

UNIVERSIDAD DE SONORA

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

**Efecto del Setting sobre las Propiedades Gelificantes de
Proteínas del Manto de Calamar Gigante
(*Dosidicus gigas*)**



TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Miriam Fernanda Escalante Rodríguez

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2016

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

HOJA DE APROBACIÓN

DEDICATORIAS

A Dios, por darme la oportunidad de vivir, tener a mi familia y permitirme seguir realizando lo que deseo y sueño.

A mi abuelita Nelly, por todo su amor y su cuidado brindarme todo el apoyo en todo lo que he realizado, porque sin ella nada de esto habría sido posible. ¡Muchas gracias!

A mi abuelastro Efrén, por apoyarme en la realización de mis estudios, por todo el apoyo y las facilidades brindadas. ¡Muchas gracias!

A mis padres Miriam y Fernando, que sin ellos no estaría aquí, gracias por estar siempre ahí, por apoyarme en todo lo que he decidido y por la confianza que siempre ponen en mí. ¡Muchas gracias!

A mis hermanos: Delia, Esthela y Fernando, por estar tan al pendiente de mis avances y ser parte de esto que elegí, perdón por los momentos en que los rechace por estar en mi mundo de estrés.

A mis sobrinitas: Ailed y Paula, por llegar a alegrar mis días y hacerme jugar nuevamente como niña.

A mi novio Mario García, por tanto apoyo, tanta paciencia y tanto amor que me brindaste a lo largo de este camino, nunca olvidare que fuiste mi achichinle y las largas horas que pasaste a mi lado inclusive en el laboratorio y durante la realización del escrito, muchas gracias por los momentos de larga platica de consuelo y optimismo que me brindaste. ¡Te amo demasiado!

A mis compañeras y amigas Laura y Alma, por las largas horas que pasamos juntas en el laboratorio compartiendo el mismo sentir.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, por permitirme realizar mis estudios de licenciatura y por las experiencias y aprendizajes adquiridos.

Al Laboratorio de Marinos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora (DIPA-UNISON) por brindarme la oportunidad de llevar a cabo el desarrollo de este trabajo.

Un profundo agradecimiento a mi Director de Tesis Dr. Enrique Márquez Ríos por todo el tiempo que me brindo, por la confianza, paciencia, conocimiento y por todo el apoyo durante este trabajo. ¡Muchas gracias!

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haberme otorgado la beca que permitió la realización de mis estudios.

Agradezco a los integrantes de mi comité de tesis Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera, Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo y Q.B. César Benjamín Otero León, por su aporte para la realización y enriquecimiento de este trabajo. ¡Gracias!

Un gran agradecimiento a Claudia Murrieta y Odilia Higuera, porque a pesar de sus múltiples ocupaciones siempre me brindaban su tiempo para apoyarme en la realización de este trabajo, muchas gracias por esos fines de semana que me brindaron y las desmañanadas para que el tiempo alcanzara. De corazón muchísimas gracias por todo.

CONTENIDO.

HOJA DE APROBACIÓN	2
DEDICATORIAS	3
AGRADECIMIENTOS	4
CONTENIDO	5
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMEN	9
INTRODUCCIÓN	10
ANTECEDENTES	11
Generalidades del Calamar Gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	11
Crecimiento y Reproducción	11
Distribución Geográfica y Hábitat	13
Pesquería del Calamar	14
Composición Química y Estructural del Tejido Muscular	16
Manto	16
Proteínas Musculares	18
Proteínas Miofibrilares	18
Proteínas Sarcoplásmicas	20
Proteínas Estromales o del Tejido Conectivo	20
Concentrado Proteico	21
Concentrados Proteicos Obtenidos de Especies Marinas	22
Gelificación de Concentrados Proteicos	24
Setting	24
Principales Interacciones que Estabilizan los Geles Proteicos	25
Hidrofobicidad	25
Concentración de Grupos Sulfhidrilos	26
Características Texturales de los Geles Proteicos	26
Capacidad de Retención de Agua (CRA)	26
Análisis de Perfil de Textura (APT)	27
OBJETIVOS	28
General	28
Específicos	28

MATERIALES Y MÉTODOS	29
Materia Prima	30
Elaboración del Concentrado Proteico (CP)	30
Elaboración de Soles y Geles	30
Fraccionación de Proteínas	31
Perfil Electroforético (SDS-PAGE)	33
Hidrofobicidad de Superficie (SoANS)	33
Sulfhidrilos Totales (SHT)	34
Color	34
Capacidad de Retención de Agua (CRA)	34
Análisis del Perfil de Textura (APT)	35
Análisis Estadístico	35
RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
Fraccionación de Proteínas	36
Perfil Electroforético (SDS-PAGE)	38
Hidrofobicidad de Superficie (SoANS)	40
Sulfhidrilos Totales (SHT)	42
Color	44
Capacidad de Retención de Agua (CRA)	46
Análisis de Perfil de Textura (APT)	46
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	51

LISTA DE TABLAS.

Tabla		Página
1	Fraccionación de proteínas presentes en los pre-geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	37
2	Contenido de sulfhidrilos totales (SHT) en los pre-geles obtenidos a partir del setting de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	43
3	Efecto del setting, sobre el color de geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	45
4	Efecto del setting, sobre la CRA y APT de geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	47

LISTA DE FIGURAS.

Figura		Página
1	Anatomía externa e interna del calamar gigante	12
2	Distribución geográfica del calamar gigante	13
3	Producción pesquera mundial, nacional y estatal de calamar gigante en peso vivo (t), así como el valor de producción pesquera nacional de calamar (pesos)	15
4	Representación de la composición del tejido en el manto de calamar (<i>Loligo pealei</i>)	17
5	Representación esquemática de la estructura nativa de la molécula de miosina	19
6	Diagrama de flujo general	29
7	Procedimiento para la fraccionación de proteínas musculares	32
8	Perfil electroforético de los pre-geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	39
9	Hidrofobicidad de superficie de los pre-geles obtenidos a partir del setting de un concentrado proteico de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>)	41

RESUMEN

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es una especie marina abundante en el noroeste de México. Debido a esto, actualmente a nivel nacional se ha considerado de gran importancia el desarrollo tecnológico de esta especie, por lo que en el presente estudio se plantea su uso para la elaboración de concentrados proteicos o surimi, debido a las características de su músculo (blanco y magro). Esta materia prima puede ser utilizada para la elaboración de productos, como los gelificados, donde el setting (temperatura y tiempo de reposo del gel) juegan un papel fundamental en las características y calidad del gel obtenido. En el presente estudio se planteó la evaluación del efecto del setting (30 y 60 °C, durante 0, 30 60 y 90 min) en concentrados proteicos obtenidos a partir del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), sobre las características texturales y los cambios fisicoquímicos de sus proteínas, mediante las pruebas de fraccionación de proteínas, perfil electroforético, hidrofobicidad de superficie, sulfhidrilos totales, CRA, TPA y color. Respecto a la fraccionación de proteínas, el tratamiento a 60 °C (PG-4, PG-5 y PG-6) presentó mayor porcentaje de proteína insoluble. El perfil electroforético mostró la presencia de agregados de alto peso molecular en los sistemas PG-4, PG-5 y PG-6, así como la disminución de las bandas de miosina, paramiosina y actina conforme se aumentó el tiempo de incubación. En relación a la hidrofobicidad de superficie, sólo se evaluaron los sistemas PG-0 (control, no setting) y los sistemas incubados a 30 °C (PG-1, PG-2 y PG-3), disminuyendo la hidrofobicidad conforme aumentó el tiempo. En los sistemas que fueron sometidos a una temperatura de 60 °C, se presentó un menor contenido de sulfhidrilos totales (SHT) que en los sistemas sometidos a una temperatura de 30 °C, lo cual se atribuye a la formación de puentes disulfuro. Los resultados de CRA entre los diferentes geles oscilaron entre 68.71 ± 0.05 y 76.68 ± 0.09 %, los cuales se encuentran en el rango de lo reportado para manto de calamar gigante. El análisis de perfil de textura mostró que, la aplicación de setting afectó negativamente a los diferentes parámetros evaluados (fuerza, elasticidad y cohesividad). Además, no se detectó fractura en ninguno de los tratamientos. El setting como pretratamiento no resultó ser una buena alternativa para la gelificación de proteínas del manto de calamar gigante, ya que el tratamiento control (no setting) fue el que mostró mejores características texturales.

INTRODUCCIÓN

En la estructura y desarrollo del sector pesquero del Golfo de California, en el Pacífico mexicano, una de las pesquerías que más ha llamado la atención es la del calamar gigante (*Dosidicus gigas*); (Martínez y col., 2000). Este organismo es una de las especies más abundantes y grandes de calamar que se encuentra en la zona pelágica del Pacífico oriental, desde Chile hasta las costas de Oregón (Nigmatullin y col., 2008; Markaida y col., 2001). Éste tiene un bajo valor económico; sin embargo, se captura en grandes volúmenes y es vendido como materia sin procesar a Estados Unidos, Canadá y a los mercados asiáticos, principalmente el coreano; y solamente el 20 % de la captura total se comercializa en el mercado nacional. Debido a su abundancia, este recurso pesquero representa una fuente significativa de empleos e ingresos en la región. Actualmente a nivel nacional se ha considerado de gran importancia el desarrollo de nuevas tecnologías para la elaboración de productos a partir del calamar gigante, esto para su mayor aprovechamiento.

El atractivo comercial del calamar gigante radica en su gran abundancia, bajo costo y alto rendimiento, ya que puede aprovecharse hasta 75 % de sus partes después del eviscerado, su bajo contenido de grasa, así como lo insípido y blanco de su carne (Luna y col., 2006; Cortés y col., 2008). Estas características, actualmente están siendo aprovechadas en nuestra región, principalmente por la industria dedicada a la explotación del calamar, el cual es una especie atractiva para la elaboración de concentrados proteicos. Estos pueden ser utilizados para la elaboración de productos, como los gelificados; donde el setting (temperatura y tiempo de reposo del gel) juegan un papel fundamental en las características y calidad del gel obtenido.

En estudios realizados por Benjakul y col., (2002) con pargo, corvina y barracuda, entre otras especies; se ha investigado el efecto del setting a 40 °C, sobre las propiedades texturales y los cambios que éste produce en las proteínas miofibrilares para la obtención de surimi a partir de estas especies. Se ha encontrado que un aumento en el tiempo del setting resulta en un decremento de la fuerza de ruptura y deformación en todos los geles. Cada especie presenta una temperatura de setting óptima, que puede ser determinada por la estabilidad al calor de la miosina (Benjakul, y col., 2002). Actualmente, se han realizado diversos estudios sobre la gelificación de proteínas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*); sin embargo, no se ha estudiado el efecto del setting sobre la gelificación y características texturales de los geles obtenidos. Debido a lo anterior, el presente trabajo centra su atención en la elaboración de geles a partir del manto de calamar gigante, con el objetivo de determinar el sistema que presente un mejor comportamiento en base a las condiciones empleadas.

ANTECEDENTES

Generalidades del Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un invertebrado con un sistema nervioso complejo y ocular bien desarrollados, presenta un crecimiento rápido (Cárdenas y Haard., 2005) y se le considera el cefalópodo de mayor talla y abundancia (Rope y col., 1984). Esta especie pertenece a la familia *Ommastrephidae*, se caracteriza por tener un cuerpo alargado, cilíndrico, afilado y flexible, posee dos ojos prominentes y dos aletas laterales Figura 1. 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 (FAO, 2010). Por encima de la cabeza se extiende el manto que es una envoltura en donde se encuentran suspendidos todos los órganos (vísceras, sifón o sistema locomotor y sistema nervioso central) (Guerrero y col., 2009). Alcanza la talla adulta en alrededor de un año y una longitud de manto promedio de 60 cm (Cárdenas y Haard., 2005). 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 del cuerpo (Martínez y col., 2000).

Crecimiento y Reproducción

El calamar gigante tiene un ciclo de vida corto, de aproximadamente dos años, y una elevada tasa de crecimiento (crece durante toda su vida), con una talla promedio de 87 cm y un peso de 13 kg. Además, es un organismo monocíclico, es decir, sólo tiene un periodo reproductivo durante su vida (Nigmatullin y col., 2008).

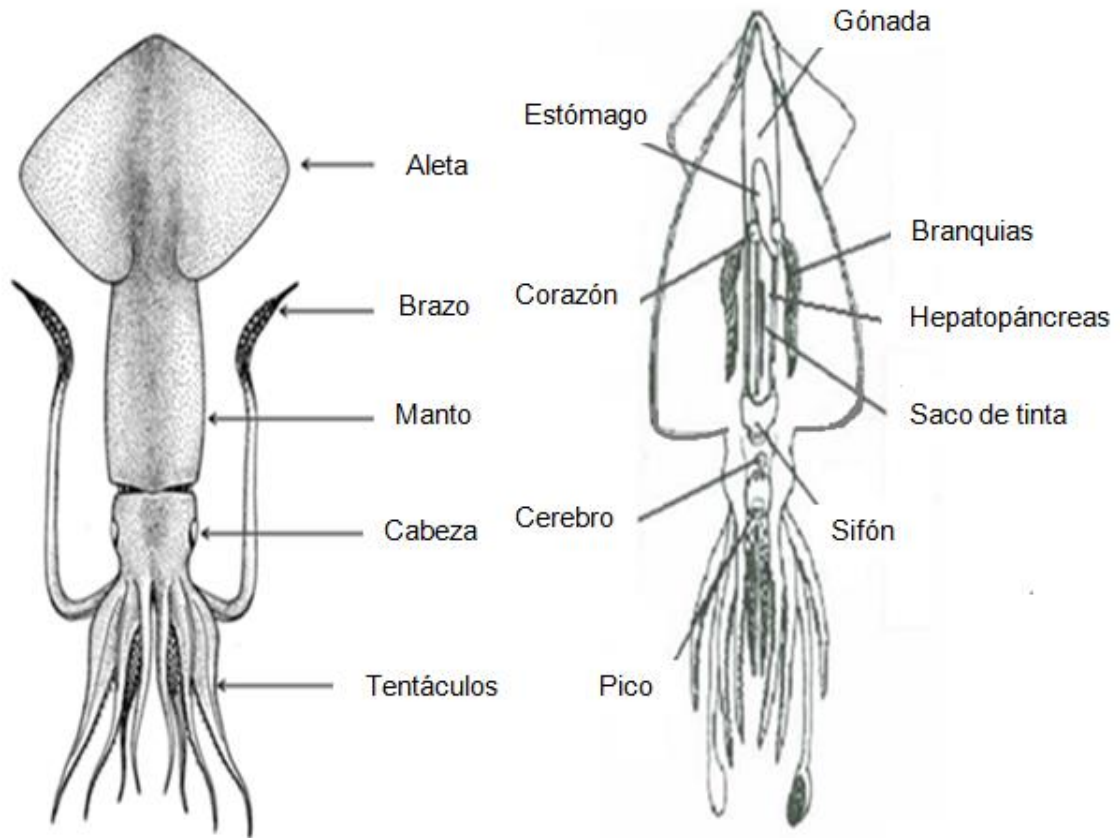


Figura 1. Anatomía externa e interna del calamar gigante. (Brown y Kisiel, 2003).

Distribución Geográfica y Hábitat

El calamar gigante es una especie endémica del Océano Pacífico Oriental que se distribuye desde California (aprox. 40 °N) hasta el sur de Chile (45 °S) (Nesis, 1983; Nigmatullin y col., 2008). Estudios recientes han documentado la migración de esta especie, tendiendo a desplazarse hacia el norte, hasta el Golfo de Alaska, como se muestra en la Figura 2 (Zeidberg y Robinson, 2007). *Dosidicus gigas* es una especie pelágica oceánica, ya que puede ser encontrada en la zona mesopelágica a profundidades de 200-700 m en el día, y durante la noche da migraciones verticales hacia la superficie, alcanzando la zona epipelágica (<200 m) para capturar a sus presas (Rosas y col., 2008).



Figura 2. Distribución geográfica del calamar gigante. (Zeidberg y Robinson, 2007).

Pesquería del Calamar

Los calamares de la familia *Ommastrephidae*, a la cual pertenece el calamar gigante (*Dosidicus gigas*), contribuyen al mayor porcentaje de las capturas totales de las pesquerías de cefalópodos a nivel mundial (Markaida y col., 2001). En el 2010 se registraron 815,978 t (Figura 3), lo cual representó el 0.92 % de la producción pesquera mundial, posicionándolo dentro de las principales 20 especies capturadas en el mundo. La pesquería de calamar gigante ha sido una de las actividades más relevantes en el sector pesquero de México durante los últimos años, encontrándose posicionado en el quinto lugar, dado su volumen de producción pesquera. Mientras que, considerando su valor económico se localiza en el décimo octavo lugar (FAO, 2010).

En el año 2011 su producción en peso vivo representó alrededor del 1.97 % (32,848 t) de la captura total nacional (1, 660,474 t), siendo Sonora la segunda potencia en este rubro, con un volumen de 9,811 t, representando el 29.86 % de la captura de calamar (Figura 3). El calamar gigante es la segunda especie más importante en términos de volumen de captura para el sector pesquero en Guaymas, Sonora. Su captura genera empleos directos e indirectos durante seis a ocho meses al año en el sector pesquero; además, representa una actividad económica alternativa y complementaria para los pescadores de la región (De la Fuente y col., 2008).

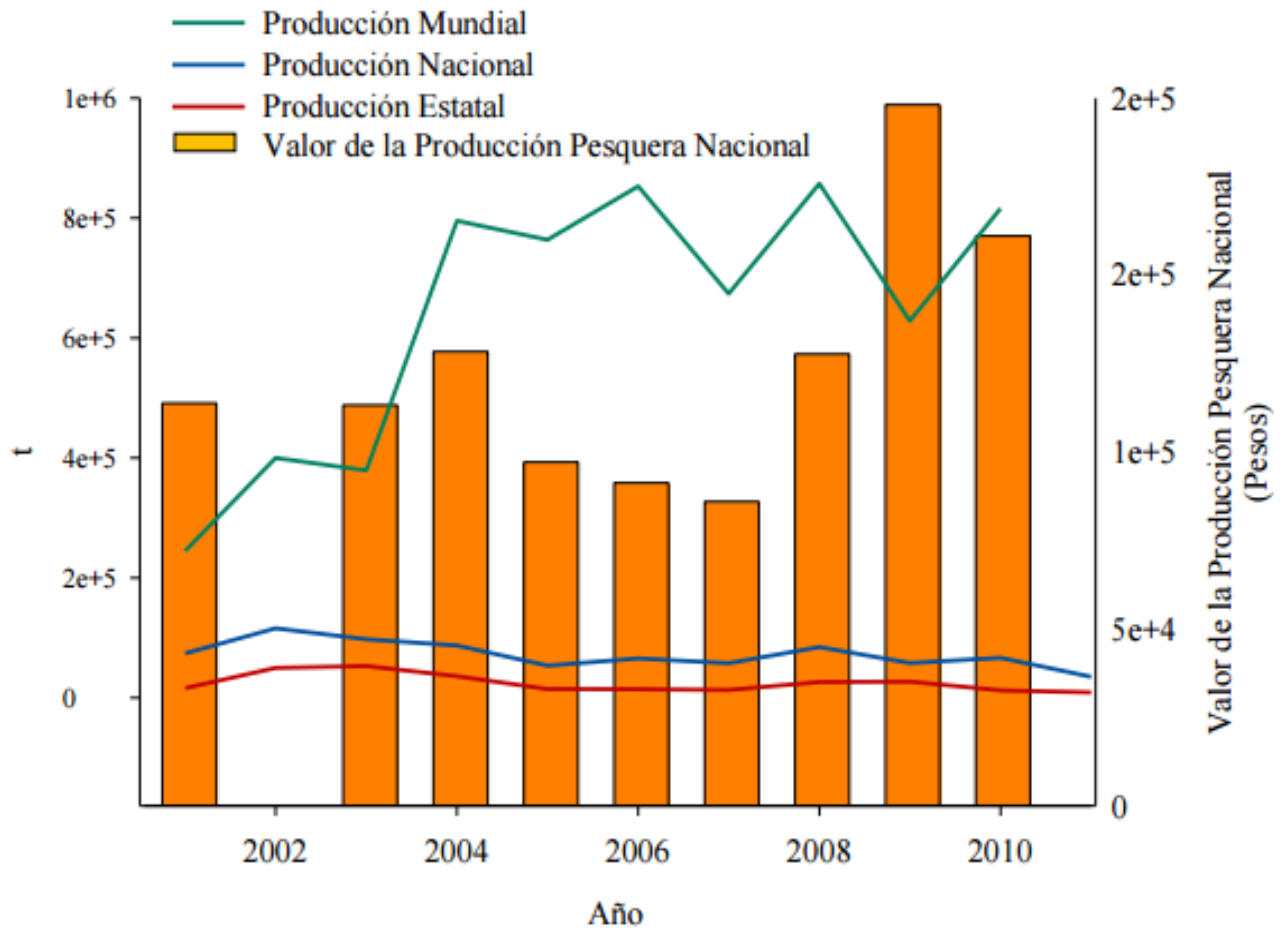


Figura 3. Producción pesquera mundial, nacional y estatal de calamar gigante en peso vivo (t), así como el valor de producción pesquera nacional de calamar (pesos). (FAO, 2010).

Composición Química y Estructural del Tejido Muscular

Las características químicas del calamar pueden variar debido al estado de madurez-edad, temporada de captura, especie, hábitat, sexo, alimentación, y de la fuerza del músculo; esto origina cambios en textura, sabor, color, apariencia y espesor (Sikorski, 1990).

Manto

La composición química de la porción comestible del calamar (manto, brazos y tentáculos) es similar a la de peces magros. El manto contiene 75-84 % de agua, 13-22 % de proteína cruda, 0.1-2.7 % de lípidos y 0.9-1.9 % de minerales (zinc, manganeso, cobre y fósforo etc.). Del total de proteína cruda, el 37 % corresponde a compuestos nitrogenados no proteicos; esta fracción está compuesta principalmente de óxido de trimetilamina (300-1300 mg / 100 g), cloruro de amonio, aminoácidos libres, octopina (450 – 1110 mg / 100 g), arginina, glicina, alanina, betaina y nucleótidos, todos estos compuestos considerados como precursores de sabor (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

El manto protege las vísceras y está compuesto de cinco diferentes capas de tejido (Martínez y col., 2000), tal como se muestra en la Figura 4 del calamar *Loligo pealei* (Otwell y Giddings, 1980), que es muy similar al calamar gigante (*Dosidicus gigas*). La capa dominante está formada por bandas ortogonales (Lluch y col., 2001) de fibras musculares, intercaladas entre dos túnicas de tejido conectivo. Las túnicas interna y externa están cubiertas por un revestimiento visceral y uno exterior, respectivamente. Cada fibra contiene en sus periferias una determinada cantidad de miofibrillas. El centro está representado por el sarcoplasma con mitocondria y núcleo (Martínez y col., 2000).

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. La túnica exterior, consiste de capas de fibras de tejido conectivo, las cuales se ubican justo por debajo de la piel. La túnica interna, tiene ligeramente ligados e interconectados agregados fibrosos y está cubierta por una capa visceral no fibrosa (Otwell y Giddings, 1980).

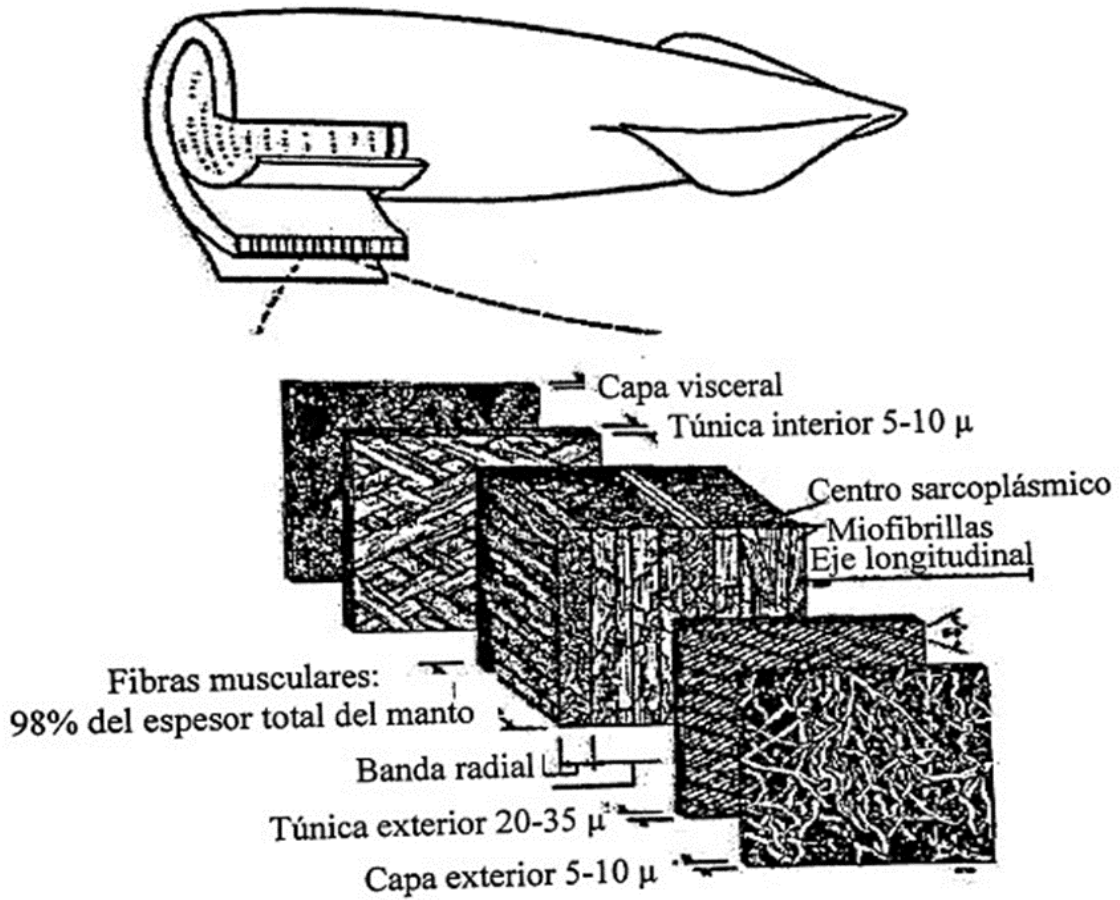


Figura 4. Representación de la composición del tejido en el manto de calamar (*Loligo pealei*). (Otwell y Giddings, 1980. (modificada)).

Proteínas Musculares

Las proteínas constituyen el componente mayoritario de la materia seca del músculo, tienen un papel fundamental en la calidad sensorial y nutritiva de alimentos de origen animal, como carnes rojas, pescados y mariscos. Por su función biológica y su solubilidad, estos polímeros se han clasificado en tres grandes grupos: proteínas contráctiles o miofibrilares, proteínas sarcoplásmicas o solubles y proteínas del estroma o insolubles (Badui, 2006).

Proteínas Miofibrilares

Las proteínas contráctiles o miofibrilares son las que conforman estructuralmente el tejido muscular y, además, las que transforman la energía química en mecánica durante la contracción y relajación de los distintos músculos (Badui, 2006). Son las principales contribuyentes de la textura y de las propiedades funcionales del músculo. En general las proteínas miofibrilares de organismos marinos son menos estables al calor que las de animales terrestres, aunque esta característica depende de la temperatura del hábitat de cada especie; además, son más susceptibles a hidrólisis enzimática y más solubles en agua (Guerrero y col., 2009).

En organismos marinos, ésta es la fracción más abundante ya que equivale al 65-80 % del total de proteínas del músculo y forman su estructura fibrosa; son solubles en disoluciones de alta fuerza iónica ($I > 0.5$) pero insolubles en agua. Desde el punto de vista funcional-tecnológico, las proteínas miofibrilares son la fracción proteica más importante, destacando la miosina (Niwa, 1992). Basándose en su localización, se pueden dividir como: filamentos gruesos (miosina) y delgados (actina, tropomiosina, troponina, alfa actinina, beta actinina); y según su función como proteínas generadores de fuerza o reguladoras (Guerrero y col., 2009).

La miosina es la principal proteína de los filamentos gruesos, la cual representa alrededor de un 45 % de las proteínas miofibrilares (Fennema, 2000). Ésta tiene una longitud de 160 nm y masa molecular de aproximadamente 480 kDa (Sikorski, 2001). Contiene un total de seis cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas semejantes (220 kDa) enrolladas entre sí, que terminan en una doble cabeza constituida a su vez por cuatro cadenas ligeras de aproximadamente 14 y 20 kDa, dependiendo de la especie y tipo de músculo (Figura 5).

Esta molécula exhibe tres propiedades funcionales importantes: es una enzima con actividad ATP-asa, forma complejos naturales con actina (actomiosina), así como filamentos (Badui, 2006; Fennema, 2000).

La actina es la proteína principal de los filamentos delgados y comprende aproximadamente el 20 % de la proteína miofibrilar del músculo, su peso molecular es de aproximadamente 42 kDa. Se caracteriza por tener una estructura globular con menos de un 30 % de α -hélice (Price y Schweigert, 1994).

La paramiosina se encuentra en los músculos de moluscos y otros invertebrados, donde puede alcanzar hasta un 50 % del total de las proteínas de sus fibras musculares. En calamar, constituye el 14 % de la fracción miofibrilar. Tiene un peso molecular de 95 a 125 kDa y un contenido α -helicoidal próximo al 100 %. Forma en estos sistemas el núcleo central de los filamentos gruesos que tienen miosina (Hultin, 1993).

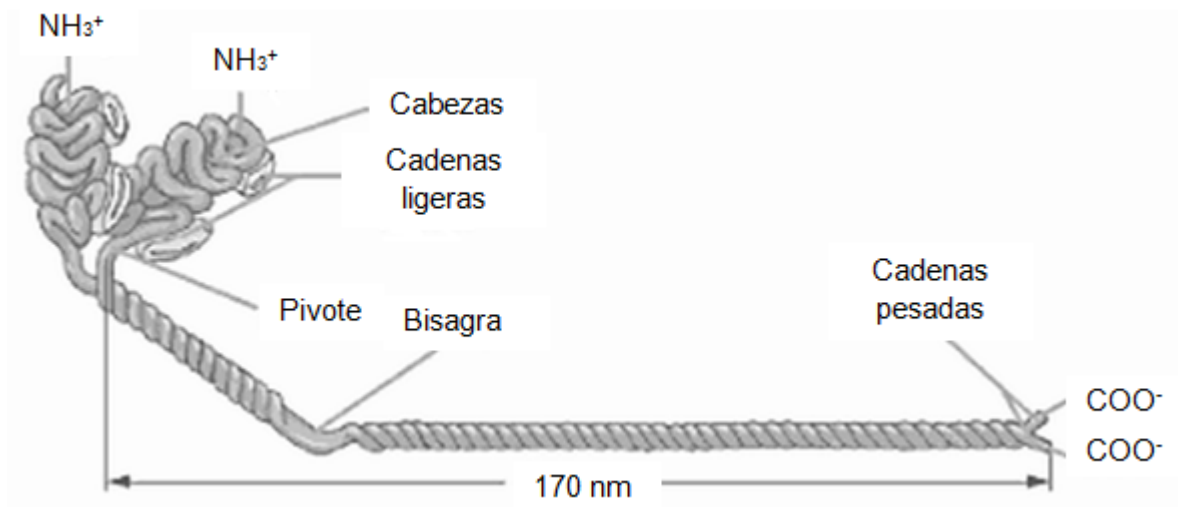


Figura 5. Representación esquemática de la estructura nativa de la molécula de miosina. (Teijón y Garrido, 2006).

Proteínas Sarcoplásmicas

Las proteínas sarcoplásmicas se conocen también con el nombre genérico de miógeno, constituyen del 25 al 30 % del total de las proteínas del músculo y son solubles en agua o en soluciones de bajas concentraciones de sal o fuerza iónica ($I < 0.05$) (Sikorski, 2001). Sus principales componentes son mioalbúmina, globulina, enzimas, entre otros (Badui, 2006). Otros constituyentes solubles en el sarcoplasma de organismos de origen marino comprenden los péptidos, aminoácidos, aminos, guanidina, purinas y urea. Todos ellos tienen un papel fundamental en la regulación del metabolismo celular, directamente en la catálisis enzimática, osmoregulación y transporte celular. Además, directa o indirectamente 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 concentración de proteínas sarcoplásmicas es mayor en peces pelágicos como la sardina y la macarela, y menor en demersales (Sikorski, 1994).

Proteínas Estromales o del Tejido Conectivo

Constituyen del 3 al 10 % de las proteínas del tejido muscular de organismos de origen marino. Son insolubles en agua o en soluciones salinas y se constituyen fundamentalmente por proteínas del tejido conectivo, tales como el colágeno, elastina, y lipoproteínas de la membrana celular, incluyendo retículo endoplásmico. Todas ellas muestran estructura fibrosa, y en la mayoría los tejidos, el colágeno es cuantitativamente predominante (Sikorski, 2001).

Alrededor del 10 % de la proteína del músculo de los mamíferos es colágeno; esta cantidad es generalmente mucho menor en pescados (Fennema, 2000). El contenido de esta proteína en la carne de pescado es baja y varía entre el 0.2 al 2 %, que es del 1 al 12 % de la proteína cruda. Parte del colágeno es soluble en disoluciones salinas neutras, otra parte es soluble en ácido y una tercera parte es insoluble (Sikorski, 2001).

Concentrado Proteico

Un concentrado proteico se define como aquel producto que se obtiene mediante la eliminación de los productos no proteicos, como lípidos, agua y minerales principalmente. Las técnicas empleadas para concentrar proteína se basan en el calentamiento a altas temperaturas, la utilización de solventes, etc., sin embargo, estas técnicas son muy drásticas y provocan una desnaturalización, lo que lleva a la pérdida de sus propiedades funcionales (Bourgeois y Le Roux, 1986).

Para la obtención de concentrados proteicos puede partirse desde la utilización de pescados enteros que no se comercializan por diversas razones, como tamaño pequeño o dañados en la transportación, que los hace inviables para el fileteado, desperdicios industriales de transformación como vísceras, desechos de fileteados (Bourgeois y Le Roux, 1986), así como de subproductos provenientes del rastro de res como de cerdo; pulmón, bazo, corazón, estomago, rumen, riñón y vísceras, de vegetales, en donde se busca enriquecer el contenido proteico sin que se modifiquen o se pierdan sus propiedades nutricionales (Linden y Lorient, 1994).

La obtención de concentrados proteicos, independientemente de la fuente o materia prima de donde se obtenga, tiene principalmente dos finalidades: la nutricional y/o funcional. La primera, está enfocada al enriquecimiento de alimentos y esto se debe al déficit de proteínas que existe a nivel mundial y que se percibe desde la década de 1950. Este déficit de proteínas ha llegado a convertirse en desnutrición en muchos países, lo que lleva a la necesidad de un mejor aprovechamiento de los productos de origen animal y vegetal, así como de los subproductos o desechos derivados de su procesamiento (Bourgeois y Le Roux, 1986). La segunda, está enfocada en cambiar o modificar los procesos de obtención de los concentrados proteicos, para evitar o reducir al mínimo la desnaturalización de la proteína y con esto obtener productos con mejores propiedades funcionales como la capacidad espumante, emulsificante y gelificante. Esta problemática no es reciente, por ello Cobb y Hyder (1972), desarrollaron un proceso de obtención de concentrado proteico con buenas propiedades de rehidratación y emulsificación, al emplear una mezcla de etanol y hexano a una temperatura moderada (70 °C).

Concentrados Proteicos Obtenidos de Especies Marinas

La elaboración de concentrados proteicos a partir de organismos marinos se basa en el mejor aprovechamiento de especies subutilizadas, o bien, que no se utilicen de la manera más eficiente, a pesar del gran potencial que pueden llegar a tener. Según Stillings y Knobl (1971) un concentrado proteico obtenido a partir de organismos marinos, se define como aquel en el que se concentran las proteínas hasta un 75 y 95 %, y es elaborado a partir de especies subutilizadas de bajo costo, que sea estable, saludable e higiénicamente preparado.

Por otra parte el comité consultivo sobre proteínas o P.A.G. (Protein Advisory Group) de la FAO, define al concentrado proteico de pescado como un producto estable, propio para el consumo humano, preparado a partir de pescados enteros (u otros animales acuáticos) o partes de pescado, donde la concentración de proteína aumenta debido a la eliminación de agua y, en algunos casos, del aceite, espinas u otras materias (Bourgeois y Le Roux, 1986).

Por décadas, gran parte de la elaboración de concentrados proteicos se realiza mediante la aplicación de calor y/o utilización de solventes (o ambos), lo que lleva a producir concentrados en presentación de harina, los cuales sirven para enriquecer alimentos para animales, gracias a su valor nutricional. Por ejemplo, la adición del 5 % de concentrado proteico a la harina de un cereal, aumentó el contenido de proteína de 11 a 15 %. Este enriquecimiento le permite alcanzar un valor nutritivo comparable al de la caseína, huevo y res, debido al contenido de aminoácidos esenciales que posee (Potter, 1978). Sin embargo, si se enfoca más en obtener productos con un mejor valor nutricional, se obtienen generalmente limitadas propiedades funcionales (Stillings y Knobl, 1971).

La harina de concentrados proteicos de especies marinas presenta el mismo problema que otros concentrados proteicos, como el de soja y algodón, a la hora de incorporarse a formulaciones de productos alimentarios con la finalidad de aportar una propiedad funcional sin éxito. Esto se debe a que las propiedades funcionales de las proteínas se reducen o se pierden durante la concentración de la proteína. Esto sucede porque se utilizan solventes y calor, que las desnaturaliza y pierden su capacidad emulsificante, espumante o gelificante, necesarias para la elaboración de productos tales como: productos de pastelería, bizcochos, sustitutos de carne en embutidos como el paté o salchichas, entre otros (Bourgeois y Le Roux, 1986).

Por décadas una alternativa para el uso de especies acuáticas subutilizadas, es la elaboración de surimi, producto de origen japonés que hace referencia al concentrado proteico (proteínas miofibrilares) obtenidos de pescados de carne blanca. El abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) y la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) son las especies

más utilizadas para la elaboración de este producto (Cortés Ruiz y col., 2001; Velázquez y col., 2007). Puede obtenerse principalmente mediante dos metodologías: el método tradicional del surimi, en donde se concentra la proteína (mayormente miofibrilar), mediante una serie de pasos que empieza por eviscerado y descabezado (separación mecánica del musculo), una serie de lavados con agua (tres a cinco ciclos), prensado, refinado; al concentrado de proteínas se le adiciona crioprotectantes, se congela y se obtiene el surimi (Lee, 1984). El otro método, es el desarrollado por Hultin y Kelleher (1999), en donde se obtienen concentrados proteicos cambiando los lavados continuos por disolución acida (pH 2.5-3.5) o alcalina (pH 9-10), seguida de una recuperación por precipitación isoelectrica (pH 5.0-5.5).

Se debe hacer notar que el surimi es un producto intermedio, el cual es utilizado posteriormente para la elaboración de productos gelificados (Hall y Ahmad, 1997). Por ello es muy importante la manera en que se concentran las proteínas y se almacenan hasta su utilización. Debido al cambio dramático que ha sufrido la industria del surimi en las pasadas décadas, donde la cosecha del abadejo de Alaska disminuyó de más de 6.5 millones de toneladas métricas a finales de 1980 a menos de 3 millones de toneladas desde el año 2000, lo que ha abierto la puerta para que nuevas especies puedan ser utilizadas para la elaboración de surimi. Asimismo, las nuevas tecnologías han abierto que nuevas fuentes de materia prima puedan ser utilizadas para la elaboración de surimi, como el uso de inhibidores de proteasas, para el aprovechamiento de la merluza del Pacífico, la tecnología del decanter y nuevas técnicas de lavado han permitido la utilización de especies grasas como la caballa (Park y Lin, 2005). De igual forma, la metodología tradicional de surimi ha sido adaptada a la sardina crinuda (*Opisthonema libertate*), la cual posee un músculo oscuro, sin embargo, los productos que se han obtenido son de baja calidad funcional-tecnológica (Cortés-Ruiz y col., 2001).

Para la elaboración de surimi, se prefieren especies magras y de músculo blanco sobre las especies grasas, esta preferencia se debe al color de su músculo (lo cual repercute de gran manera en la aceptación del consumidor), poca estabilidad, alto contenido de grasa y en algunos casos la presencia de histidina, que puede inducir reacciones alérgicas en consumidores (Suzuki, 1981). En base a estas características se plantea el uso del calamar gigante (*Dosidicus gigas*), debido a la abundancia que se presenta en el Mar de Cortés, el bajo costo, alto rendimiento (se aprovecha hasta el 75 % después de eviscerado), bajo contenido en grasa y el color blanco de su carne (Cortés-Ruiz y col., 2008; Luna y col., 2006).

Gelificación de Concentrados Proteicos

El principal uso de los concentrados proteicos y surimi es la elaboración de productos gelificados. La capacidad de las proteínas de formar geles se encuentra afectada por su solubilidad, que ésta a su vez se encuentra fundamentalmente relacionada con el equilibrio entre la hidrofobicidad e hidrofilia en la estructura proteica. Normalmente cuando las proteínas de la pasta son solubilizadas mediante la adición de sal (en razón de 1-3 %), la adición de ésta rompe enlaces iónicos dentro de las proteínas, las disuelve y desestabiliza su estructura molecular para la subsecuente desnaturalización térmica y promueve interacciones hidrofóbicas. Estas interacciones hidrofóbicas, el rearreglo de los enlaces de hidrógeno, así como los enlaces covalentes de las proteínas juegan un papel importante en la formación de la red proteica cuando el sol es calentado (Sánchez y col., 2007). La gelificación proteica consiste en la transformación de una proteína en estado de sol a estado de gel. El sol es una suspensión coloidal de partículas sólidas (de 1-1000 nm en tamaño) en un medio líquido, presenta plasticidad y viscosidad (Shahidi, 2007). El gel se obtiene como resultado del calentamiento del sol, a través del entrecruzamiento de proteínas mediante enlaces covalentes o no covalentes, para formar una red que inmoviliza el agua y otras sustancias de bajo peso molecular, impidiendo su flujo al aplicar una fuerza externa (presión o centrifugado) (Kijowski, 2001). Las fuerzas implicadas en la formación de la red son, fundamentalmente fuerzas atractivas (hidrofóbicas, electrostáticas, puentes de hidrógeno y/o puentes disulfuro) y repulsivas (electrostáticas y las interacciones agua-proteína) entre cadenas polipeptídicas (Fennema, 2000). El pH, así como el tipo y concentración de sal utilizada, afectan el grado de interacción entre las proteínas, ya que modifican su estructura terciaria y distribución de cargas, alterando con ello la naturaleza y estructura del gel (Pilosof, 2000).

Setting

Cuando el pescado lavado y picado (surimi), se muele con sal y es calentado de 35 a 40 °C por un periodo de tiempo, se forma un gel un poco transparente. Esta gelificación (“suwari” en japonés) se llama setting. Algunos estudios han reportado mejoras en las características texturales del surimi cuando este es calentado en un proceso de dos pasos, primero de 35 a 40 °C, por un corto periodo de tiempo, y después se somete a una temperatura de 80 a 90 °C por un corto periodo de tiempo. Se ha reportado que se obtiene un gel más rígido y menos elástico cuando el surimi se calienta de 80 a 90 °C sin el setting previo (Benjakul y col., 2002).

Estos resultados sugirieron que es esencial permitir la desnaturalización de las proteínas del músculo de pescado por calor para su alineación, permitiendo la agregación, antes de seguir calentando a altas temperaturas, lo que parece reforzar la interacción o interacciones formadas durante el setting.

Varios factores determinan la capacidad de formación del gel de proteínas de músculo de pescado. Algunos de ellos son la frescura del pescado, el método de pesca, la temporada, el tamaño y las especies. Se ha reportado que se puede elaborar surimi de mejor calidad de la mayoría de los peces blancos, pero la formación del gel es menos efectiva en el surimi de peces cartilagosos (Kijowski, 2001). Los estudios han indicado que la miosina es la proteína más importante que afecta la habilidad de formación del gel de pescado durante el setting a baja temperatura (Kimura y col., 1991). Además, se considera que la diferencia en las habilidades para formar gel entre los músculos de varias especies de pescado puede ser atribuida a la diferencia en los enlaces cruzados de la cadena pesada de la miosina (Takeda y Seki, 1996).

Principales Interacciones que Estabilizan los Geles Proteicos

Hidrofobicidad

El contenido y ubicación espacial de los aminoácidos hidrofóbicos han sido relacionados con las propiedades funcionales de las proteínas y estos tienden a localizarse en el interior de la molécula de proteína globular en solución, con el fin de evitar el contacto con el medio acuoso. No obstante, debido a impedimentos estéricos no todos los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran al interior de la proteína (Genovese y col., 2000). A estas regiones que aparecen en la superficie proteica se les llama “parches hidrofóbicos”, siendo de gran importancia, ya que intervienen en fenómenos como la tensión superficial, confiriéndole a la proteína muchas propiedades funcionales, como la interacción con compuestos con carácter hidrofóbico, además determina la solubilidad y susceptibilidad para agregarse bajo condiciones fisiológicas de pH, temperatura y fuerza iónica determinadas (Totosaus y col., 2002; Cardamone y Puri, 1992).

La determinación de la hidrofobicidad de superficie de las proteínas en alimentos es útil para evaluar sus propiedades de solubilidad y gelificación, en dicho análisis se determina básicamente la distribución y el grado de exposición de las regiones hidrofóbicas, ya que durante su plegamiento los residuos polares están expuestos hacia el exterior del sistema proteico (Marín-Martínez, 2002).

Concentración de Grupos Sulfhidrilos

Los grupos sulfhidrilos (SH) se consideran los grupos funcionales que presentan mayor reactividad en las proteínas. Por ello, su determinación es muy importante, ya que estos grupos intervienen en los enlaces que se pueden dar cuando la proteína cambia su conformación debido a una modificación en el pH, temperatura, concentración de sal o solvente, entre otras (Kim y col., 2003, Fennema, 2000). La disminución en los SH totales se debe principalmente a la formación de enlaces disulfuro, así pues, un incremento en la temperatura favorece las reacciones de desnaturalización y el paso de grupos sulfhidrilos (SH) a enlaces disulfuro (SS), lo que facilita la disociación y agregación de proteínas (Kim y col., 2003).

Por otra parte, algunos autores reportan que los SH y SS desempeñan una función importante en la formación de estructuras relativamente rígidas como los geles, ya que están implicados en los mecanismos de agregación de la miosina, debido a que ésta contiene 42 grupos SH, de los cuales alrededor del 68 % se encuentran en la región de la cabeza; el restante (32 %), está presente en el tallo (Chan y col., 1992). Cuando se aplica un tratamiento térmico a una proteína se provoca el desplegamiento de la estructura, permitiendo que se formen enlaces S-S, los cuales son esenciales para la formación de agregados en algunos sistemas proteicos (Boye y col., 1997). Otros autores mencionan que la formación de enlaces S-S entre las cadenas polipeptídicas que se ven involucradas en la gelificación proteica, no actúan como un estabilizador inicial de la red tridimensional, sino solamente alarga la cadena del polipéptido (Totousaus y col., 2002).

Características Texturales de los Geles Proteicos

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La habilidad de los alimentos proteínicos para retener agua endógena y/o agregada en su estructura contra diferentes fuerzas externas se debe principalmente a las proteínas (Sikorski, 2001). La capacidad de retención de agua (CRA) se refiere a la resistencia que opone una matriz proteica (como un gel, la carne o el pescado) para perder el agua inmovilizada (que es la suma del agua ligada, el agua hidrodinámica y el agua físicamente atrapada) bajo la acción de la fuerza gravitatoria (Fennema, 2000).

La CRA de una proteína está en función de varios parámetros como el tamaño, la forma, las características conformacionales, factores estéricos, balance de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos, y de la solubilidad de la proteína; así también, de factores extrínsecos como pH,

fuerza iónica, temperatura entre otros (Kinsella, 1981). La CRA está relacionada con la concentración de aminoácidos polares (ionizados o sin carga), pues ejercen una mayor influencia en las interacciones proteína-agua, por ser más solubles que los no polares. Los sitios más importantes de los aminoácidos son los $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ y $-\text{SH}$, los cuales tienen una mayor capacidad para ligar agua cuando se encuentran en su forma ionizada (Kinsella, 1981; Xiong, 1997).

En el caso particular de alimentos obtenidos a partir de tejidos musculares, el 97 % de la CRA está relacionada con las proteínas miofibrilares. La influencia de las proteínas estromales (colágeno) y proteínas sarcoplásmicas en la CRA es notablemente inferior en comparación con las proteínas miofibrilares (Sikorski, 2001).

En los alimentos, la capacidad de retención de agua de los preparados proteicos es más importante que la fijación misma en el alimento (Fennema, 2000). Por lo tanto, esta propiedad funcional tiene un gran impacto en la calidad de productos obtenidos a partir de tejidos musculares (sean éstos de origen marino o terrestre), ya que ésta determinará la aceptación de un producto (Huff y Lonergan, 2005).

Análisis de Perfil de Textura (APT)

El análisis de perfil de textura (APT) es un método objetivo correlacionado con el análisis sensorial de la textura. Este ensayo se basa en la compresión de una muestra dos veces seguidas, imitando el proceso de masticación. En geles se realiza con la muestra en forma de un pequeño cilindro, que se coloca sobre la plataforma de un texturómetro (tipo Prensa Instron, o similar). El gel se comprime hasta una altura determinada, dos veces a una velocidad constante, registrando la evolución de la fuerza (Pilosof, 2000).

En el APT se pueden evaluar los siguientes parámetros: “fuerza”, es la resistencia inicial a la punción (pendiente inicial de la curva de punción durante el primer ciclo); “fracturabilidad”, es la altura correspondiente a la primer rotura significativa durante la primer compresión; “cohesividad”, cada área representa el trabajo realizado en cada compresión, siendo una integral de fuerza sobre distancia (en función directa del trabajo necesario para vencer las uniones internas del material); “elasticidad”, es la habilidad del material para recuperar la forma original, está relacionada con la altura que el material recupera entre el final de la primera compresión y el inicio de la segunda (Bourne, 1978).

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto del setting en concentrados proteicos obtenidos del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), sobre los cambios fisicoquímicos y características texturales de los geles obtenidos.

Específicos

- Obtener un concentrado proteico a partir del manto de calamar gigante.
- Determinar la fraccionación de proteínas, el perfil electroforético, hidrofobicidad y sulfhidrilos totales en los pregeles durante el setting.
- Evaluar el efecto del setting sobre la propiedad gelificante de los geles obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desarrollo experimental del presente trabajo.

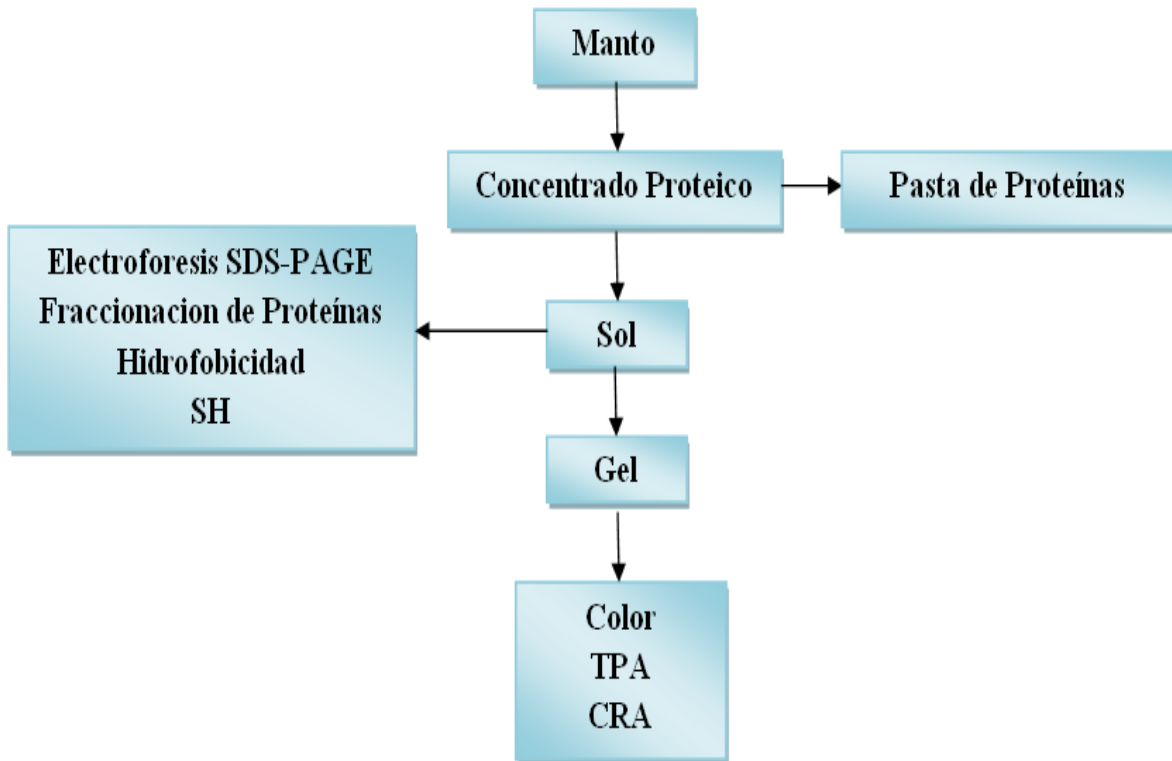


Figura 6. Diagrama de flujo general.

Materia Prima

Para el presente estudio se utilizó manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) congelado, el cual fue obtenido de un comercio en Hermosillo, Sonora. Inmediatamente, la materia prima se trasladó al Laboratorio de Marinos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora en un lapso de aproximadamente 20 min, dentro de una hielera hermética, en camas alternas de hielo-manto-hielo. Una vez en el laboratorio, el manto fue empacado en bolsas de tipo ziploc y congelado a -80 °C hasta su utilización.

Elaboración del Concentrado Proteico (CP)

Para la elaboración del CP se homogeneizó el manto con agua destilada en una proporción 1:3 durante 5 minutos. El homogeneizado preparado se centrifugó a 15,500 × g por 15 minutos a 4 °C en una centrifuga refrigerada. Una vez hecho lo anterior se obtuvieron dos fracciones: una sólida (CP) y una líquida, esta última se descartó. El concentrado proteico (CP) obtenido se empacó en bolsas de polietileno y se refrigeró para realizar los análisis posteriores.

Elaboración de Soles y Geles

Se prepararon soles utilizando 120 g de CP, con 2.5 % de NaCl y ajustando el contenido de humedad a 86 %. La mezcla elaborada se homogeneizó durante 1 minuto en un procesador de alimentos. El sol obtenido se colocó en placas Petri de vidrio (con una altura de 1 cm) y se empacó en bolsas de plástico selladas herméticamente. Los soles empacados se sometieron a un proceso térmico para su gelificación, el cual se describe a continuación:

PG-0: El sol no se sometió a proceso térmico.

PG-1: Un segundo sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 30 min.

PG-2: Un tercer sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 60 min.

PG-3: El siguiente sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 90 min.

PG-4: Una porción diferente de sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 30 min.

PG-5: El siguiente sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 60 min.

PG-6: El ultimo sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 90 min.

Y para la elaboración de geles se llevó a cabo el tratamiento presentado a continuación:

G-0 (Control): El sol se sometió a un proceso térmico para su gelificación a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-1: Un segundo sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 30 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-2: Un tercer sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 60 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-3: El siguiente sol se sometió a una temperatura de 30 °C / 90 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-4: Una porción diferente de sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 30 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-5: El siguiente sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 60 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

G-6: El último sol se sometió a una temperatura de 60 °C / 90 min, al cumplir este proceso térmico se llevó inmediatamente a una temperatura de 90 °C / 30 min.

Fraccionación de Proteínas

Para la determinación de esta propiedad funcional se utilizó la técnica descrita por Hashimoto (1979), detallada en la Figura 7. Inicialmente se homogeneizaron 20 g del sistema proteico (pregel) con 200 mL de buffer de fosfatos (Na_2HPO_4 19.1 mM, $\mu=0.05$, pH=7.5). Posteriormente el homogeneizado se centrifugó a 5,000 \times g por 15 minutos en una centrifuga refrigerada marca (Eppendorf, modelo 5804 R. Hamburg, Germany). El precipitado obtenido se homogeneizó con 200 mL del mismo buffer y se centrifugó nuevamente. Estos dos sobrenadantes se combinaron e inmediatamente se les adicionó 5 % de TCA. El precipitado obtenido se colectó y utilizó como la fracción de proteína sarcoplásmica, mientras que el filtrado se utilizó como la fracción correspondiente a nitrógeno no proteico (NNP).

La proteína insoluble a $\mu=0.05$ se homogeneizó con 10 volúmenes de buffer de fosfatos (Na_2HPO_4 19.1 Mm, $\mu=0.5$, pH=7.5, KCl 0.45M) y se centrifugó a 5,000 \times g por 15 minutos. El precipitado obtenido se homogeneizó de nuevo y se centrifugó de forma similar. Ambos sobrenadantes se combinaron y utilizaron como la fracción de proteína miofibrilar. La fracción insoluble a $\mu=0.5$ se mezcló de manera exhaustiva mediante agitación durante toda la noche utilizando una solución de NaOH 0.1 N. La solución proteica se centrifugó a 5,000 \times g por 15 minutos y, el sobrenadante fue considerado como la fracción de proteína soluble en álcali,

mientras que el precipitado, como proteína estromal; reportándose los resultados como porcentaje de la fracción proteica.

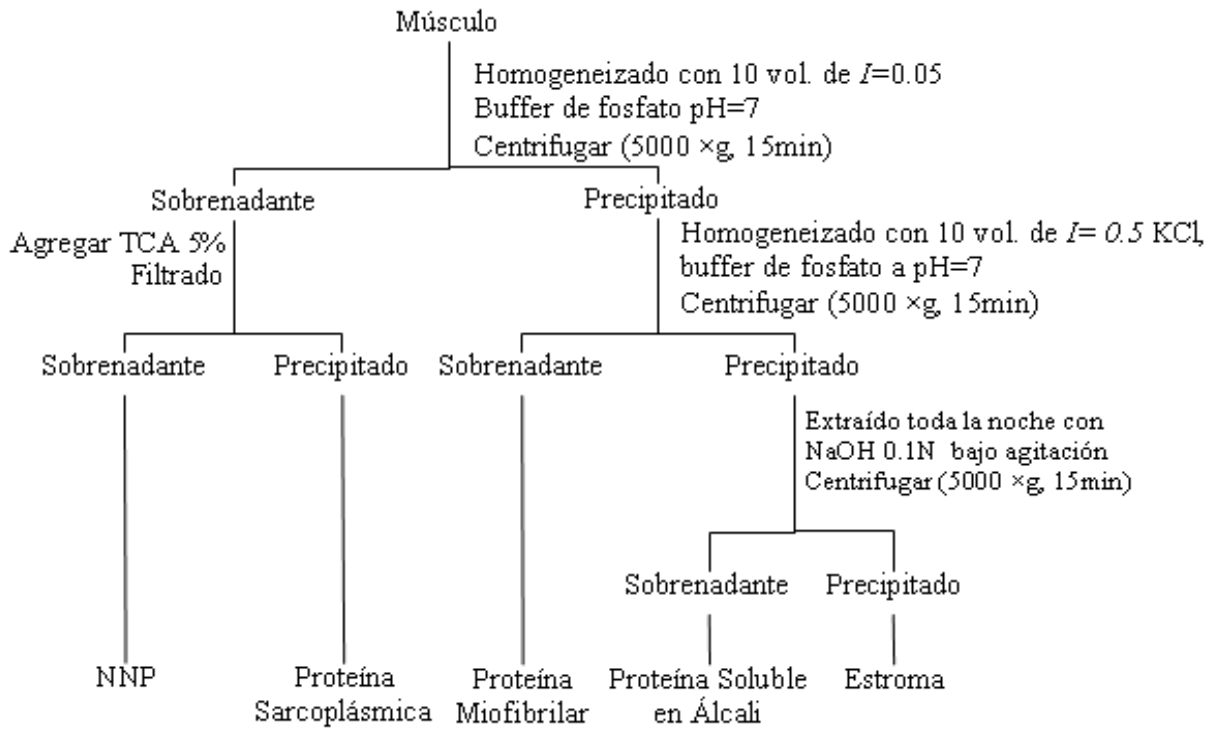


Figura 7. Procedimiento para la fraccionación de proteínas musculares (Hashimoto, 1979).

Perfil Electroforético (SDS-PAGE)

El perfil electroforético de las proteínas se determinó utilizando el sistema discontinuo descrito por Laemmli (1970) en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE por sus siglas en inglés). El sistema se mezcló en una relación 1:1 (v/v) con buffer muestra (Tris-HCl 0.125 M, SDS 4 %, glicerol 20 % v/v, azul de bromofenol 0.02 %, pH=6.8), enseguida se calentó en agua a ebullición durante 5 minutos y se enfrió en baño de hielo, para su posterior análisis electroforético.

Posteriormente se aplicaron 20 µg de proteína a un gel de poliacrilamida al 10 %, empleando para ello una unidad para electroforesis Mini PROTEAN[®]3 CellMulti-casting (Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA). Se utilizó una mezcla de proteínas estándar de amplio rango (Bio-Rad), la cual estuvo compuesta por las siguientes proteínas: cadena pesada de miosina (200 kDa), β-Galactosidasa (116 kDa), fosforilasa b (97 kDa), albúmina de suero bovino (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa) y anhidrasa carbónica (31 kDa). La corrida electroforética se llevó a cabo a temperatura ambiente empleando un voltaje de 80 volts. Finalmente, las bandas se tiñeron con azul Coomassie R-250 al 0.05 % y se destiñeron en una solución de metanol al 40 % y ácido acético al 7 %.

Para obtener el número de bandas promedio y la proporción de éstas en cada extracto, los geles se analizaron en un densitómetro de imágenes modelo GS-700 (Bio-Rad Laboratories., Hercules, CA). Posteriormente, se realizó un análisis de imagen utilizando el programa QuantityOne (Bio-Rad Laboratories/1998).

Hidrofobicidad de superficie (SoANS)

Se preparó una solución madre de proteína a partir de los sistemas proteicos (pregel) al 1.2 % (Tris-HCl 20 mM, NaCl 0.42 M a pH de 6.3), misma que fue serialmente diluida en el rango de 0 a 0.06 %. Posteriormente se adicionaron 80 µL de 1-anilino-8-naphthalenesulfonate (ANS) a una concentración de 15 mM. Enseguida 3 mL de la muestra se excitaron a 325 nm y la intensidad de la fluorescencia se midió a 420 nm en un espectrofotómetro de luminiscencia (Perkin Elmer, modelo LS 50 B, Mount Holly, New Jersey). El índice de hidrofobicidad de superficie (S_0) se determinó obteniendo la pendiente, al graficar intensidad de fluorescencia vs concentración de proteína (Kato y Nakai, 1980).

Sulfhidrilos Totales (SHT)

A 5 mL de muestra del sistema proteico (pregel) se le añadió 1 mL de 5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzoico) (DTNB) a una concentración de 2 mM (preparado en buffer de fosfatos pH 7.0) y se añadió 1.44 g de urea, con la finalidad de exponer todos los grupos sulfhidrilos presentes, posteriormente se dejó reposar por 40 min para desarrollar color. Se ajustó el volumen a 7 mL, la solución se agitó y se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente. Se tomó el sobrenadante y se registró la absorbancia a 412 nm. La concentración en la solución se calculó utilizando un coeficiente de extinción molar de 13,600 μM . (Patrick y Swaisgood, 1976).

Color

Se llevó a cabo la medición del color en los geles. Para ello se empleó el sistema objetivo de medición de color por colorimetría de triestímulo, utilizando un colorímetro Minolta (Modelo CR-300, N.Y.) en su modo de reflectancia. Se procedió a tomar lecturas en cuatro puntos diferentes para obtener los valores de L^* (luminosidad), a^* (matiz rojo-verde) y b^* (matiz amarillo-azul), a partir de los cuales se calculó el índice de blancura utilizando la siguiente ecuación (Lanier, 1992): Índice de blancura = $100 - [(100-L)^2 + a^2 + b^2]^{1/2}$.

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La capacidad de retención de agua se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Jiang y col. (1985). Inicialmente se pesaron muestras de 5 g (geles de CP), mismas que se centrifugaron en una centrifuga refrigerada (Eppendorf, modelo 5804 R. Hamburg, Alemania) durante 30 min a una fuerza centrífuga de 3000 x g a una temperatura de 4 °C. Después se descartó el agua liberada de los geles y estos se pesaron. Los resultados fueron reportados como porcentaje de agua retenido por la muestra, en relación a la cantidad de agua total presente en la muestra antes de centrifugar.

Análisis del Perfil de Textura (APT)

Se registró la fuerza necesaria para comprimir la muestra (fuerza del gel), la fuerza necesaria para generar la primera liberación de energía durante el ciclo de compresión (fracturabilidad), la elasticidad como la relación de la base del segundo ciclo de compresión sobre la del primero y, finalmente la cohesividad, la cual está determinada por la relación del área del segundo ciclo de compresión sobre la del primero. Para llevar a cabo este análisis el gel se sometió a una doble compresión del 75 %. En primer lugar los geles fueron cortados en porciones cilíndricas (1 cm x 1 cm), mismos que se dejaron templar a temperatura ambiente (25 °C / 30 min) antes de su análisis. Enseguida el perfil de textura de las porciones fueron evaluadas en un texturómetro Stable Micro Systems (Texture Technologies Corp., N.Y). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño factorial con dos factores principales: el factor principal A, temperatura (30, 60 y 90 °C); y el factor principal B, tiempo (0, 30, 60 y 90 min). El experimento se realizó dos veces (n=2) y cada una de las determinaciones se hicieron por duplicado. Las variables de respuesta fueron, textura, capacidad de retención de agua, color, sulfhidrilos y fraccionación de proteínas. El perfil electroforético se consideró como una variable descriptiva. Se realizaron comparaciones múltiples de Tukey usando un nivel de significancia del 5 %. Los datos se analizaron usando el programa JMP versión 5.0.1.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Fraccionación de Proteínas

Las fracciones proteicas obtenidas de los diferentes sistemas se muestran en la Tabla 1. El patrón de solubilidad fue significativamente diferente ($p < 0.05$) entre todos los sistemas para todas las fracciones proteicas ($AB^* < 0.05$). Diferencias en la solubilidad denotan cambios conformacionales en las proteínas por efecto de los tratamientos. Por lo tanto, el sistema PG-0 es la referencia para determinar la magnitud de los cambios ocurridos en las proteínas del resto de los sistemas. Como puede apreciarse, el patrón de solubilidad del sistema PG-0 es el patrón normal que presentan los soles elaborados a partir de manto de calamar; es decir, una elevada cantidad de proteína soluble a fuerza iónica (I) 0.05 a pesar de que gran parte de proteína soluble ya ha sido removida. Presenta un bajo contenido de proteína soluble en $I=0.5$, los cuales son notablemente inferiores a la fracción miofibrilar reportada para la parte anatómica comúnmente comestible (manto, 57.1 %) de calamar gigante, (Cortés y col., 2008), debido al alto contenido de proteína soluble a $I=0.05$ y soluble en álcali, principalmente. El alto contenido de proteína soluble en álcali es atribuido a que se ha utilizado muestra congelada. Se sabe que el proceso congelación-descongelación desnaturaliza proteínas, las cuales pueden ser detectadas en la fracción soluble en álcali.

Comparando los tratamientos a 30 y 60 °C, se puede apreciar que la fracción soluble en $I=0.05$ fue menor en los sistemas PG-4, PG-5 y PG-6. Lo anterior puede atribuirse a que estos sistemas estuvieron sometidos a un tratamiento térmico mayor, lo cual pudo repercutir en la desnaturalización proteica. Este mismo comportamiento fue encontrado en la fracción soluble en $I=0.5$ y en álcali. La idea de que en estos sistemas el tratamiento térmico más intenso desnaturalizó a las proteínas, se sustenta con un aumento significativo en el contenido de proteína insoluble a cualquier fuerza iónica e incluso en álcali. Lo anterior puede ser atribuido a que, a 60 °C una fracción de proteínas empieza a gelificar y por consiguiente, a formar interacciones proteicas, las cuales son insolubles. El contenido de proteína insoluble en relación a la proteína total se encuentra fuera del rango esperado para productos de la pesca (3-10 %) (Sikorski, 2001).

Se sabe que a dicha temperatura se favorece la formación de puentes disulfuro, así como las interacciones hidrofóbicas, lo que facilita la agregación, siendo éstas las principales interacciones químicas que gobiernan el inicio de la gelificación (Kim y col., 2003).

Tabla 1. Fraccionación de Proteínas presentes en los pre-geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Muestra	Soluble en fuerza iónica 0.05 (%)	Soluble en fuerza iónica 0.5 (%)	Soluble en Álcali (%)	Insoluble (%)
PG-0	16.71±0.02^A	30.01±0.03^A	21.43±0.02^A	0.29±0.02^F
PG-1	14.59±0.05^C	26.92±0.03^C	19.87±0.03^B	14.43±0.02^E
PG-2	14.86±0.03^B	27.16±0.05^B	18.15±0.03^D	15.73±0.04^D
PG-3	12.72±0.03^D	27.15±0.05^B	18.57±0.01^C	17.58±0.02^C
PG-4	5.73±0.05^E	15.72±0.04^D	12.15±0.03^F	36.30±0.03^B
PG-5	3.15±0.05^F	14.28±0.02^E	12.14±0.02^F	43.17±0.03^A
PG-6	2.84±0.05^G	14.24±0.03^E	12.22±0.03^E	43.34±0.03^A

Los datos son la media ± std de n=2. Diferentes superíndices en cada columna denotan diferencias significativas (p<0.05). PG-0 (Control): 90 °C/30 min. PG-1: 30 °C/30 min. G-2: 30 °C/60 min. G-3: 30 °C/90 min. G-4: 60 °C/30 min. G-5: 60 °C/60 min. G-6: 60 °C/90 min.

Perfil Electroforético (SDS-PAGE)

El perfil electroforético de las proteínas presentes en los pre-geles de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) se muestra en la Figura 8. El sistema PG-0 representa a las proteínas del sol, es decir, sin setting, en donde se aprecian las principales bandas características de concentrados proteicos de calamar gigante. Como puede apreciarse, no se detectaron diferencias entre el sistema PG-0 y los sistemas incubados a 30 °C (PG-1, PG-2 y PG-3), lo cual indica que la desnaturalización detectada en los patrones de fraccionación, no conlleva a la formación de agregados covalentes. También puede apreciarse que, el tiempo de incubación no presentó un efecto notorio en el patrón de bandeo. Lo anterior pone de manifiesto la poca o nula actividad proteolítica endógena en el concentrado proteico, lo cual puede deberse a que, estas enzimas fueron descartadas durante el proceso de obtención del concentrado proteico, el cual involucra el lavado de las proteínas musculares en una relación 1:3 (manto: agua).

Por otra parte, al igual que lo encontrado en la fraccionación proteica, se encontraron diferencias agudas al comparar los tratamientos sometidos a 30 °C con los de 60 °C (PG-4, PG-5 y PG-6). En éstos se observa la posible agregación de las cadenas pesadas de miosina con meromiosina ligera, debido a la aparición de bandas de PM mayor a 200 kDa y a la desaparición de bandas de aproximadamente 70 kDa. Es posible que la formación de estos agregados se deba a interacciones covalentes, es decir, mediante la formación de puentes disulfuro, ya que el tratamiento de la muestra con SDS sólo rompe interacciones electrostáticas y de Van der Waals, más no, puentes disulfuro. Se han reportado estudios en pargo y barracuda patuda, en donde a un setting prolongado la cadena pesada de la miosina disminuye notablemente en comparación con los sistemas que no tienen setting, esto atribuido a la reticulación de la proteína durante el tratamiento prolongado (Benjakul y col., 2002).

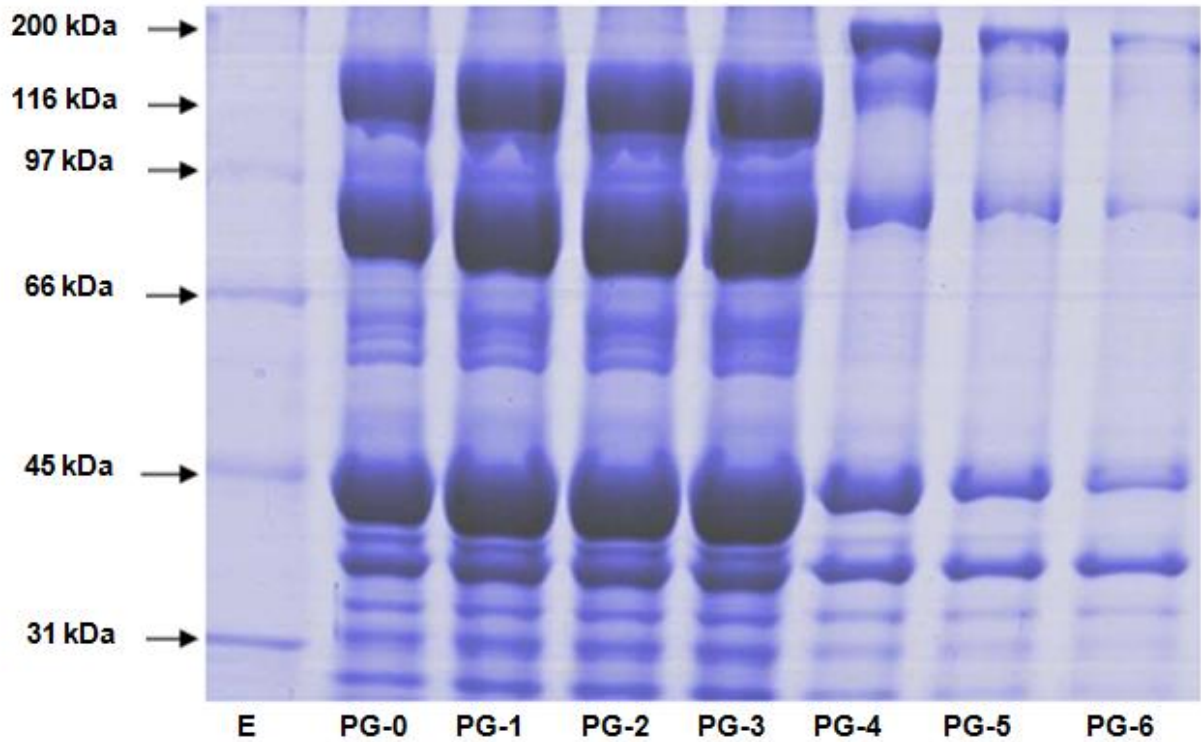


Figura 8. Perfil electroforético de los pre-geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). PG-0 (Control): 90 °C/30 min. PG-1: 30 °C/30 min. PG-2: 30 °C/60 min. PG-3: 30 °C/90 min. PG-4: 60 °C/30 min. PG-5: 60 °C/60 min. PG-6: 60 °C/90 min. E: estándar.

Hidrofobicidad de superficie (SoANS)

La hidrofobicidad es la tendencia de los solutos no polares de adherirse unos con otros en ambientes acuosos (Murphy y col., 1990). El número y tamaño relativo de los sitios hidrofóbicos de las proteínas determina su solubilidad y que tan propenso es a agregarse en condiciones fisiológicas de pH, temperatura y fuerza iónica (Schein, 1990). La aplicación de temperatura puede ocasionar cambios conformacionales en las proteínas, uno de estos cambios es el aumento o disminución en la hidrofobicidad de superficie. Las regiones hidrofóbicas de la superficie de la proteína generalmente determinan la solubilidad y susceptibilidad a formar agregados (Cardamone y Puri, 1992).

La hidrofobicidad de superficie obtenida de los diferentes sistemas se muestra en la Figura 9. Para este estudio se omitieron los sistemas PG-4, PG-5 y PG-6, en los cuales se aplicó una temperatura de 60 °C, debido a que gran parte de la proteína ya había formado gel, el cual no se homogeneizó en medio acuoso. Los sistemas presentaron valores de hidrofobicidad en orden descendente ($P < 0.05$), siendo mayor en PG-0 que en PG-3, lo cual puede deberse a una mayor solubilidad del sistema PG-0, tal y como se aprecia en la fraccionación. Lo anterior permite que más moléculas del reactivo ANS interactúen con regiones hidrofóbicas de las proteínas.

Un aumento en la hidrofobicidad suele ser indicativo de desnaturalización proteica, en especial del desplegamiento, ya que conforme la proteína se despliega expone una mayor proporción de aminoácidos hidrofóbicos, los cuales, en su estado nativo tienden a localizarse hacia el interior de la molécula. Dicho desplegamiento puede favorecer las interacciones hidrofóbicas entre las proteínas de los sistemas proteicos, obviamente repercutiendo en los patrones de solubilidad, tal y como se aprecia en la Tabla 1, en donde se observa un aumento considerable en el contenido de proteína insoluble.

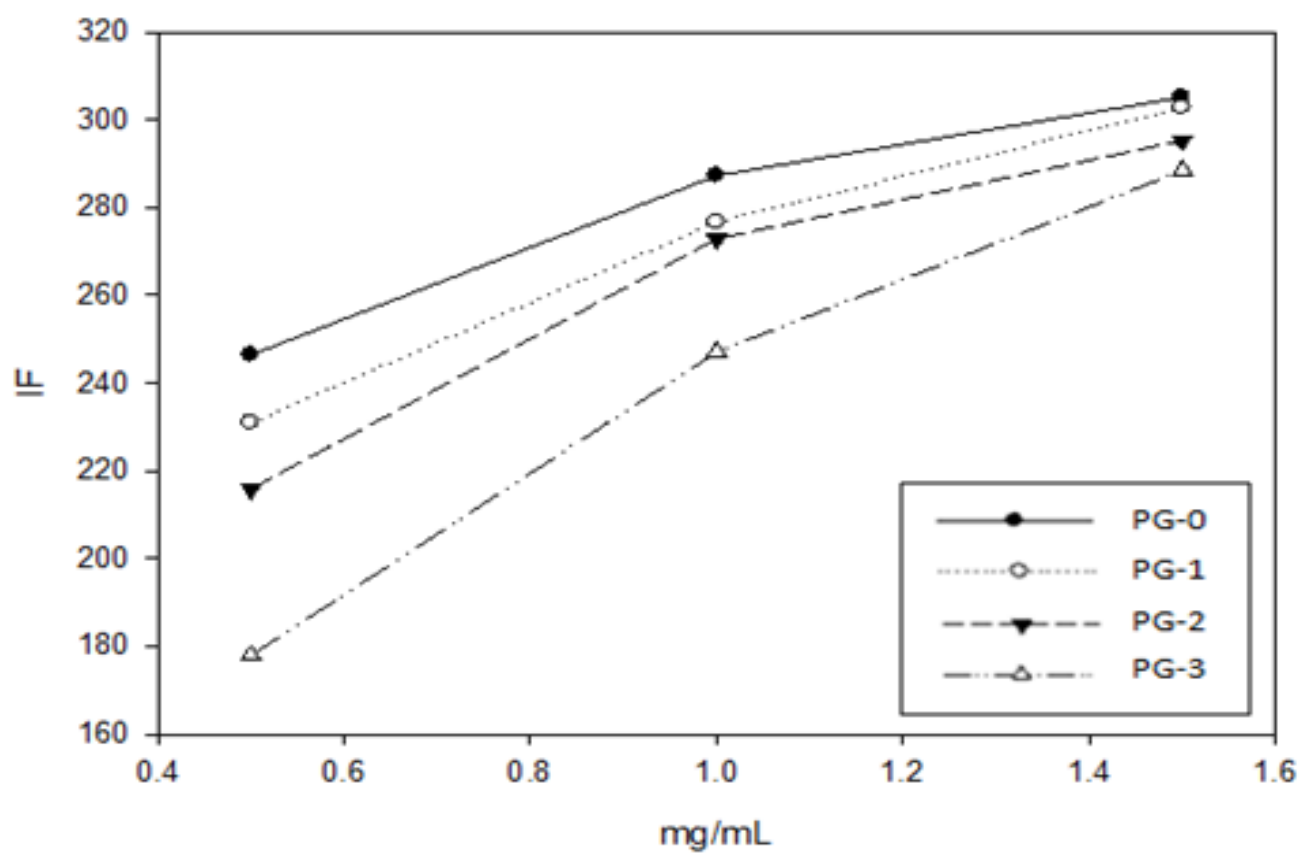


Figura 9. Hidrofobicidad de superficie de los pre-geles obtenidos a partir del setting de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). PG-0 (Control): 90 °C/30 min. PG-1: 30 °C/30 min. PG-2: 30 °C/60 min. PG-3: 30 °C/90 min.

Sulfhidrilos Totales (SHT)

En las primeras etapas del calentamiento ocurre el desplegamiento de la proteína, que promueve un aumento en la exposición de grupos SH y la consecuente formación de enlaces S-S inter o intra-moleculares, los cuales son esenciales para que se den agregados en algunos sistemas proteicos (Boye y col., 1997), en especial para la formación de estructuras rígidas como los geles. La miosina contiene 42 grupos SH, de los cuales aproximadamente el 68 % se encuentra en la región de la cabeza y el 32 % se localiza en el tallo (Chan y col., 1992). Por lo que, los grupos SH desempeñan un papel importante en la funcionalidad de la miosina. Por consiguiente, una disminución ($AB^* < 0.05$) en el contenido de SHT (Tabla 2) es un indicador de la posible formación de enlaces S-S. En este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el sistema PG-0 y los sistemas incubados a 30 °C (PG-1, PG2 y PG3), lo cual indica que el desplegamiento proteico asociado a la temperatura y tiempo de incubación no fue suficiente para inducir la formación de puentes disulfuro. Lo anterior pudo deberse a que, se requiere de mayor temperatura para favorecer la formación de enlaces S-S. Se ha reportado que la formación de S-S inicia en el rango de temperatura entre los 50-55 °C y, en ocasiones contribuyen a la fuerza y estabilidad del gel (Yongsawatdigul y Park, 1996).

En los sistemas proteicos incubados a 60 °C se aprecia una disminución significativa ($p < 0.05$), en comparación con los sistemas proteicos incubados a 30 °C. Dicha disminución puede deberse a la formación de S-S, ya que existen condiciones favorables para ello. El supuesto anterior puede basarse en el perfil electroforético, en donde, se observa agregación proteica en los sistemas incubados a 60 °C y que además, dicha agregación es debida a la formación de enlaces covalentes. Varias investigaciones reportan que los grupos SH y S-S desempeñan una función importante en la formación de estructuras, como los geles, debido a que están implicados en los mecanismos de agregación de la miosina, cuya proteína es mayoritaria en la fracción miofibrilar y, es la principal proteína a la que se le adjudican las propiedades funcionales (Badui, 2006; Kijowski 2001; Fennema, 2000). También puede apreciarse que, aún y cuando no es significativo ($p \geq 0.05$), la disminución de SHT se hace más evidente conforme aumenta el tiempo de incubación, lo cual puede deberse a que existe un mayor tiempo para que se lleve a cabo la interconversión de SH por S-S. Por otra parte, es probable que este valor de SHT (en los sistemas incubados a 60 °C) esté subestimado, debido a la dificultad de la determinación en proteína gelificada, la cual es difícil solubilizar.

Tabla 2. Contenido de sulfhidrilos totales (SHT) en los pre-geles obtenidos a partir del setting de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Muestra	PG-0	PG-1	PG-2	PG-3	PG-4	PG-5	PG-6
SHT	5.10±	5.44±	5.49±	5.43±	4.60±	4.59±	4.20±
(moles x 10 ⁵ g)	0.05 ^A	0.10 ^A	0.01 ^A	0.04 ^A	0.53 ^B	0.07 ^B	0.03 ^B

Los datos son la media ± std de n=2. Diferentes superíndices en cada columna denotan diferencias significativas (p<0.05). PG-0 (Control): 90 °C/30 min. PG-1: 30 °C/30 min. G-2: 30 °C/60 min. G-3: 30 °C/90 min. G-4: 60 °C/30 min. G-5: 60 °C/60 min. G-6: 60 °C/90 min.

Color

Para la elaboración de surimi se prefieren las especies magras y de músculo blanco, sobre las especies grasas y de músculo oscuro, esto se debe principalmente a lo susceptible que es el tejido oscuro a sufrir oxidaciones. Por otra parte, el color es uno de los factores más importantes que influyen en la aceptación de los alimentos por parte de los consumidores, prefiriendo la coloración blanca sobre la oscura (Nakamura y col., 1998; Suzuki, 1981). Por lo que, se plantea que el calamar gigante pueda ser una materia prima importante para estos fines, debido a que es una especie magra y de músculo blanco (Cortés-Ruiz y col., 2008; Luna y col., 2006). Aunque el empleo de las diferentes condiciones del setting nos proporcione geles con distintas propiedades, es importante analizar si el empleo del setting para la obtención de los geles repercute en la coloración de estos, por lo que los resultados se presentan a continuación.

Como puede observarse en la Tabla 3, para los valores de L^* (luminosidad), se encontraron diferencias significativas ($AB^* < 0.05$), presentando mayor claridad el gel G-6. Un comportamiento similar fue encontrado para el índice de blancura ($p < 0.05$), donde nuevamente el gel G-6 fue el que mostró un valor mayor. Lo anterior podría ser atribuible a que G-6 presentó el mayor valor de L^* . Asimismo, los altos valores de índice de blancura en todos los tratamientos, pueden ser atribuibles a los altos valores de L^* , pero también a los bajos valores en los parámetros de a^* y b^* . De acuerdo a los valores obtenidos de la colorimetría triestímulo, puede decirse que el empleo del setting afecta favorablemente los parámetros de color, principalmente el de luminosidad e índice de blancura, que son los indicadores más importantes, ya que se busca una coloración blanca en este tipo de productos.

Se encontraron diferencias significativas ($AB^* < 0.05$) en los valores de b^* (matiz amarillo-azul). De acuerdo con estos valores, se presentó una coloración ligeramente amarillenta para los geles con un setting de 60 °C a 30, 60 y 90 min. Esto pudiera atribuirse a que los geles G-4, G-5 y G-6 sufrieron un calentamiento más agresivo, en comparación con el resto de los tratamientos.

Tabla 3. Efecto del setting, sobre el color de geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Muestras	L*	a*	b*	Índice de Blancura
G-0	84.22±0.74 ^D	-2.60±0.01 ^D	3.32±0.23 ^D	83.67±0.76 ^D
G-1	84.38±0.08 ^D	-2.24±0.01 ^C	4.89±0.05 ^C	83.48±0.09 ^D
G-2	84.25±0.22 ^D	-2.19±0.08 ^{BC}	4.77±0.06 ^C	83.39±0.22 ^D
G-3	87.27±0.01 ^C	-2.13±0.01 ^{BC}	4.58±0.01 ^C	86.30±0.01 ^C
G-4	90.26±0.49 ^{AB}	-2.10±0.01 ^{AB}	5.86±0.01 ^{AB}	88.44±0.42 ^{AB}
G-5	89.24±0.03 ^B	-2.07±0.02 ^{AB}	5.61±0.01 ^B	87.69±0.03 ^B
G-6	91.54±0.14 ^A	-1.99±0.01 ^A	6.16±0.19 ^A	89.34±0.01 ^A

Los datos son la media ± std de n=2. Diferentes superíndices en cada columna denotan diferencias significativas (p<0.05). G-0 (Control): 90 °C/30 min (no setting). G-1: setting de 30 °C/30 min. G-2: setting de 30 °C/60 min. G-3: setting de 30 °C/90 min. G-4: setting de 60 °C/30 min. G-5: setting de 60 °C/60 min. G-6: setting de 60 °C/90 min. Después del setting todos los soles fueron calentados a 90 °C 30 min.

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La capacidad de retención de agua (CRA) de una proteína, es la habilidad de retener toda o parte del agua propia del sistema, es aún más importante que su capacidad de hidratación en aplicaciones alimentarias (Xiong, 2005). En la Tabla 4 se muestran los resultados de CRA, los cuales no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre ellos. Los resultados de CRA entre los diferentes geles oscilaron entre 68.71 ± 0.05 y 76.68 ± 0.09 %. Estos valores se encuentran en el rango de lo reportado para manto de calamar gigante y su respectivo concentrado proteico neutro (64.6 % y 81.5 %) (Cortés y col., 2008). Los valores de CRA obtenidos pueden deberse a la interacción proteína-agua, las cuales no se ven afectadas con la aplicación el setting.

Análisis de Perfil de Textura (APT)

Este análisis se determinó en los diferentes geles, la evaluación se realizó en un ciclo de doble compresión al 75 % y los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4. Se evaluaron cuatro variables principales, que fueron: fuerza, fracturabilidad, cohesividad y elasticidad. En la variable de fuerza se observó que los geles presentaron diferencia significativa ($AB^* < 0.05$), el control fue el que ocupó una mayor fuerza para poder comprimir el gel, ya que necesitó 735.35 ± 64.80 N, lo que demuestra que la aplicación de un tratamiento sin el setting previo contribuye a que el sistema se fortalezca.

Un gel más fuerte se formó cuando el CP fue calentado a 90 °C sin el setting previo; mientras que, en el resto de los geles los valores de fuerza presentaron un orden descendente, desde el sistema G-1 hasta el G-6, lo cual indica que, tanto la temperatura como el tiempo, tienen un efecto significativo en la dureza del gel. Un comportamiento similar se encontró en los parámetros de cohesividad ($p < 0.05$) y elasticidad ($AB^* < 0.05$), en donde el gel G-0 mostró valores de 0.52 ± 0.06 y 0.85 ± 0.01 , para cohesividad y elasticidad, respectivamente.

Tabla 4. Efecto del setting sobre la CRA y APT de geles obtenidos a partir de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Muestras	CRA(%)	Fuerza(N)	Fracturabilidad(N)	Cohesividad	Elasticidad
G-0	76.68±0.09 ^A	735.35±64.80 ^A	----	0.52±0.06 ^A	0.85±0.01 ^A
G-1	75.07±2.26 ^A	349.67±40.71 ^B	----	0.24±0.01 ^B	0.56±0.02 ^{BC}
G-2	76.20±2.53 ^A	327.94±12.61 ^{BC}	----	0.26±0.01 ^B	0.78±0.02 ^A
G-3	76.13±4.92 ^A	314.61±11.91 ^{BC}	----	0.21±0.01 ^B	0.63±0.01 ^B
G-4	76.12±0.47 ^A	264.11±28.15 ^{BC}	----	0.19±0.01 ^B	0.46±0.01 ^C
G-5	76.20±2.52 ^A	220.61±6.74 ^{CD}	----	0.22±0.01 ^B	0.46±0.08 ^C
G-6	68.71±0.05 ^A	127.06±3.08 ^D	----	0.26±0.02 ^B	0.46±0.03 ^C

G-0 (Control): 90 °C/30 min (no setting). G-1: setting de 30 °C/30 min. G-2: setting de 30 °C/60 min. G-3: setting de 30 °C/90 min. G-4: setting de 60 °C/30 min. G-5: setting de 60 °C/60 min. G-6: setting de 60 °C/90 min. Después del setting todos los soles fueron calentados a 90 °C 30 min.

Estos valores indican que, fue necesario aplicar más trabajo para romper las interacciones moleculares del sistema, lo cual se reflejó en los valores de fuerza de gel. Numakura y col., (1985), encontraron que la fuerza obtenida del gel elaborado a partir del abadejo de Alaska aumentó a medida que el tiempo del setting (a 20 y 30 °C) incrementó.

En otro estudio, realizado por Benjakul y col. (2002), se evaluó el efecto del setting a 25 °C en músculo de pargo patudo, barracuda y corvina patuda, se reportó un aumento tanto de fuerza de rotura como de deformación, para cada uno de los geles de las diferentes especies. Estos mismos geles, pero calentados posteriormente (90 °C por 20 min), presentaron un aumento significativo ($p < 0.05$) en la fuerza y deformación de gel (Benjakul y col., 2002), a diferencia de lo sucedido en el presente estudio. Lo anterior indica que, a diferencia de otras especies, no es recomendable el setting en la gelificación de proteínas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Esto pudiera ser atribuido a la actividad proteolítica endógena del músculo de calamar. En este sentido, Márquez-Álvarez (2015), trabajando con manto y aleta de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), reportaron que a 35 y a 55 °C se detectaron mayores valores de actividad proteolítica.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio se concluye que tanto el setting a 30 °C como el de 60 °C tuvieron efecto significativo sobre la calidad de los geles obtenidos del manto de calamar gigante.

Los geles elaborados con un setting de 30 °C mostraron una mejor calidad, en comparación con los geles de 60 °C, esto debido a que los geles con un setting de 60 °C mostraron favorecer la agregación de proteínas en los diferentes tiempos empleados, impidiendo mejorar las características del gel.

Los geles con un setting 60 °C mostraron en la mayoría de las pruebas resultados desfavorables para considerarlos aptos para su uso, debido a la baja calidad en cuanto a textura.

Los resultados obtenidos sugieren que esto es debido a que las interacciones presentes no permiten un acomodo en la estructura de las proteínas. Sin embargo, el setting como pretratamiento no resultó ser una buena alternativa para la gelificación de proteínas del manto de calamar, ya que el tratamiento control (no setting) fue el que mostró mejores características texturales.

RECOMENDACIONES

Para investigaciones futuras se recomienda partir de una muestra fresca, debido a que en este trabajo se uso una muestra obtenida de un establecimiento comercial de la ciudad.

Se recomienda trabajar con diferentes temperaturas, siempre y cuando no sean las reportadas con mayor actividad proteolítica.

En trabajos futuros, se recomienda estudiar el efecto del pH y fuerza iónica, en los diferentes tiempos y temperaturas del setting.

BIBLIOGRAFÍA

Badui, D. S. (2006). Química de los Alimentos. 4^{ta} ed. Ed. Pearson Addison Wesley. Mexico. pp. 154-163.

Benjakul, S; Visessanguan, W; Chantarasuwan, C., (2002). Effect of high-temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. Food Chemistry. 82: 567–574

Brown C, Kisiel J. 2003. Squid dissection: From pen to ink. Science Activities 40(1) :16-22.

Bourgeois, C. y Le Roux P. (1986). Proteínas animales: Extractos, concentrados y aislados en la alimentación humana. Coedición. Ed. El Manual Moderno. México. pp. 263-280.

Bourne M.C. 1978. Texture profile analysis. Food Technol. 32(7): 62-66, 72.

Boye, J. I., Ma. C. Y. & Harwalkar, V. R. (1997). Thermal denaturation and coagulation of proteins. En Food Proteins and Their Applications. Editorial Marcel Dekker Inc. New York, USA. Pp. 25-56.

Cardamone, M. and Puri, N. K. (1992). Spectrofluorimetric assessment of the surface hydrophobicity of proteins. *Biochemistry Journal*. 282, 589-593

Cárdenas, L. J. & Haard N. F. (2005).Cysteine proteinase activity in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) hepatopancreas extracts. *Journal of Food Biochemistry*. 29(2), 171-186.

Chan, J. K., Gill, T. A. & Paulson, A. T. (1992). Cross-linking ability of myosin heavy chains from cod, herring and silver hake during thermal setting. *Journal of Food Science* 57, 906-912

Cobb, B. F. y Hyder K. (1972). Development of a process for preparing a fish protein concentrate with rehydration and emulsifying capacities. *Journal of Food Science*. 37: 743-750.

Cortés-Ruíz, J. Pacheco-Aguilar, R., García-Sánchez G. y Lugo-Sánchez M. 2001. Functional characterization of a protein concentrate from bristly sardine made under acidic conditions. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 10(4): 5-23.

Cortés-Ruiz, J. Pacheco-Aguilar, R. Lugo-Sánchez, M. Carvallo-Ruiz, G. y García-Sánchez, G. (2008). Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation. *Food Chemistry*. 110, 486-492.

De la Fuente B.G., García C.F., Navarrete T.M., Pacheco A.R., Córdova M.J. (2008). Effect of storage at 0° C on mantle proteins and functional properties of jumbo squid. *International Journal of Food Science and Technology*. 43: 1263-1270.

FAO. 2010. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service (2010). Documento recuperado: <http://www.fao.org/docrep/015/ba0058t/ba0058t.pdf>.

Fennema, O.R. (2000). Química de los Alimentos, 2^{da} ed. Ed. Acribia, S.A. de C.V. pp 440-218.

Genovese, M. I., Lajolo F. M., & Añon, M. C. (2000). Determinación de Hidrofobicidad. En A.M.R Pilosof y G.B. Bartholomai (Eds.). *Caracterización funcional y estructural de proteínas*. (pp. 169-170). Argentina: Ed. Universitaria de Buenos Aires.

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

Hall, G.M. y Ahmad N.H. (1997). Fish Processing Technology. 2^{da} ed. Ed. Blackie Academic and Professional. pp. 74-91.

Hashimoto K, Watabe S, Kono M. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Bulletin of the Japanese society of scientific fisheries*. Nippon Suisan Gakkaishi. 4 (11): 1435-1441

Huff E, Lonergan SM. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*. 71: 194-204.

Hultin H.O. 1993. Características del Tejido Muscular. En: Fennema OR (ed.) Química de los alimentos. Zaragoza España, pp 815-888.

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

Jiang, S. Ho, M. y Lee, T.C. (1985). Optimization of the freezing conditions on mackerel and amberfish for manufacturing minced fish. *Journal of Food Science*, 50, 727-732.

Kato, A. and Nakai, S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 624, 13-20.

Kijowski, J. (2001). Muscle proteins. En: Z.E. Sikorski (Ed). *Chemical and functional properties of food proteins*. (pp 233- 264). New York: CRC Press LLC.

Kim, Y. S., Park, J. W. & Choi, Y. J. (2003). New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science*, 69(6), 1231-1239.

Kimura, I. M., Sugimoto, M., Toyoda, K., Seki, N., Arai, K., & Fujita, T. (1991). A study on the cross-links reaction of myosin in kamaboko "suwari" gels. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(8), 1386– 1396.

Kinsella JE. 1981. Functional properties of proteins: Possible relationships between structure and functions in foams. *Food Chem.* 7:273.

Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.

Lanier, T.C. (1992). Measurement of surimi composition and functional properties. En T.C. Lanier y C. Lee. *Surimi Technology*. (pp. 123-163). New York, NY: Marcel Dekker.

Lee CM. 1984. Surimi Process Technology. *Food Technol.* 38(11): 69-80.

Linden, G y Lorient, D. (1994). *Bioquímica agroindustrial*. 1^{ra} ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Lluch, M.A. Pérez, M.I. y Hernando, I. (2001). Proteins in food structures. En Z.E. Sikorski (Ed). *Chemical and functional properties of food proteins*. (pp. 13-33). E.U.A.: Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster – Basel.

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*. 6(22): 535-560.

Marín-Martínez, M.L. (2002). Efectos del tratamiento térmico en la hidrofobicidad, en los grupos –SH, en la antigenicidad y en la capacidad de ligar grasa de las proteínas cárnicas. Tesis Doctoral. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.

Markaida, U. & Sosa-Nishizaki, O. (2001). Reproductive biology of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, 1995-1997. *Fisheries Research*, 54(1), 63-82.

Márquez - Álvarez, L.R., Torres W., Ocaño V.M., Ramírez B., y Márquez E. (2015). Effect of bovine plasma protein on autolysis and gelation of protein extracted from giant squid (*Dosidicus gigas*) mantle. *Journal of Chemistry*.

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

Murphy, K. P., Privalov, P. L. & Gill, S. J. (1990). Effect of salt concentration and temperature on heat-induced aggregation and gelation of fish myosin. *Food Research International*, 25, 333 - 341.

Nakamura, T., Tanaka, R., Higo, Y., Taira K., & Takeda T. (1998). Lipid peroxide levels in tissues of live fish. *Fisheries Science*, 64, 617-620.

Nesis K. N. 1983. *Dosidicus gigas*. In: Boyle PR (ed.) *Cephalopod lifes cycles*, Vol. 1. Species accounts. Academic Press, London, pp. 216-231.

Nigmatullin CM, Nesis KN, Arkhipkin AI. 2008. 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.

Numakura, T., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fugita, T., Takama, K., & Arai, K. (1985). Cross-linking reaction of myosin in the fish paste during setting (suwari). Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 51(9), 1559–1565.

Ochiai Y, Chow C. 2000. Myosin ATPase. In: Haard NF, Simpson BK (eds.) Seafood enzymes utilization and influence on postharvest seafood quality. Marcel Dekker Inc, New York, pp. 69-70.

Otwell WS, Giddings GG. 1980. Scanning electron microscopy of squid, *Loligo pealei*: raw, cooked, and frozen mantle. Mar. Fish. Rev. 42(7-8): 67-73.

Park, J.W., Lin, T. M. (2005). Surimi: Manufacturing and Evaluation. En J.W. Park (Ed.), Surimi and Surimi Seafood (pp 35-98). Boca Raton, FL: Taylor & Francis.

Patrick, P.S. y Swaisgood H.E. (1976). Sulfhydryl and disulfide groups in skim milk as affected by direct ultra-high-temperatures heating and subsequent storage. *Journal of Dairy Science*, 59. 594-600.

Pilosof, A. M. R. (2000). Gelificación. En: A.M.R. Pilosof y G.B. Bartholomai (Eds). *Caracterización funcional y estructural de proteínas*. (pp. 75-77). Argentina: Ed. Universitaria de Buenos Aires.

Potter, N. (1978). La Ciencia de los Alimentos. 2^{da} ed. Ed. Editorial EdoMex S. A. Mexico, D.F. pp. 467-470.

Price JF, Schweigert BS. 1994. Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. 2^{da} ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Rosas LR, Salinas ZC, Koch V, Del Monte LP, Morales ZM. 2008. Importance of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Orbigny, 1835) in the pelagic ecosystem of the central Gulf of California. *Ecol. Model.* 228: 149-161.

Rope, C., Sweeney M. & Nauen C. (1984). "FAO Species Catalogue Vol.3: Cephalopods of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Interest of Fisheries". FAO Fish Sinop. 3, 181-183.

Sánchez-Alonso, I., Careche, M. & Borderías, A.J. (2007). Method for producing a functional protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Food Chemistry*, 100, 48–54.

Schein, C. H. (1990) *Bio/Technology* 8, 308-317

Shahidi F. 2007. Maximising the value of marine by-products. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 532 p.

Sikorski. Z.E. & Kolodziejaska, I. (1986). The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*. 20, 213-224.

Sikorski ZE. 1990. Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation. Fla. CRC. Press Inc. Boca Raton. 256 p.

Sikorski ZE. 1994. The myofibrillar proteins in seafoods. In: Shahidi F, Sikorski ZE, Sun PB, (eds.) *Seafood Proteins*. Chapman & Hall, New York, pp 40-57.

Sikorski ZE. 2001. Chemical and functional properties of food proteins. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster - Basel. USA. 490 p.

Stillings, B.R. y Knobl G. (1971). Fish protein concentrate: a new source of dietary protein. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48(8), 412-414.

Suzuki, T. (1981). Fish y krill protein: Processing Technology. Applied Science Publishers, Barking, Essex.

Takeda, H., & Seki, N. (1996). Enzyme-catalyzed cross-linking and degradation of myosin heavy chain in walleye pollack surimi paste during setting. *Fisheries Science*, 62(3), 462–467.

Teijón J, Garrido A. (2006). *Fundamentos de Bioquímica Metabólica*. 2nd ed. Tebar Flores.420 p.

Tolano-Villaverde I.J. (2013). Efecto del pH y Concentracion de Quitosano sobre la Propiedad Gelificante y Cambios Conformationales de las Proteinas Presentes en un Concentrado Proteico de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*).

Tolano-Villaverde I.J., Ezquerro-Brauer J.M., Ocaño-Higuera V.M., Ramirez-Wong B., Armenta-Villegas L., Herrera-Urbina R., Magaña-Barajas E. y Marquez-Rios E. (2013) A Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Protein Concentrate Obtained by Alkaline Dissolution and Its Conformational Changes Evaluation. *Food Sci. Technol. Res.*, 19 (4), 601 – 608.

Totosaus, A., Montejano, J., Salazar, J. y Guerrero-Legarreta, I. (2002). A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 589-601.

Velázquez, G., Miranda P., López G., Vázquez M., Torres J.A. y Ramírez, J.A. 2007. Effect of recovered soluble proteins from pacific whiting surimi wash water on the functional and mechanical properties of Alaska Pollock surimi grade FA. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* , 5(5): 340-345.

Xiong, Y.L. (1997). Structure-function relationships of muscle proteins. En: S. Damodaran y A. Paraf (Eds). *Food proteins and their applications*. (pp. 341-392). Nueva York, E.U.A.: Marcel Dekker Inc.

Xiong, Y.L. (2005). Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. *Food Research International*, 38, 281-287.

Yongsawatdigul, J. and Park, J.W. 1996. Linear heating rate affects gelation of Alaska pollock and Pacific whiting surimi. *Journal of Food Science*, 61:149-153.

Zeidberg LD, Robison BH. 2007. Invasive range expansion by the Humboldt squid, *Dosidicus gigas*, in the eastern North Pacific. Proc. Natl. Acad. Sci. 104: 12948–12950.