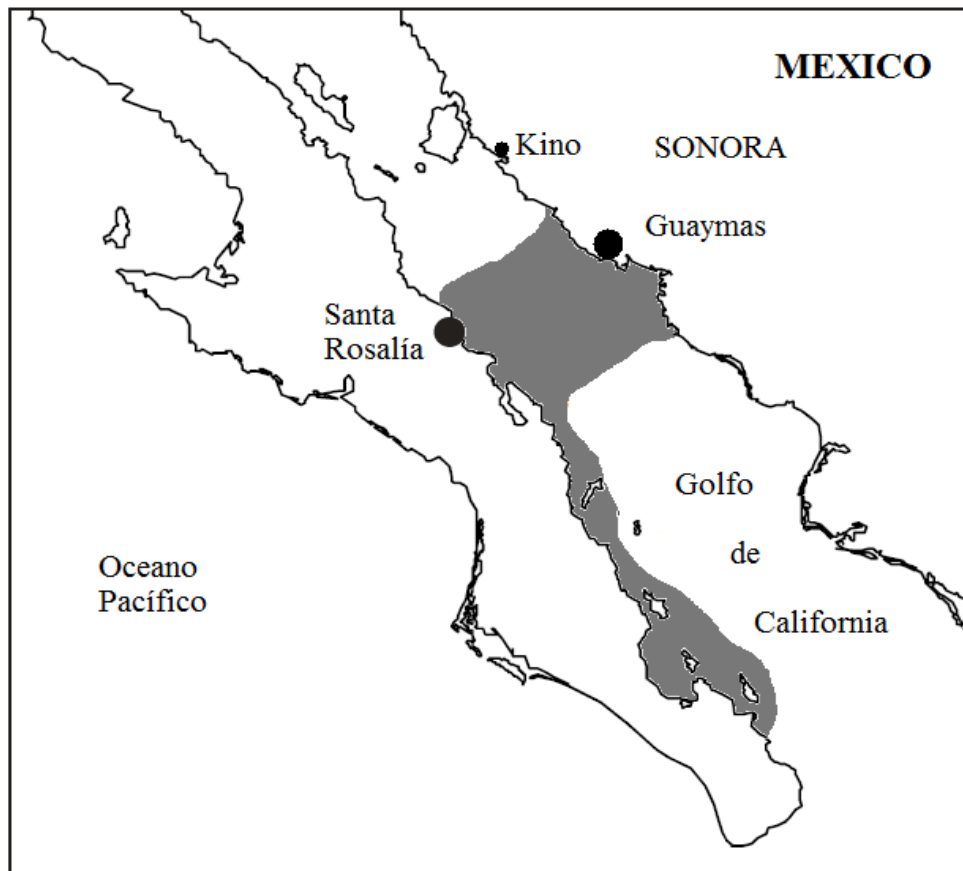


Figura 1. Zonas de pesca del calamar gigante en el Golfo de California (Bazzino *et al.*, 2007).

Generalidades del Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

El calamar gigante es un molusco marino cefalópodo que pertenece a la familia *Ommastrephidae*. Es conocido como calamar del Pacífico, calamar jumbo, calamar de Humboldt, jibia o pota; fue descrito originalmente por D'Orbigny en 1835, cuyo nombre científico es *Dosidicus gigas* (Nigmatullin *et al.*, 2001).

El calamar gigante es un invertebrado con un sistema nervioso complejo y una vista bien desarrollada, además presenta un crecimiento rápido (Cárdenas y Haard, 2005).

Su cuerpo es alargado, cilíndrico, afilado y flexible, posee dos ojos prominentes, dos aletas laterales y una concha interna llamada pluma o cálamo, que se extiende a lo largo del cuerpo. Por encima de la cabeza se extiende el manto, que es una envoltura en donde se encuentran suspendidos el tórax, el corazón, el estómago y el resto de las vísceras. Alrededor de la boca tiene una corona de ocho tentáculos que poseen de 100 a 200 diminutas ventosas, además de dos brazos con los que captura a sus presas (Guerrero *et al.*, 2009). Las características anatómicas del calamar gigante aparecen en la Figura 2.

El porcentaje aproximado de las diferentes partes del calamar entero es la siguiente: manto 48 %, tentáculos 16 %, cabeza 10 %, aletas 14 % y vísceras 10 %. Siendo el manto la parte mayoritaria de su cuerpo, pues envuelve las vísceras y consiste de 5 diferentes capas de tejido (Martinez *et al.*, 2000).

La capa dominante está formada por bandas ortogonales (Lluch *et al.*, 2001) de fibras musculares, intercaladas entre dos túnicas de tejido conectivo (Otwell y Giddings, 1980). Las túnicas interna y externa están cubiertas por un revestimiento visceral y uno exterior, respectivamente.

La capa de fibra muscular está colocada entre las túnicas, exterior e interior de tejido conectivo, estando conectadas las fibras de las bandas radiales con las dos túnicas (Otwell y Giddings, 1980). Cada fibra contiene en sus periferias una determinada cantidad de miofibrillas. El centro está representado por el sarcoplásma con mitocondria y núcleo.

La túnica exterior, que consiste de capas de fibras de colágeno, está adyacente a una capa externa, compuesta también de fibras de tejido conectivo, las cuales se ubican justo por debajo de la piel.

La túnica interna, la cual tiene ligeramente ligados e interconectados agregados fibrosos, está cubierta por una capa visceral no fibrosa (Otwell y Giddings, 1980).

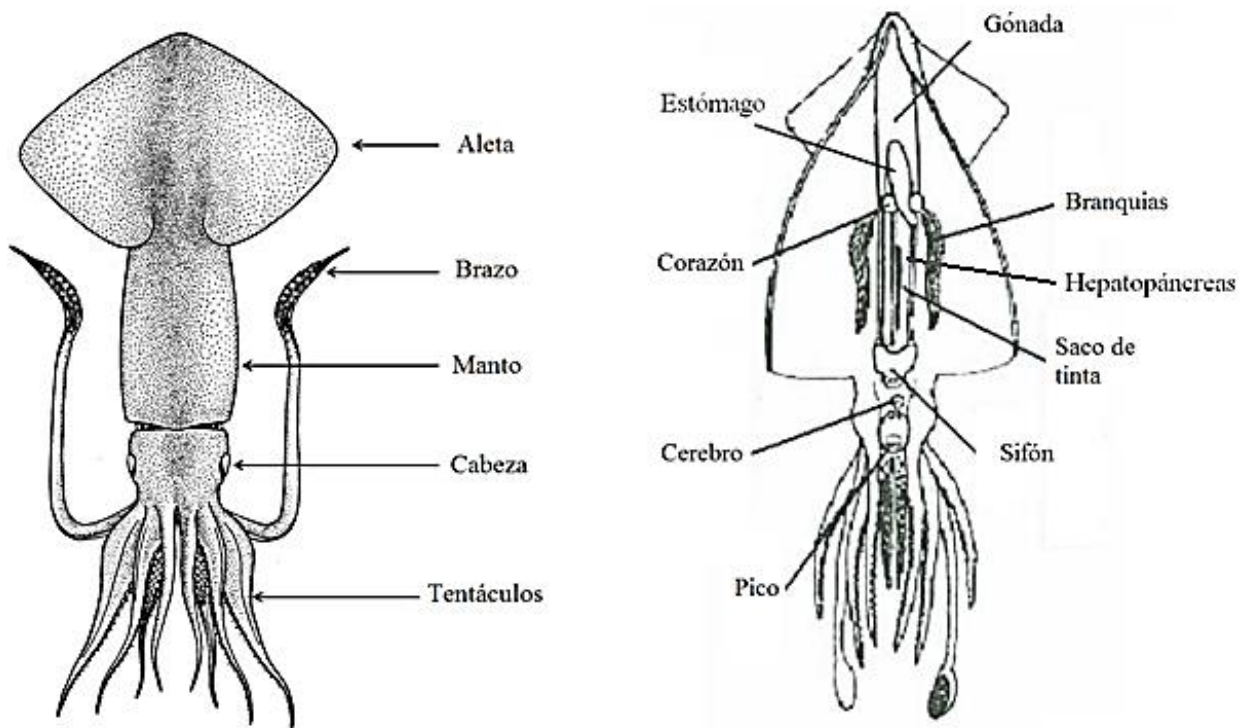


Figura 2. Anatomía externa e interna del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) (Nevárez, 2002).

Composición Química del Tejido Muscular

La composición química del músculo de calamar gigante puede variar dependiendo del estado de su desarrollo, estación del año en que es capturado, sitio de pesca, y si fue capturado antes o después de haber desovado (Potter, 1978).

En general la composición química del manto de calamar y los tentáculos es similar a la de los pescados magros, conteniendo un 75.0 – 84.0 % de humedad, 13.0 – 22.0 % de proteína cruda, 0.1 – 2.7 % de lípidos y 0.9 – 1.9 % de minerales. Del total de proteína cruda, alrededor del 37.0 % lo representan los compuestos nitrogenados no proteicos, mientras que los lípidos del manto están compuestos principalmente por fosfolípidos, conteniendo alrededor de 4.0 % de colesterol (Sikorski *et al.*, 1986).

Proteínas del Tejido Muscular

La composición del tejido muscular varía, entre otros factores, con la edad, género, especie y estado de nutrición, siendo las proteínas las que constituyen la fracción más importante.

Las proteínas constituyen el componente mayoritario de la materia seca del músculo, son elementales para determinar la calidad sensorial y nutritiva de alimentos de origen muscular, como carnes rojas, pescados y mariscos (Badui, 1993)

Las proteínas del músculo desempeñan un papel fundamental en su función biológica, tanto *in vivo* como en los procesos *postmortem*, y se clasifican como miofibrilares, estromales y sarcoplámicas (Ponce, 2006).

Proteínas Miofibrilares

Las proteínas miofibrilares son las más abundantes, ya que constituyen el 55-60 % del total de proteínas del músculo y forman su estructura fibrosa. Son solubles en soluciones salinas concentradas y, entre las principales se encuentran: miosina, actina, tropomiosina, troponina y actinina

Las proteínas miofibrilares son aquellas que conforman estructuralmente el tejido muscular y se encargan de transformar la energía química en mecánica, durante la contracción y relajación muscular (Badui, 2006).

En general las proteínas miofibrilares de organismos marinos son menos estables al calor que las animales terrestres, aunque esta característica depende de la temperatura del

hábitat de cada especie; además, son más susceptibles a hidrólisis enzimática y son más solubles en agua (Niwa, 1992; Guerrero *et al.*, 2009).

Proteínas Estromales

Las proteínas estromales conforman el tejido conectivo fuerte de los huesos, piel y las capas rígidas que soportan y envuelven los músculos. Sólo representan el 13 % del tejido muscular.

Estas proteínas son insolubles en agua o en soluciones salinas y las principales son el colágeno, reticulina y elastina. (Badui, 2006).

El músculo del calamar se caracteriza principalmente por ser blanco y magro, y en comparación con el músculo de los peces presenta diferencias marcadas con respecto al tipo y organización de las proteínas miofibrilares, ya que sus proteínas son más solubles en agua, menos susceptibles a la congelación y más propensas a la desnaturalización térmica (Ramírez-Olivas *et al.*, 2004).

Proteínas Sarcoplásmicas

Las proteínas sarcoplásmicas o hidrosolubles (20-30 % del total) poseen características similares a las de los productos cárnicos, aunque con menores cantidades de proteínas coloreadas (mioglobina y citocromo C) (Ordóñez, 1998).

La mayoría de las proteínas sarcoplásmicas tienen estructura terciaria globular, en contraste con las conformaciones fibrilares o en forma de varilla que presentan las proteínas miofibrilares, miosina y actomiosina (Lanier *et al.*, 2013).

Las proteínas sarcoplásmicas presentan pesos moleculares relativamente bajos (entre 10 y 100 kDa) en comparación con las proteínas miofibrilares y/o estromales. Dichas características son las responsables de que las proteínas sarcoplásmicas presenten solubilidad en agua y/o en soluciones de baja fuerza iónica ($I < 0.05$ M) (Kijowski, 2001).

Otros constituyentes solubles en el sarcoplasma de organismos de origen marino comprenden los péptidos, aminoácidos, aminos, guanidina, purinas, urea. Todos ellos tienen un papel fundamental en la regulación del metabolismo celular, directamente en la catálisis enzimática, osmoregulación y transporte celular. Además son responsables de las características sensoriales como aroma, sabor y textura, tanto del tejido fresco como de los productos procesados (Ochiai y Chow, 2000).

La fracción sarcoplásmica está constituida por una gran familia de proteínas, en donde se incluyen muchas enzimas involucradas en diversas funciones biológicas, incluyendo el metabolismo energético celular (glucolisis, ciclo del ácido cítrico, glucogenólisis, entre otros), así como síntesis y degradación proteica (Scopes, 1970; Nakagawa *et al.*, 1988; Damodaran, 2008).

Las proteínas sarcoplásmicas se caracterizan por ser buenos agentes emulsificantes y por tener buena capacidad de retención de agua, evitando las pérdidas de humedad por cocción u otros procesos, también tiene la capacidad de coagular y de formar geles de distintas texturas (Badui, 2006).

Propiedades Funcionales de las Proteínas

En los alimentos, las proteínas son principalmente las responsables de dar la funcionalidad. Las propiedades funcionales son atributos de compuestos o aditivos alimentarios que, a una apropiada concentración y en condiciones adecuadas, proveen características sensoriales deseables, principalmente características reológicas, como la viscosidad, cuerpo, jugosidad, textura y aireación.

Las proteínas manifiestan tales propiedades funcionales al interactuar con el solvente, iones y otras macromoléculas, como los lípidos en el fenómeno de superficie (Sikorski, 2001).

Las propiedades funcionales de las proteínas desempeñan un papel importante en la fabricación y en los atributos de la calidad del alimento. Se dividen en propiedades de hidratación, propiedades de superficie y propiedades basadas en la interacción proteína-proteína (Totosaus y Guerrero, 2006).

Las principales propiedades funcionales de las proteínas en los alimentos son: solubilidad, capacidad de retención de agua, capacidad gelificante, emulsionante y espumante. Todas ellas de gran importancia en la industria alimentaria (Raghavan y Hordur, 2007).

Propiedades Emulsificantes de las Proteínas

Las emulsiones son sistemas dispersos de uno o más líquidos inmiscibles, se estabilizan por emulsificantes. Estos últimos son compuestos que forman películas de interfaz para evitar la dispersión de las fases que fluyen juntas.

Debido a su naturaleza anfipática, las proteínas pueden estabilizar emulsiones. Esta propiedad se aprovecha en gran escala en la producción de preparaciones alimenticias (Belitz *et al.*, 2009).

Propiedades Espumantes de las Proteínas

Las espumas son dispersiones de gases en líquidos. Las proteínas se estabilizan por la formación de películas flexibles y cohesivas en torno a las burbujas de gas.

Durante el impacto, la proteína es adsorbida en la interfaz a través de zonas hidrofóbicas, lo que es seguido por un desdoblamiento parcial (desnaturalización de la superficie).

La reducción de la tensión superficial causada por la adsorción de proteínas facilita la formación de nuevas interfaces y de burbujas de gas, esto está asociado al parcial desdoblamiento de las proteínas (Belitz *et al.*, 2009).

Hidrofobicidad de superficie (S_0)

Las proteínas globulares se pliegan de manera que sus residuos de aminoácidos hidrofóbicos quedan en el interior de su estructura, esto por ser la conformación más estable (Mathews *et al.*, 2002).

La hidrofobicidad de la superficie en las proteínas es considerada uno de los principales factores que afectan las propiedades como la solubilidad, propiedades emulsionantes y espumantes de los péptidos y proteínas (Damodaran, 2008).

La hidrofobicidad de superficie determina la distribución y el grado de exposición de las regiones hidrofóbicas de las proteínas, ya que durante su plegamiento los residuos polares están expuestos hacia el exterior del sistema proteico, mientras que los residuos apolares ocupan el interior del sistema para disminuir el contacto con el agua (Marín-Martínez, 2002).

Uno de los métodos para el análisis de la hidrofobicidad de superficie en proteínas alimentarias es monitorear la intensidad de fluorescencia intrínseca de los aminoácidos aromáticos fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) y triptófano (Trp). Estos aminoácidos absorben radiación ultravioleta y emiten fluorescencia en el siguiente orden: Phe 260/ 283 nm, Tyr 275/303 nm, Trp 283/ 343 nm (López 2015).

Para cuantificar la intensidad de fluorescencia de las proteínas se puede hacer mediante métodos que utilizan sondas fluorescentes (Li-Chan, 1999).

El reactivo fluorescente 1-anilino-8-naftaleno-sulfonato (ANS) ha sido ampliamente utilizado para medir la hidrofobicidad de proteínas (Alizadeh-Pasdar y Li-Chan, 2000; Sikorski, 2007), la fluorescencia de la sonda ANS es débil a soluciones acuosas, por lo que se permite la unión con residuos aromáticos acuosos.

Pulsos Ultrasónicos

Mucho se ha estudiado sobre las alternativas para mejorar las propiedades funcionales de las proteínas, y una de las tecnologías que ha tomado mayor auge en la industria de alimentos es la aplicación de pulsos ultrasónicos.

El ultrasonido es definido como una onda de sonido de alta frecuencia que excede el límite del oído humano (~20 kHz). Su mecanismo funcional se basa en hacer pasar ondas que crean regiones de alta y baja presión, esta variación de presión acústica es directamente proporcional a la cantidad de energía aplicada al sistema.

El ultrasonido se puede clasificar en dos categorías: de baja intensidad ($1\text{W}/\text{cm}^2$), con frecuencia de 5-10 MHz y, alta intensidad ($10\text{-}1000\text{ W}/\text{cm}^2$), con frecuencias de 20-100 kHz (Arzeni *et al.*, 2012; Bouaouina *et al.*, 2006).

Arzeni *et al.* (2012) llevaron a cabo una evaluación comparativa de los efectos de ultrasonidos de alta energía, sobre la funcionalidad de proteínas en alimentos, comprobando que las propiedades como gelificación, viscosidad y solubilidad, están relacionadas con la modificación molecular y el aumento de la hidrofobicidad y variación en los tamaños de partícula.

Los ultrasonidos de alta energía son una alternativa en la mejora de solubilidad de proteínas de diferentes orígenes alimenticios, lo cual ha sido reportado en diferentes trabajos, destacando principalmente un aumento de solubilidad, disminución de partícula de la proteína y mejoramiento de sus propiedades funcionales (Arzeni *et al.*, 2012; Jambrak *et al.*, 2009; Morales *et al.*, 2015).

Por lo tanto, el ultrasonido actualmente se ha considerado una herramienta que, apuesta al estudio y evaluación del comportamiento de las proteínas. Existen evidencias que permiten fundamentar su efectividad para mejorar las propiedades físicas y funcionales de diversas proteínas.

Efecto de Pulsos Ultrasónicos sobre la Propiedad Emulsificante de las Proteínas

Actualmente, la aplicación de ultrasonidos de alta energía representa una alternativa de interés para mejorar la capacidad emulsionante.

Se han reportado mejoras como el aumento de volumen de la fase dispersa, disminución del tamaño de gota, bajo grado de floculación y mayor estabilidad a la formación de cremado, e incluso, se ha reportado la formación de nanoemulsiones comestibles (Abbas *et al.*, 2013; Jambrak *et al.*, 2009; Pongsawatmanit *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2014).

En este sentido, O'Sullivan *et al.* (2014) estudiaron el efecto de la aplicación de ultrasonidos (20 kHz-95 % de amplitud) en diferentes periodos (15, 30, 60 y 120 s), sobre los cambios estructurales y propiedades emulsificantes de tres proteínas de leche; caseinato de sodio (NaCas), aislado proteico de suero de leche (WPI) y aislado de proteína de leche (MPI), en concentraciones de 0.1 a 5 % (w/v).

Como resultado, las emulsiones obtenidas de NaCas y WPI no mostraron cambios significativos en el tamaño de partícula; mientras que la emulsión de MPI y Tween 80 generaron micropartículas $> 1 \mu m$ a bajas concentraciones ($\leq 1wt \%$).

Este efecto fue atribuido a la disminución en la tensión interfacial de las películas formadas, lo cual dio pie al rompimiento de las gotas durante la emulsificación, sin embargo, las emulsiones de MPI ($\leq 1wt \%$) tratadas con ultrasonido mostraron una mayor estabilidad (27 días) con respecto a las que no se les aplicó ultrasonido (7 días). Estos investigadores concluyeron que el ultrasonido mejora la estabilidad y formación de emulsiones, principalmente en aislado de proteína de leche.

Efecto de Pulsos Ultrasónicos sobre la Propiedad Espumante de las Proteínas

Se ha documentado que la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta energía, con la finalidad de mejorar las propiedades espumantes, ha dado buenos resultados, debido a una mayor estabilidad, mejor volumen, disminución del tamaño de partícula, etc., (Pilosof y Bartholomai, 2000; Jambrak *et al.*, 2009; Jambrak *et al.*, 2008; Lim y Barigou, 2005; Arzeni *et al.*, 2012; Morales *et al.*; Tan *et al.*, 2015).

En otro estudio, Jambrak *et al.* (2008) reportaron un incremento en la solubilidad y formación de espumas en suspensiones de proteína de suero.

Zhang *et al.* (2011) evaluaron el cambio en la propiedad espumante de proteínas de gluten de trigo, al aplicar ultrasonido de alta energía (20 kHz/10 min). Estos investigadores reportaron una mayor difusión interfacial aire-agua, gracias al aumento de cohesividad y flexibilidad en las espumas.

Lo anterior fue atribuido a la desnaturalización parcial durante la aplicación de ultrasonidos, ya que se observó un incremento de la temperatura (60 °C), lo cual permite la exposición de algunas regiones hidrofóbicas presentes en las proteínas del gluten de trigo, y a su vez, interactuar en la interface de este sistema permitiéndole dar mayor estabilidad.

Otra proteína que ha sido estudiada es la proteína de soya. Morales *et al.* (2015) aplicaron ultrasonidos de alta energía (durante 5, 10, 15 y 20 min) con la finalidad de observar la modificación de las propiedades espumantes en aislados de proteínas de soya.

La aplicación de ultrasonidos incrementó significativamente la capacidad espumante en las muestras tratadas durante 5 minutos, aumentando un 62 % respecto a la proteína no tratada. La aplicación de ultrasonidos mejoró la propiedad espumante del aislado de proteína de soya, al verse mejorados el volumen, tamaño de partícula, así como la hidrofobicidad.

HIPOTESIS

Las propiedades funcionales (emulsificantes y espumantes) de las proteínas sarcoplásmicas obtenidas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) se verán favorecidas por la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta energía.

MATERIALES Y METODOS

Materia Prima

Para el presente estudio se utilizó manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), el cual fue comprado en un establecimiento comercial de la ciudad de Hermosillo, Sonora. Posteriormente fue transportado a las instalaciones de la Universidad de Sonora, dentro del Laboratorio de Marinos del Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos, e inmediatamente fue dividido en secciones, se lavó, enhieló en bolsas de polietileno y congeló a -20 °C hasta su utilización.

Obtención de Proteína Sarcoplásmica

100 g de manto del calamar gigante y se homogeneizó con 300 mL de agua a una temperatura de 5 °C, empleando para ello, un homogeneizador de tejido (Biospec Products Inc., Bartlesville, OK). Posteriormente se centrifugó a 12,000 x g durante 20 minutos a 4 °C (Thermo Scientific; Sorvall Biofugue Stratos; MA, USA), obteniéndose dos fracciones: una sólida, la cual fue descartada y una líquida, que se consideró como proteína sarcoplásmica.

Aplicación de Pulsos Ultrasónicos

A la solución proteica se le aplicaron pulsos ultrasónicos de alta intensidad con un sonicador (Branson, Digital Sonifier 250) a frecuencias de 20kHz y 20% de amplitud a un tiempo de 0, 30, 60 y 90 s con 10 s de descanso, manteniendo una temperatura de 4 °C. Posteriormente con cada tratamiento se llevaron a cabo los siguientes procedimientos.

Evaluación de Propiedades Funcionales

Propiedad Emulsificante

Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

El Índice de actividad emulsionante (IAE) se determinó de acuerdo con Pearce y Kinsella (1978) con ligeras modificaciones. La solución proteica se ajustó a una concentración de 3 mg mL⁻¹ con

agua destilada. Posteriormente en un tubo se agregó 10 mL de esta solución y se homogenizó con 10 mL de aceite de maíz comestible, utilizando un homogeneizador (Biospec Products Inc., Bartlesville, OK), durante 1 min a una velocidad de 12000 rpm. Después de un minuto de que se formó la emulsión, se tomaron alícuotas de 200 μL de la parte inferior del tubo y se diluyeron con 40 partes de una solución de SDS al 0.1 %. La dilución fue mezclada suavemente en un tubo y se tomó la absorbancia a 500 nm con un espectrofotómetro de UV-Visible (Cary 50; Varian; CA, USA). El IAE se calculó utilizando lo establecido en las ecuaciones 1 y 2:

$$\tau = \frac{2.303 \times A_{500} \times F}{l} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$IAE (m^2 g^{-1}) = \frac{2\tau}{\phi C} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde τ es la turbidez, A_{500} es la absorbancia a 500 nm, F es el factor de dilución (40), l es la longitud de la trayectoria de luz (1 cm). Las fracciones en volumen del aceite de las emulsiones (ϕ) fue 0.5; C es la concentración de proteína (0.3 mg mL⁻¹).

Índice de Estabilidad Emulsificante (IEE)

Se determinó de acuerdo a lo descrito por Pearce y Kinsella (1978) con ligeras modificaciones.

De las emulsiones obtenidas después de 10 min en el IAE, se tomaron alícuotas de 200 μL y se diluyeron con 40 partes de una solución de SDS 0.1%, antes de la medición de su turbidez a 500 nm. El IEE se determinó aplicando la ecuación 3.

$$IEE (min) = \frac{\tau \times \Delta t}{\Delta \tau} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde $\Delta \tau$ es el cambio de turbidez después del intervalo de tiempo Δt (10 min) independientemente del signo.

Propiedad Espumante

Capacidad Espumante

La capacidad espumante fue determinada por el método propuesto por Sathe y Salunkhel (1981) con modificaciones. La solución proteica se ajustó a una concentración de 3 mg mL⁻¹ con agua destilada. Se utilizaron 50 mL de solución de proteína diluida y se homogeneizó a 6000 rpm por 3 min utilizando un homogeneizador (Biospec Products Inc., Bartlesville, OK).

Posteriormente, se vertió inmediatamente en una probeta graduada para medir el volumen de la espuma formada después de 1 min, y el incremento de volumen fue expresado como porcentaje de capacidad espumante (CE) (Ecuación 4).

$$CE (\%) = \frac{\text{Volumen de la espuma (mL)}}{\text{Volumen del líquido inicial}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

La capacidad espumante fue calculada por el volumen de espuma al minuto cero.

Estabilidad de la Espuma

La estabilidad espumante fue determinada por el método propuesto por Sathe y Salunkhel (1981) con modificaciones. La EE fue calculada como porcentaje de la espuma restante después de 30 min a 25 °C (Ecuación 5).

$$EE (\%) = \frac{\text{Volumen de la espuma (mL) restante después de 30 min}}{\text{Volumen de la espuma inmediato a la homogenización}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

Viscosidad

Para evaluar la viscosidad se utilizó un reómetro (Modular Compact Rheometer MCR 102, Anton Paar). Se utilizaron 20 mL de la solución proteica con concentración de 3.0 mg mL⁻¹. Se hizo un barrido de temperatura de 10 a 90 °C con una rampa de 2 °C/min (Murrieta-Martínez *et al.*, 2015).

Hidrofobicidad de Superficie (S_0)

La solución de proteína (3.0 mg mL^{-1}) fue diluida serialmente para proveer proteína en el rango de 0.325 a 1.5 mg mL^{-1} . Se adicionó $30 \text{ }\mu\text{L}$ de 1-anilino-8-naphthalenesulfonate (ANS) a 4 mL de la proteína sarcoplásmica y se dejó reposar en oscuridad durante 35 min . Posteriormente, 4 mL de la muestra fue excitada a 325 nm y la intensidad de la fluorescencia fue medida a 420 nm .

El índice de hidrofobicidad de superficie (S_0) resultó de la pendiente del gráfico intensidad de fluorescencia vs concentración de proteína (Kato y Nakai, 1980).

Análisis Estadístico

Las herramientas estadísticas empleadas fueron promedio y desviación estándar. Asimismo, con el objetivo de determinar la existencia de diferencias estadísticas entre los distintos tratamientos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, comparando medias por el método de Tukey con un nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de Proteína Sarcoplásmica

Para la extracción de proteínas sarcoplásmicas se siguió el procedimiento sugerido por De la Fuente-Betancourt *et al.* (2008), el cual consistió en realizar un solo lavado del manto del calamar gigante, homogenizando el músculo con agua destilada en relación 1:3 (manto: agua) y posteriormente fue centrifugado. Dicho procedimiento hace que las proteínas sarcoplásmicas con un solo lavado sean suficientes para su extracción, pues es fácil y eficiente.

En el presente estudio, el sobrenadante obtenido después de la centrifugación del manto del calamar gigante se consideró como la fracción sarcoplásmica, la cual presentó una concentración de proteína entre 3 – 3.5 mg mL⁻¹.

Propiedad Emulsificante

Las emulsiones alimentarias más comunes son del tipo aceite en agua, donde el aceite es la fase dispersa y, se encuentra bajo la forma de pequeñas gotitas o glóbulos dispersos, mientras que el agua es la fase continua dispersante (Sikorski, 2001).

Las propiedades emulsificantes de las proteínas sarcoplásmicas fueron evaluadas en función del índice de actividad emulsificante (IAE) e índice de estabilidad emulsificante (IEE), para ello se emplearon las soluciones de proteína sarcoplásmica (3mg mL⁻¹), previamente tratadas con pulsos de ultrasonido de alta intensidad.

Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

El índice de actividad emulsificante proporciona una medida del área interfacial que es cubierta por unidad de masa de proteína (m² g⁻¹) durante la formación de la emulsión, por lo tanto es un buen predictor de la actividad interfacial de las proteínas. El área interfacial se calcula a partir del tamaño de gota promedio de la fase dispersa de la emulsión, la cual es determinada por turbidimetría (Pearce y Kinsella, 1978).

Los valores de IAE para la solución de proteína sarcoplásmica en función al tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad se muestra en la Figura 3.

Los valores obtenidos del IAE de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) fueron 284,63 ± 3.83, 197.81 ± 0.91, 274.87 ± 2.43 y 266.53 ± 2.70 m²

g^{-1} para los tratamientos de 0, 30, 60 y 90 s, respectivamente, los cuales presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Siendo el tratamiento de 0 s (control) el valor de IAE más alto.

Sin embargo, los tratamientos de 60 y 90 s de pulsado muestran un aumento en la actividad emulsificante. Estos valores de IAE son superiores a los reportados por Yongsawatdigul y Hemung (2010) para proteínas sarcoplásmicas liofilizadas de pargo dorado (*Nemipterus* sp.) sin tratamiento de pulsos de alta energía, obteniendo un de IAE de $25 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$.

Asimismo, Hemung *et al.* (2013) sin tratamiento previo de pulsación, reportaron un valor de IAE de $210 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para proteínas sarcoplásmicas de esta misma especie de pargo dorado.

Los valores obtenidos en los últimos dos tratamientos del presente estudio, son mayores a las anteriores investigaciones mencionadas, esto puede deberse a la diferencia en el tipo y proporción de proteínas y/o péptidos presentes en los extractos de la fracción sarcoplásmica de estas especies (López 2014), además de la aplicación de ultrasonido de alta energía en dichos tratamientos, que mejora la capacidad emulsionante.

En estudios realizados por Sun *et al.* (2014), se evaluó el efecto del ultrasonido como pre-tratamiento, sobre las propiedades funcionales de concentrados de proteína de leche reconstituida (MPC). Estos investigadores aplicaron ultrasonidos (20 kHz) en MPC al 5 % (w/w) a una amplitud del 50 % a diferentes tiempos (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, y 5.0) con intervalos de descanso de 3 s por cada 5 s. Todo el proceso se hizo a temperatura constante ($< 50 \text{ C}$). Se encontró que el índice de actividad emulsificante (EAI) incrementó significativamente de manera proporcional a medida que se prologaba el tiempo de ultrasonido.

Por lo tanto, lo anterior supone que el concentrado de proteína de leche reconstituida cambio su estructura, aumentando así, la hidrofobicidad de superficie y flexibilidad, permitiendo una adsorción más efectiva de la proteína.

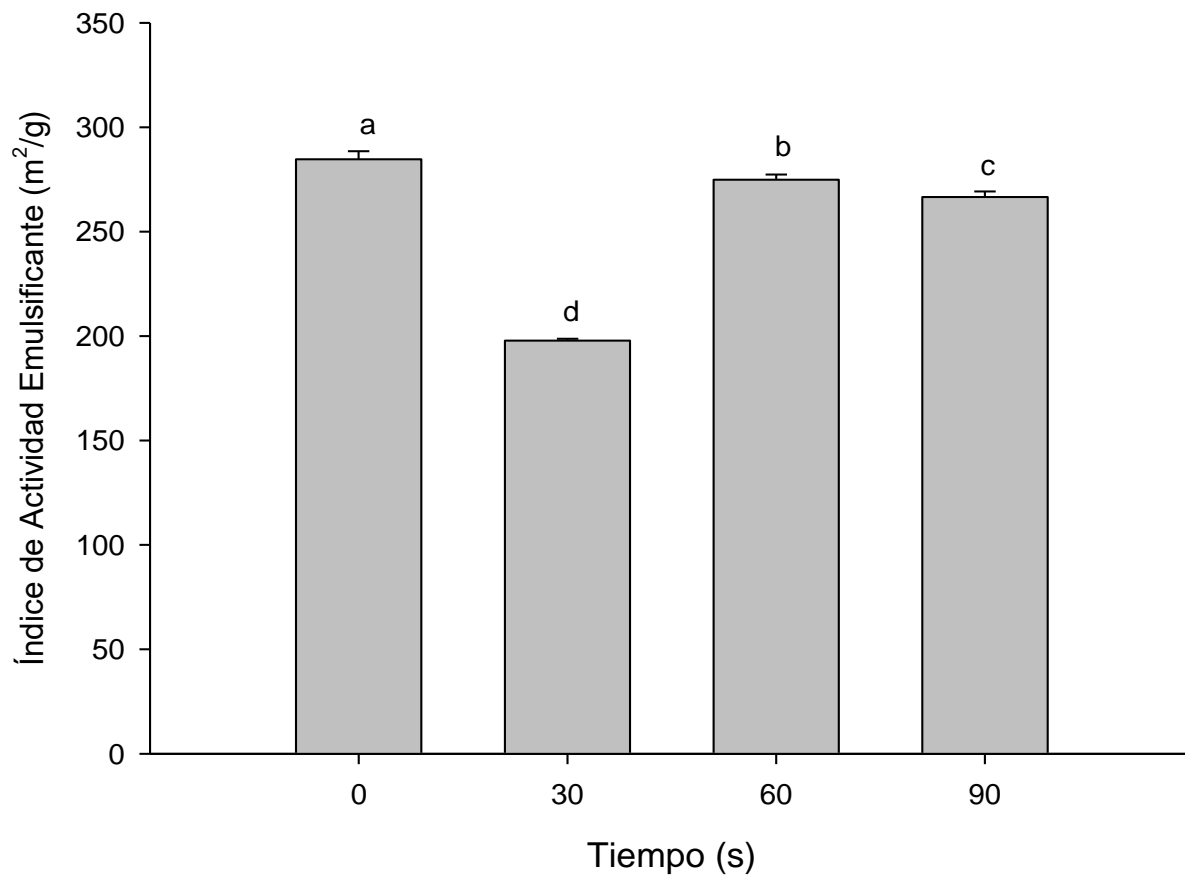


Figura 3. Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en el índice de actividad emulsificante (IAE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media \pm desviación estándar (n = 3)

Índice de Estabilidad Emulsificante (IEE)

El índice de estabilidad emulsificante es la medida del cremado de la emulsión en función del tiempo, indicando la capacidad de la película de proteína para estabilizar la emulsión y retrasar la agregación de las gotas de aceite. Este se mide relacionando el cambio del área interfacial cubierta después de un período de tiempo estandarizado (Damodaran, 2008).

Los valores de IEE para la solución de proteína sarcoplásmica en función al tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad se muestra en la Figura 4.

El valor del índice de estabilidad emulsificante de las proteínas sarcoplásmicas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) fue de 152.35 ± 24.91 , 243.52 ± 65.27 , 514.28 ± 102.06 y 413.49 ± 25.62 min, después de 0, 30, 60 y 90 s, respectivamente, los cuales mostraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$).

De igual forma, Sun et al. (2014) al evaluar el índice de estabilidad emulsificante, reportaron que el concentrado de proteína de leche reconstituida (MPC) incrementó significativamente. Este incremento se atribuyó al efecto turbulento durante la aplicación de ultrasonido, que permite orientar mejor la proteína y así crear una mayor integración de las burbujas de fase oleosa en emulsión.

Dickinson et al. (1995) reportaron que la estabilidad de una emulsión está relacionada con la formación de interacciones proteína- proteína, ya que las proteínas se absorben en la interface aceite- agua.

Lo anterior supone que, la estabilidad de la emulsión de las proteínas sarcoplásmicas, una vez absorbidas en la interface aceite- agua, pudieron estabilizarse mediante las interacciones entre proteínas de la misma interface.

Por lo tanto, queda claro que la aplicación del tratamiento de ultrasonido antes de la determinación de estabilidad, aumenta significativamente la propiedad de la proteína, permitiendo crear una mayor estabilidad.

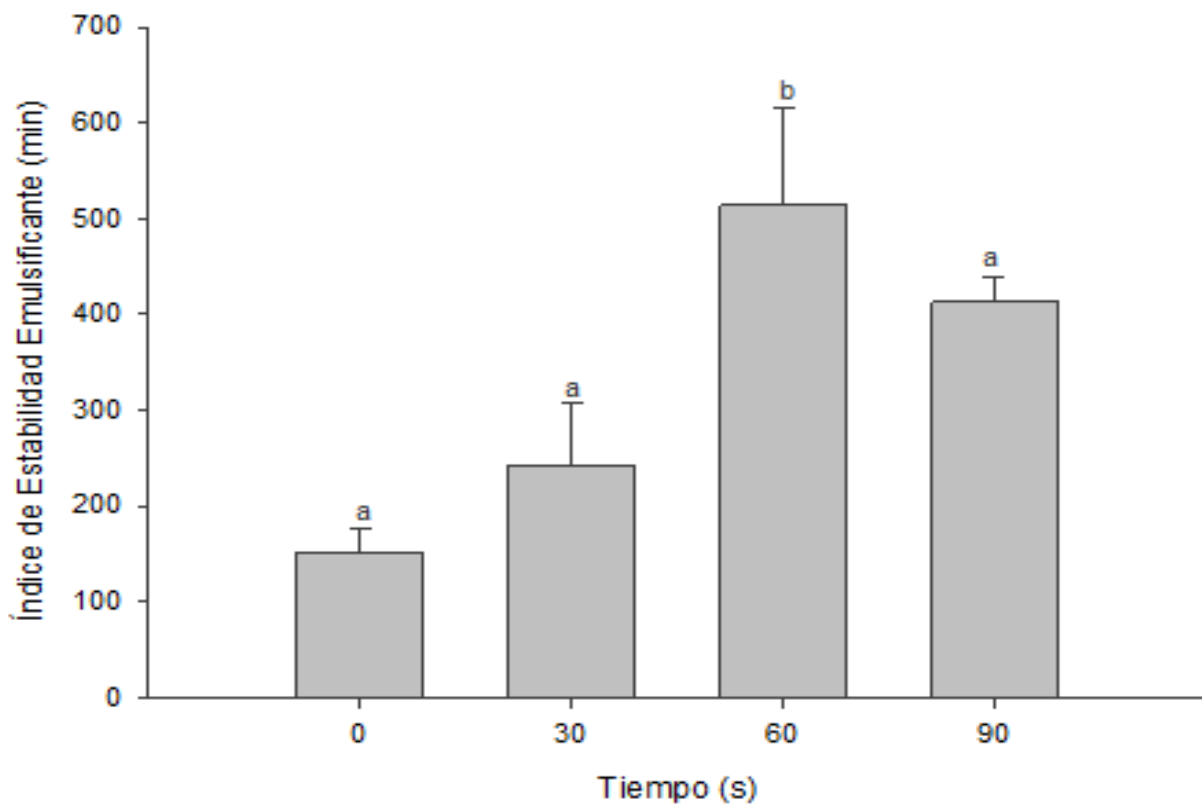


Figura 4. Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en el índice de estabilidad emulsificante (IEE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media \pm desviación estándar (n = 3)

Propiedad Espumante

La propiedad espumante de las proteínas se derivan de su capacidad para formar una película delgada y tenaz en las interfaces gas-liquido (formada por ellas), lo que permite la estabilidad de múltiples burbujas de agua (Fennema, 2000).

Las propiedades espumantes de las proteínas sarcoplásmicas fueron evaluadas en función de su capacidad y estabilidad espumante. Para ello, se emplearon las soluciones de proteína sarcoplásmica (3mg mL^{-1}) con pulsos de ultrasonido de alta intensidad.

Capacidad Espumante

La capacidad espumante (CE) de las proteínas se basa en la relación porcentual entre el volumen de espuma formada por la solución proteica, con el volumen de la solución total final. Esta propiedad es afectada principalmente por la hidrofobicidad de superficie de las proteínas (Kinsella *et al.*, 1984; Sikorski, 2001).

Los valores de CE para la solución de proteína sarcoplásmica en función al tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad se muestra en la Figura 5.

Se detectaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en los tratamientos de 0, 30, 60 y 90 s de pulsado con respecto a la capacidad espumante. De acuerdo a la figura 5, el valor significativamente mayor ($89 \pm 1.41\%$) de la CE es el tratamiento de 30 s.

Mientras que los tratamientos de 60 y 90 s obtuvieron valores de 70 ± 2.82 y $75 \pm 4.24\%$, respectivamente; dichos valores no son significativamente diferentes entre ellos.

Los resultados del presente estudio son superiores a lo reportado por Mohan *et al.* (2006) para proteínas sarcoplásmicas de rohu (*Labeo rohita*) con una concentración de 2.5 mg mL^{-1} , semejante a la utilizada en el presente estudio (3 mg mL^{-1}). Esta diferencia puede deberse a la aplicación de pulsos ultrasónicos antes de la determinación de CE.

Estudios similares han sido reportados por Morales *et al.* (2015), quienes aplicaron ultrasonidos de alta energía (durante 5, 10, 15 y 20 min) con la finalidad observar la modificación de las propiedades espumantes en aislados de proteínas de soya, con temperatura controlada y uso de temperaturas combinadas (75, 80 y 85).

La aplicación de ultrasonidos incrementó significativamente la capacidad espumante en las muestras tratadas durante 5 minutos, aumentando un 62 % respecto a la proteína no tratada. Hubo un incremento ligero para las muestras tratadas durante 20 minutos, aumentando un 75 %. Para los tratamientos en los que se aplicó ultrasonidos de alta energía, más

temperatura, incrementó un 202 % la capacidad espumante respecto a los tratamientos realizados a temperatura ambiente.

En este sentido, Jambrak *et al.* (2008) evaluaron el efecto del ultrasonido sobre las propiedades espumantes de proteína de suero de leche, utilizando concentrados de proteína (WPC), aislado de la proteína (WPI) e hidrolizado de proteína (WPH), todos al 10 % (w/w).

Se obtuvo una mayor capacidad espumante, ya que los sistemas fueron sometidos a ultrasonidos de alta energía (20 kHz) por periodos de 15 y 30 min. Lo anterior fue atribuido a la desnaturalización parcial, concluyendo que la aplicación de pulsos ultrasónicos en sistemas proteicos al 10 % es suficiente para mejorar la obtención de espumas más estables y con mayor volumen.

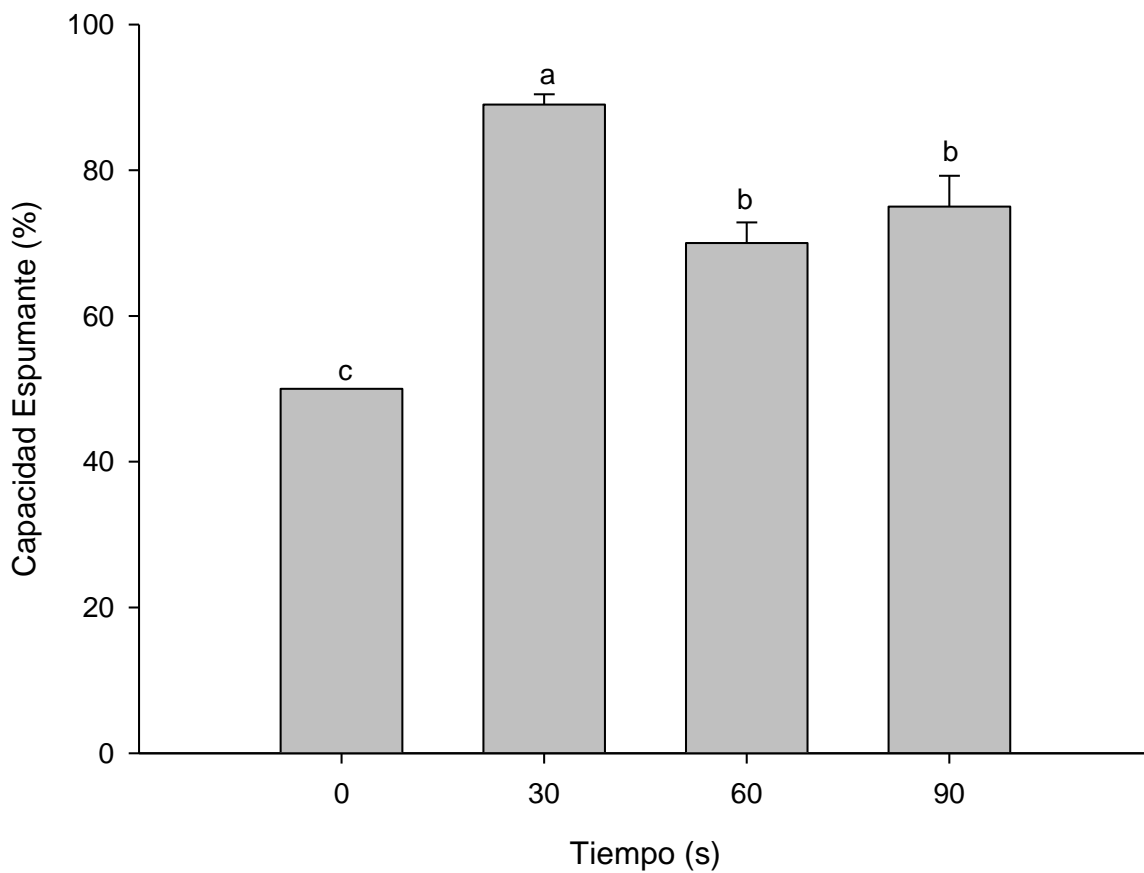


Figura 5. Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la capacidad espumante (CE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media \pm desviación estándar (n = 3)

Estabilidad de la Espuma

La estabilidad de la espuma refleja la habilidad que tiene la espuma para resistir su rompimiento o colapso bajo la influencia de la gravedad, esta propiedad depende de la flexibilidad y la fuerza mecánica de la película de proteínas en la interfase (Kinsella *et al.*, 1984; Sikorski, 2001).

Los resultados obtenidos de EE para la solución de proteína sarcoplásmica en función al tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad se muestra en la Figura 6.

El valor de EE de las proteínas sarcoplásmicas con tratamientos de 0, 30, 60 y 90 s fueron de 80 ± 0 , 64.04 ± 0.57 , 66.09 ± 4.43 y 70.61 ± 1.66 %, respectivamente. Los valores de estabilidad obtenidos después de la aplicación de 0 y 90 s de ultrasonido no presentaron diferencias significativas ($p\geq 0.05$) entre ellos. Los tratamientos que fueron pulsados con ultrasonido muestran un incremento conforme aumenta el tiempo, esto pudiera ser atribuido a una mayor exposición de regiones hidrofóbicas en la proteína.

De igual manera, la EE obtenida en el presente estudio fue mayor a la reportada por Mohan *et al.* (2006) con 27.33 %, para una solución de proteínas sarcoplásmicas de rohu (*Labeo rohita*), con una concentración de 2.5 mg mL^{-1} , semejante a la utilizada en esta investigación (3 mg mL^{-1}).

Lo anterior es atribuido a la desnaturalización parcial de las proteínas durante la aplicación de pulsos de ultrasonido, permitiendo la exposición de algunas regiones hidrofóbicas y una interacción en la interface del sistema para obtener mayor estabilidad (Zhang *et al.* 2011).

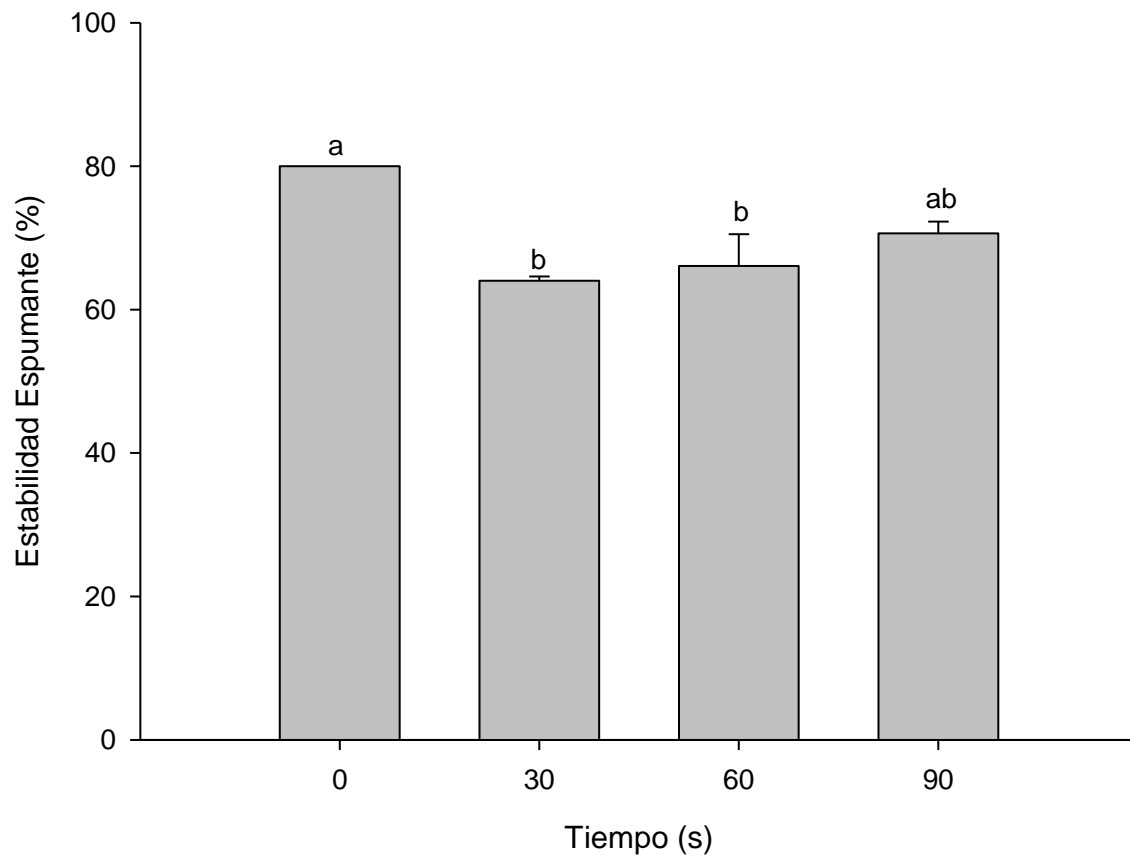


Figura 6. Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la estabilidad espumante (EE) de las proteínas sarcoplásmicas del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media \pm desviación estándar (n = 3)

Hidrofobicidad de Superficie (S0)

La hidrofobicidad de superficie se basa en la determinación de la distribución y el grado de exposición de las regiones hidrofóbicas de las proteínas, ya que durante su plegamiento los residuos polares están expuestos hacia el exterior del sistema proteico, mientras que los residuos apolares ocupan el interior del sistema para disminuir el contacto con el agua (Marín-Martínez, 2002). Por lo tanto, si existe un aumento de hidrofobicidad en la proteína, hay un desplegamiento de ésta.

Con el objetivo de expresar cambios en la estructura y conformación de las proteínas sarcoplásmicas a diferentes concentraciones y tiempos de pulsado, en el presente estudio se determinó la hidrofobicidad superficial basándose en el reactivo fluorescente 1-anilino-8-naftaleno-sulfonato (ANS). Los valores de S_0 -ANS se muestran en la Figura 7.

Los resultados mostraron que a una concentración de 1.5 mg mL^{-1} se promueve una mayor exposición de grupos hidrofóbicos de las proteínas sarcoplásmicas en comparación con las concentraciones más diluidas (0.325 y 0.75 mg mL^{-1}). Este comportamiento se manifiesta en los tres tratamientos con pulsado que se estudiaron.

Asimismo, dichos resultados indicaron que conforme aumentó el tiempo de pulsado hubo una mayor exposición de grupos hidrofóbicos. Esto se debe a la aplicación de pulsos de alta energía, que permiten la exposición de regiones hidrofóbicas presentes en las proteínas, logrando una interacción proteína- agua, promoviendo así un aumento de hidrofobicidad.

Estudios similares han sido reportados por Villamonte *et al.* (2015). El cual, al extraer proteínas sarcoplásmicas de la merluza (*Merluccius merluccius*) con concentraciones entre 0.02 y 0.2 mg mL^{-1} mejora de forma significativa la superficie hidrofobicidad de este tipo de proteínas con un impacto de procesamiento de alta presión (400 MPa). Esto se debe a que la mayoría de los grupos hidrofóbicos se encuentran en las proteínas globulares. La extensión de la exposición de estos grupos hidrofóbicos en las proteínas podrían ser indicativos de un alto contenido de estructuras globulares (Damodaran, 1997).

Asimismo, Arzeni *et al.* (2012), reportaron resultados similares al determinar la hidrofobicidad de superficie de proteína del huevo, quienes aplicaron un tratamiento de ultrasonido de alta energía (durante 20 min), utilizando concentraciones de 0.05 y 0.4 mg mL^{-1} , con una frecuencia de 20 kHz y una amplitud de 20% . Estos investigadores encontraron un aumento después del tratamiento de sonicación, lo que sugiere una exposición de residuos aromáticos hacia el entorno acuoso, lo que facilita la unión de la sonda de fluorescencia (ANS).

Ya que la fluorescencia de esta sonda es muy débil en soluciones acuosas, pero es mayor cuando se unen a proteínas (Yang *et al.*, 2001).

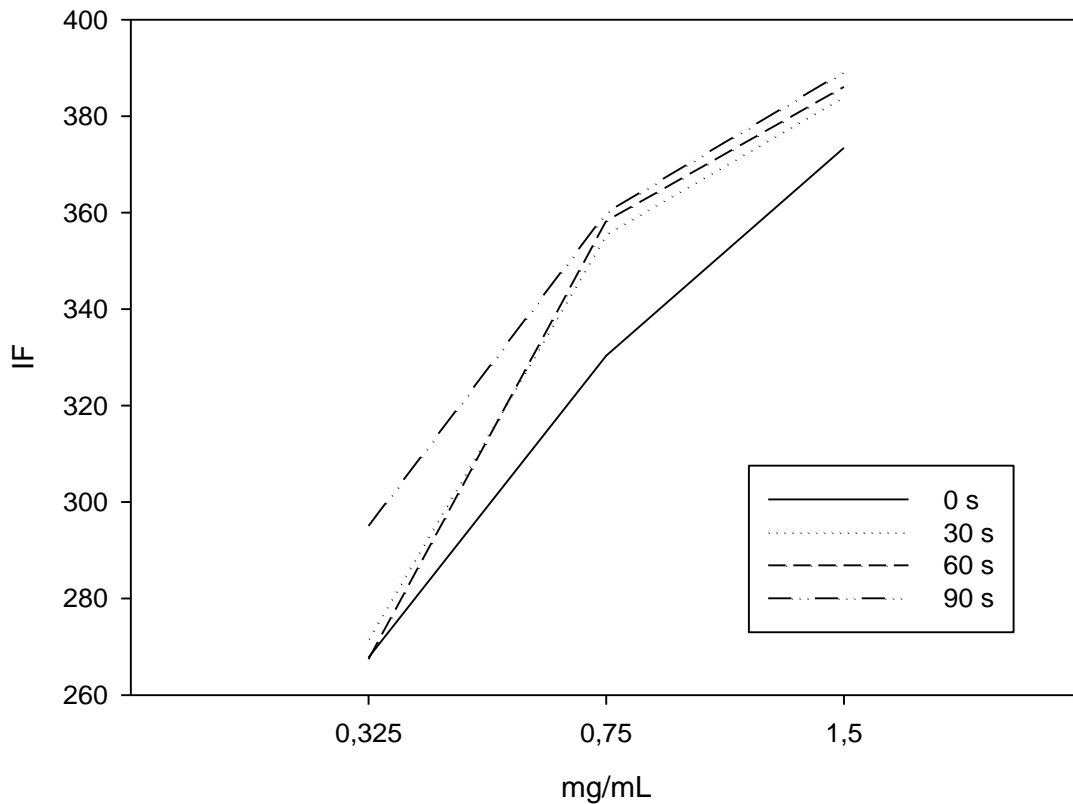


Figura 7. Efecto del tiempo de aplicación de pulsos de ultrasonido de alta intensidad en la hidrofobicidad superficial (S_0 -ANS) de las proteínas sarcoplásmicas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Viscosidad

La viscosidad es una de las propiedades funcionales que presentan mayor sensibilidad en la medición de los cambios que ocurren en el músculo de las especies marinas durante su almacenamiento, por esta razón se ha propuesto como indicador de calidad en los homogenizados (Borderias *et al.*, 1985).

Los valores de viscosidad para las proteínas sarcoplásmicas en función a la temperatura y el tratamiento de pulsado se muestra en la Figura 8.

Se puede observar un comportamiento muy semejante en los tres tratamientos con pulsos de ultrasonido de alta energía, un ligero aumento al llegar a la temperatura de 40 °C.

Así mismo, Pan *et al.* (2011), reportaron algo similar en carpa (*Hipophthalmichthys molitrix*), la cual se relacionó con cambios conformacionales que sufre la proteína durante su calentamiento, debido a que los puentes de hidrógeno en este periodo son rotos, llegando al desplegamiento de la estructura proteica.

Los valores reportados en la viscosidad de los distintos tratamientos con pulsos muestran también, un incremento a partir de las temperaturas de 45 – 50 °C, este también está relacionado con un desplegamiento “aleatorio” causado por efecto de la temperatura, ya que se ha documentado que la viscosidad intrínseca en soluciones de este tipo presenta un aumento, debido al mayor volumen efectivo en la solución (Van Holde, 1985).

Estudios similares fueron realizados por Herceg *et al.* (2007), quienes reportaron el efecto de los pulsos ultrasónicos (20 kHz, 15 min) sobre el comportamiento y las propiedades de un aislado de proteína del suero (WPI) y un concentrado de proteína del suero (WPC). El tratamiento de pulsos ultrasónicos en ambas muestras causó un aumento significativo de la viscosidad (8,0 mPas) ($p < 0,05$) y cambios en los índices de comportamiento de flujo, acompañados con el aumento en el coeficiente de consistencia (0.152 para WPC y 0,186 para el WPI, respectivamente) ($p < 0,05$) en comparación con muestras de control.

De igual forma, Jambrak *et al.* (2009) estudiaron las propiedades reológicas de un aislado proteico de soja, el cual fue influenciado por el tratamiento de ultrasonido (40 kHz durante 30 minutos), obteniendo para la proteína de soja ($46.4 - 5337.10^3$ mPa s) y para la proteína de soja concentrada ($76.5-1766.10^3$ mPa s) diferencias significativas en su comportamiento reológico.

Estos investigadores demostraron que el tratamiento de ultrasonidos causó cambios estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en los índices de comportamiento de flujo (N) y coeficientes de consistencia (k). En términos generales, el comportamiento reológico de los tres

sistemas es muy similar; sin embargo, hay notorias diferencias entre las proteínas que se sometieron al tratamiento del pulsado y el control (no pulsado). Esta diferencia estriba en un desplazamiento de los principales picos detectados. Por ejemplo: en el control se detectó un pico a los 46.1 °C, mientras que en las muestras pulsadas este pico se detectó a los 47.5 °C.

Lo anterior indica un cambio conformacional por el tratamiento de pulsado, lo cual pudiera ser responsable de mejoras en la estabilidad emulsificante y capacidad espumante. A su vez, este cambio conformacional pudiera estar explicado por un ligero aumento en la hidrofobicidad de superficie en las proteínas pulsadas.

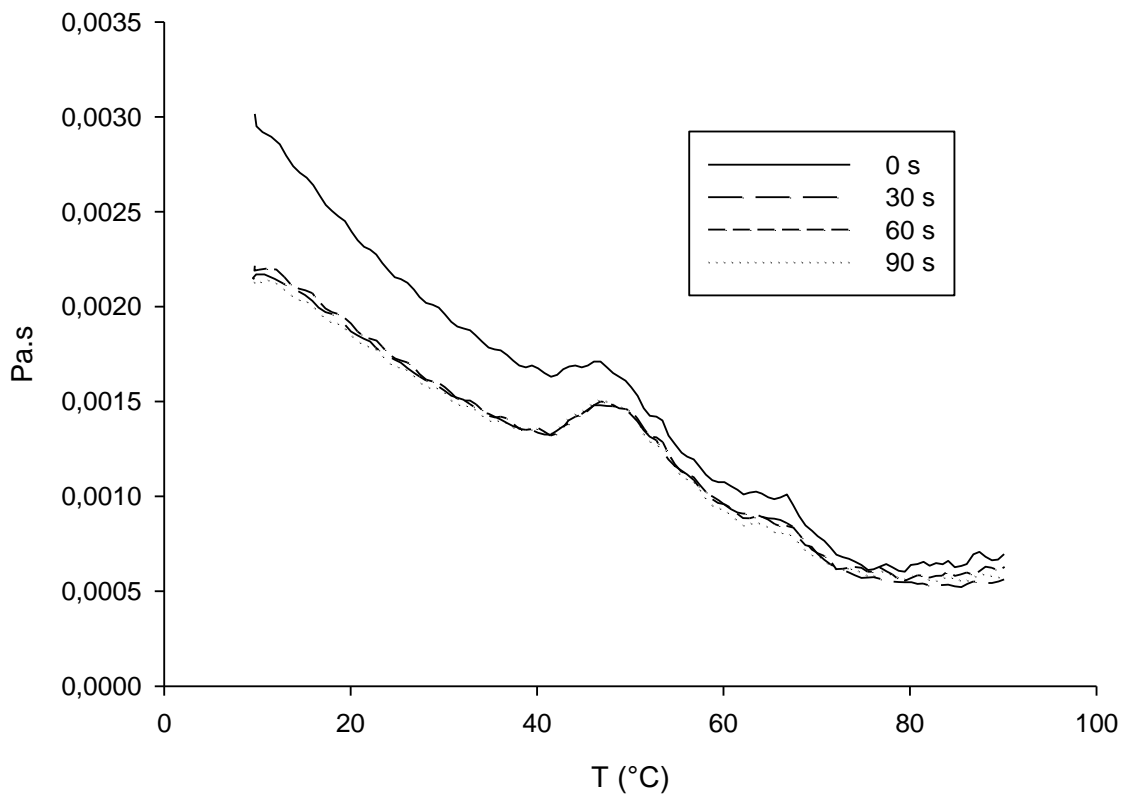


Figura 8. Viscosidad de las proteínas sarcoplásmicas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) con la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta energía.

CONCLUSIONES

La proteína sarcoplásmica del manto del calamar gigante mostró potencial para ser utilizada como ingrediente alimentario y, que los pulsos ultrasónicos afectan dichas propiedades. Estas proteínas presentaron una buena estabilidad emulsificante y capacidad espumante, propiedades o características que pudieran ser explotadas en la formulación de distintos alimentos. De esta forma, se contribuye al aprovechamiento de esta fracción proteica, la cual suele ser descartada en los procesos de obtención de concentrados proteicos o elaboración de surimi.

REFERENCIAS

- Arzeni, C., Martínez, K., Zema, P., Arias, A., Pérez, O. E., & Pilosof, A. M. R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 463e472
- Arzeni, C., Pérez, O. E., & Pilosof, A. M. (2012). Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 308-316
- Alizadeh-Pasdar, N. & Li-Chan, E.C. (2000). Comparison of Protein Surface Hydrophobicity Measured at Various pH Values Using Three Different Fluorescent Probes *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 328–334.
- Badui, D. S. 2006. Química de los Alimentos. 4ª ed. Ed. Pearson Educación, S.A. de C.V. México. pp. 213-220, 556-557 y 187-205.
- Badui DS. 1993. Química de los Alimentos. 2nd ed. Ed. Alhambra Mexicana, Editorial, S.A. de C.V. 648 p
- Belitz H., Grosch W., Schieberle P. 2009. Food Chemistry. 4ª Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp 60-63_(Belitz *et al.*, 2009)
- Bouaouina, H. Desrumaux, A. Loisel, C. Legrand, J. Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high pressure treatment. *Inter. Dairy J.* 2006, 16, 275–284
- Cárdenas L. J. y Haard N. F. 2005. Cysteine proteinase activity in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) hepatopancreas extracts. *Journal of Food Biochemistry*. 29(2): 171-186.
- Choi, Y., Park, J. 2002. Acid-aided protein recovery form enzyme-rich Pacific whiting *Journal of Food Science* 67(8):2962-2967.
- Damodaran, S. (2008). Aminoacids, peptides, and proteins, En S. Damodaran, K.L. Parkin, O.R. Fennema (Eds.). *Fennema's Food Chemistry*. (pp. 217-330), CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Dickinson, E. & McClements, D.J. (1996). *Advances in Food Colloids*. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hill.

Ehrhardt NM, A Solís, J Pierre, J Ortiz, P Ulloa, G González y F García. 1986. Análisis de la biología y condiciones del stock del calamar gigante en el Golfo de California, V.E. González-Máynez, M.O. Nevárez-Martínez, A. Gallegos-García, E. Márquez-García y R. Rodríguez-Sobreyra 12 Ciencia Pesquera 21(1): 5-13, mayo de 2013 México, durante 1980. Ciencia Pesquera 5: 63-76.

Guerrero LI, Rosmini M, Armenta R. 2009. Tecnología de Productos de Origen Acuático. Ed. Limusa S.A de C.V. 532 p.

Ehrhardt NM. 1991. Potential impact of a seasonal migratory jumbo squid (*Dosidicus gigas*) stock on a Gulf of California sardine (*Sardinops sagax caerulea*) population. Bulletin of Marine Science 49(1/2): 325-332.

FAO. 2008. Species Fact Sheets, *Dosidicus gigas* (Orbigny, 1835). Documento [WWW], recuperado: <http://www.fao.org/fishery/species/2721>. Mayo 15, de 2015.

FAO. 2015. <http://www.fao.org/fishery/species/2721/en>

Fenemma O. 2000. Química de los alimentos. 2ª ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Guerrero L. I, Rosmini M., Armenta R. 2009. Tecnología de productos de origen acuático. Ed. Limusa S.A de C.V. pp 75-85

Gülseren, I., Güzey, D., Bruce, B. D., and Weiss, J. (2007). Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(2), 173 e183

Hemung, B., Benjakul, S. & Yongsawatdigul, J. (2013). pH-dependent characteristics of gel-like emulsion stabilized by threadfin bream sarcoplasmic proteins. *Food Hydrocolloids*, 30, 315-322

Hernández-Herrera A., Morales-Bojórquez E., Cisneros-Mata M. A., Nevárez-Martínez M. O. y Rivera-Parra G. I. 1998. Management strategy for the giant squid (*Dosidicus gigas*) fishery in the gulf of California, Mexico. *Cal. COFI Rep.* 39:212-218.

Hultin, H. O. y Kelleher, S. D. 1999. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition.

Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Krešić, G., & Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386-393.

- Jambrak *et al.* (2008) Jambrak AR. Mason TJ. Lelas. Herceg Z and Herceg IL (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering* 86 281–287
- Kim, Y., Park, J., Choi, Y. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science* 69:1231-1239.
- Krešić, G., Lelas, V., Jambrak, A. R., Herceg, Z., & Brnčić, S. R. (2008). Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 87(1), 64-73.
- Kinsella JE. 1984. Milk proteins: Physicochemical and functional properties. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* 21 (3): 197–262.
- Klett A. 1996. Pesquería del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). En “Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur”. (Editado por Casas-Valdez M, Ponce-Díaz G.) Vol. I. SEMARNAP, FAO, INP, CIBNOR, CICMAR, CETMAR. México. pp. 127-149.
- Lin T., Park J. 1998. Solubility of Salmon Myosin as Affected by Conformational changes at various ionic strengths and pH. *Journal of Food Science* 63(2): 215-218.
- Lopez E., (2015). Caracterización Físicoquímica y Funcional de Proteínas Sarcoplásmicas del Manto de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*).
- Lluch, M. A., Pérez M.I., y Hernando, I. 2001. Proteins in Food Structures. In *Chemical and Functional Properties of Food Proteins*. Zdzislaw E. Sikorski. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster - Basel. USA. 13-33
- Luna R.M., Urciaga G.J., Salinas Z.C., Cisneros M.M., y Beltrán M.L. 2006. Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora. *Economía, Sociedad y Territorio*; vol VI, no 22, 535-560.
- Mason, T. J., & Cordemans, E. D. (1996). Ultrasonic intensification of chemical processing and related operations - A review. *Transactions of the Institute of Chemical Engineers*, 74(A), 511-516.
- Markaida U. 2001. Biología del calamar gigante *Dosidicus gigas* D'Orbigny, 1835 (Cephalopoda: Ommastrephidae) en el Golfo de California, México. Tesis de Doctorado. Centro de

Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, Baja California, México. 426p. Nevárez-Martínez MO, A Hernández-Herrera, E Morales-Bojórquez, A Balmori-Ramírez, M Á Cisneros-Mata y R. Morales-Azpeitia. 2000. Biomass and distribution of the jumbo squid (*Dosidicus gigas* D'Orbigny, 1835) in the Gulf of California, Mexico. *Fisheries Research* 49: 129-140.

Martínez E, Zema K., Arias, P., Pérez, A., & Pilosof, A. M. R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 463e472.

Martínez V.J.A., Cruz S.L.E y Ricque M.D. 2000. Composición corporal y proceso de secado del calamar gigante *Dosidicus gigas*. *Ciencia y Mar*. 4(11), 35-38.

Mathews, C.K., Van Holde, K.E. & Ahern, K.G. (2002). *Bioquímica*. España: Pearson Addison Wesley.

Nevárez-Martínez MO. 2000. Variabilidad de la población de sardina Monterrey (*Sardinops caeruleus*) en el Golfo de California, México. Tesis de Doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, Baja California Sur, México. 165p.

Nesis 1983, Ehrhardt et al. 1986, Hernández-Herrera et al. 1996, Nevárez-Martínez et al. 2000

Nigmatullin C.M, Nesis K.N and Arkhipkin Al. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fish. Res.* 54: 9–19.

Niwa E. 1992. Chemistry of surimi gelation. In: Lanier TC, Lee CM (eds.). *Surimi Technology*. Marcel Dekker Inc, New York, pp 389-427.

Otwell, W. S. y Giddings, G. G. 1980. Scanning Electron Microscopy of Squid, *Loligo pealei*: Raw, Cooked, and Frozen Mantle. *Marine Fisheries Review*. 42(7-8), 67-73

Park, J. W., Morrissey, M. T. (2000). Manufacturing of Surimi from light muscle fish. En J.W. Park (Ed.). *Surimi and surimi seafood*. (pp. 23-58). New York: Marcel Dekker Inc.

Pearce, K.N. & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (3), 716-722.

- Ponce, E. 2006. Cap 4. Cambios bioquímicos pre y postmortem. In: Hui ,Y., Guerrero, I. y Rosmini, M. (Eds.). Ciencia y Tecnología de carnes. Noriega Editores. Limusa. 112. pp.
- Potter N. 1978. La Ciencia de los Alimentos. 2^{da} ed. Ed. Editorial Edotex S.A. México, D.F. pp. 467-470.
- Ramírez O. R., Rouzaud S. O., Haard N., Pacheco A. R. y Ezquerro B. J. M. 2004. Changes in firmness and thermal behavior of ice-stored muscle of jumbo squid (*Dosidicus gigas*). European Food Research and Technology. 219: 312-315.
- Rope C., Sweeney M. y Nauen C. 1984. "FAO Species Catalogue Vol.3: Cephalopods of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Interest of Fisheries".
- SAGARPA-CONAPESCA. 2003. Anuario Estadístico de Pesca 2003. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. México. 265.
- Salinas Z.C.A., Sánchez H.S., Aragón, N.E., Sanchez V.C., Soria, M.G., Escoto, G.G., Moctezuma, C.T. Camarillo, C.s., Mejía, R.A., y Bazzino, F.G. 2005. Programa Maestro de Pesquería de Calamar Gigante. Comité Sistema Producto de la Pesquería de Calamar Gigante en el Estado de Sonora
- Saggin R., (2002) Ultrasonis monitoring of poder dissolution. Food Sci.67:1473 1477
- Salinas Zavala, Cesar Augusto, Susana Camarillo Coop, Arminda Mejía Rebollo, Saúl Sánchez Hernández, Carolina Sánchez Verdugo, Marcelo González Angulo, Edwin Flores Quintana y Luis Felipe Beltrán Morales. 2003. Alternativas para fortalecer la cadena productiva de la pesquería de calamar gigante, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S., México.
- Sathe, S. K. y Salunkhe, D. K. 1981. Functional properties of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: emulsion, foaming, viscosity, and gelation. J. Food Sci. 46: 71-74 + 81.
- Sikorski Z. E. 2001. Chemical and Functional Properties of Food Proteins. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster - Basel. USA. pp. 233
- Sikorski, Z. y Koodziejska, I. 1986. The Composition and Properties of Squid Meat Food. Comp. Biochem. Physiol. 20:213-224

- Sikorski, Z.E. (2007). The role of proteins in food. En Z.E Sikorski (Ed.). *Chemical and Functional Properties of Food Components*. (pp. 129-176), CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Visessaguan, O., Ogawa, M., Nakai, S. & An, H. (2001). Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of arrowtooth flounder myosin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(4), 1016-23
- Weiss, J., Takhistov, P., & McClements, D. J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), R107-R116.
- Xiong YL. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins. In: Damodaran S, Paraf A, editors. *Food proteins and their applications*. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 341–92.
- Yang, J., Dunker, A. K., Powers, J. R., Clark, S., & Swanson, B. G. (2001). B-Lactoglobulin molten globule induced by high pressure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3236e3243.
- Yongsawatdigul, J. & Hemung, B. (2010). Structural changes and functional properties of threadfin bream sarcoplasmic proteins subjected to pH-shifting treatments and lyophilization. *Journal of Food Science*, 75, 251-257.
- Zisu B., Lee J. Chandrapala J. Bhaskaracharya R., Palmer M., Kentish S. and Muthupandian Ashokkumar (2011). Effect of ultrasound on the physical and functional properties of reconstituted whey protein powders. *Journal of Dairy Research* 78 226–232.
- Zhang, H., Claver, I. P., Zhu, K.-X., & Zhou, H. (2011). The effect of ultrasound on the functional properties of wheat gluten. *Molecules*, 16(5), 4231-4240