



**Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo, A. C.**

**ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-  
CARBOHIDRATO EN UN PRODUCTO EXTRUIDO A  
BASE DE CALAMAR, PAPA Y MAÍZ Y SU EFECTO EN  
SU CALIDAD NUTRICIA Y TECNOLÓGICA**

Por

**José Luis Valenzuela Lagarda**

TESIS APROBADA POR LA:

CORDINACIÓN CIAD CULIACÁN

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORADO EN CIENCIAS**

Culiacán, Sinaloa.

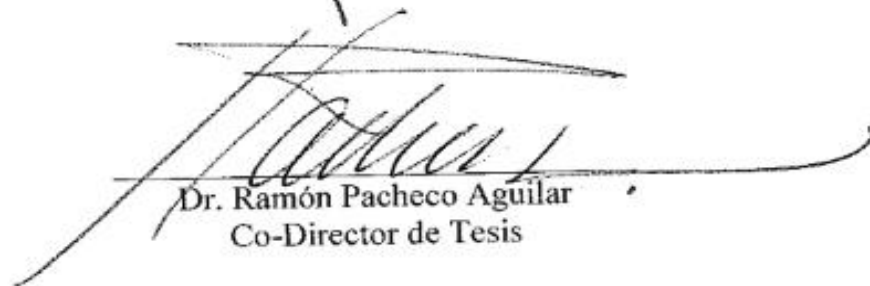
Agosto, 2017

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis del MC. José Luis Valenzuela Lagarda la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de



Dra. María Dolores Muiy Rangel  
Directora de Tesis



Dr. Ramón Pacheco Aguilar  
Co-Director de Tesis



Dr. Miguel Ángel Mazorra Manzano  
Asesor

ROBERTO GUTIERREZ DOMADO  
Dr. Roberto Gutiérrez Dorado  
Asesor

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis o directora de tesis.

---

Dr. Pablo Wong González  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico otorgado y con ello, la oportunidad para concretar un posgrado, brindando a jóvenes, académicos e investigadores en formación a acceder a una capacitación de alta especialidad.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., en particular a la Coordinación Culiacán, por abrirme sus puertas y formar parte esta Institución.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Hermosillo en especial al Laboratorio de Lácteos, por su contribución en la estandarización y desarrollo experimental de esta Tesis.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial al Laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales y al Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, por la disponibilidad de las instalaciones, equipos y unidades experimentales para la realización de la fase experimental.

Ha llegado la culminación de esta maravillosa etapa de mi vida profesional, y en estos momentos la frase “No hay enseñanza sin investigación, ni investigación sin enseñanza” (Paulo Freire) encaja perfectamente en este capítulo de la historia; el cual no podría ser posible sin el apoyo de muchísimas personas que me acompañaron en este sendero de la ciencia.

Deseo agradecer especialmente a la Dra. María Dolores Muy Rangel, por permitirme ser partícipe de este proyecto de investigación, por su constante apoyo, su paciencia, consejos y regaños, que me permitieron evolucionar como estudiante, investigador y lo más importante, como persona, un gracias no bastará para expresar mi agradecimiento hacia usted.

Al Dr. Ramón Pacheco Aguilar, por compartir sus conocimientos y experiencia conmigo, por ser siempre un gran apoyo en lo académico y sobre todo en lo personal; cada charla académica con usted fue muy productiva.

Al Dr. Miguel Angel Mazorra Manzano por aceptar ser parte de mi Comité de Tesis, por acompañarme en este sendero del conocimiento, y compartir conmigo su experiencia y conocimiento.

Al Dr. Roberto Gutiérrez Dorado, muchas gracias por ser partícipe de mi Comité de Tesis y brindarme su amistad, porque hubo momentos en que deseaba tirar la toalla, y siempre estaba usted para darme aliento a continuar con el siguiente *round*.

A la M.C. María Elena Lugo Sánchez, que ha sido mi guía durante este camino, gracias por sus importantes aportaciones a esta investigación, y sobre todo por sus consejos y su incondicional amistad.

Dr. Jaime Lizardi Mendoza, por sus valiosas aportaciones en la estrategia de estudio y metodología de esta investigación, así como, su gran dedicación y compromiso con el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. José Ángel López Valenzuela, una vez más tuve la oportunidad de trabajar con usted y poder aprender tanto de su experiencia profesional, como de sus consejos y manera personal, muchas gracias.

Al Dr. José Benigno Valdez Torres, por adentrarnos en el mundo de la investigación y filosofía de la investigación, y quien, aunque no forma parte de mi Comité de Tesis siempre estuvo presente para orientar en las dudas de índole estadística, muchas gracias por todo su apoyo.

Al Dr. José Basilio Heredia, le expreso mi más sincero agradecimiento por compartir sus conocimientos y observaciones que fueron vitales para el desarrollo de esta investigación, además de siempre estar al pendiente de mi avance en la investigación, por su apoyo moral y profesional.

Un enorme agradecimiento a la Dra Josefina León Félix, por estar siempre cuando más lo necesitaba, y encontrar las palabras de aliento adecuadas para cada situación.

A la Dra. Nohelia Castro del Campo, por estar siempre dispuesta a apoyarnos en las cuestiones de índole académicas, y por velar por los intereses de los estudiantes de CIAD, Culiacán.

Gran parte de esta investigación no podría ser posible sin el apoyo incondicional del Ing. Héctor Manuel Alvarado Hernández, Ing. Caleb Ramírez Esparza, la Ing. Alarcón Gutiérrez Diana Fabiola y la Ing. Romero López Itzel Fabiola, muchas gracias por su contribución en el desarrollo experimental, pero sobre todo por su amistad.

A Q.F.B. Célida Martínez, I.B.Q. Claudia Olmeda, Q.F.B. Lorena Barraza, M.C. Rosabel Vélez, M.C. Verónica Pérez, M.C. Edith Salazar, I.B. Rosalba Contreras, Ing. Werner Rubio, M.C. Eduardo Sánchez por el apoyo técnico, por compartirme sus conocimientos y por brindarme su amistad.

A la L.B. María Magdalena Vallejo Sánchez e I.I.A. Dominique Moreno Ayala, por todo el apoyo en la obtención de artículos científicos, los cuales fueron de gran utilidad para la realización de este proyecto de investigación, por su asistencia técnica en la biblioteca y por brindarme su amistad, muchas gracias.

A la I.B.Q. Evelia Araiza Lizarde, por su valioso apoyo en todas las necesidades de mi proyecto, siempre ahí estuvo y por su amistad.

Al departamento administrativo de CIAD-Culiacán por dar seguimiento a los trámites necesarios para culminar mi investigación.

Al M.I. Marco César Martínez, L.I. Jorge Manjarrez, C. Marco Cesar García y C. Raúl Reyes, por su apoyo técnico y disponibilidad.

A mis compañeros del curso de Seminario de Investigación, los ahora ya doctores: Andrés Medrano, Diana Urías, Mitzi Estrada, Dulce Ambriz, Paola Picos, Anabel Altamirano. A los que siguen en este apasionante camino de la investigación: Mercedes Verdugo, en especial a mi compañero de generación Brando Álvarez, Indira Rojo, Talia Martínez, Nayely Leyva, Mirian González, Rubén León, por sus asesorías y apoyo, por brindarme su amistad, siempre tendrán un lugar muy especial en mi vida.

Y a todos aquellos que han estado presentes día con día en la comunidad de CIAD, y de forma directa o indirecta han contribuido con el desarrollo de este proyecto de investigación.

**MUCHAS GRACIAS!!!**

## **DEDICATORIA**

La culminación de esta parte de mi vida la dedico a mi esposa Rocío Arianna Azúcar Sosa, quien ha sido mi mayor inspiración, muchas gracias por el apoyo incondicional. Por estar siempre a mi lado en los desvelos, recaídas y malos ratos; y compartir los momentos de júbilo y alegría que han venido acompañando estos cuatro años de mi vida como estudiante de doctorado.

A mi mamá María de los Ángeles Lagarda Sánchez y a mi padre José Luis Valenzuela Sánchez, por estar siempre gran apoyo y entusiasmo que han sido el empuje para salir adelante, por que como le han dicho desde pequeño, la mejor herencia es la educación.

A mi hermano y amigo Julio Alberto Valenzuela Lagarda, por ser mi amigo, compañero y colega de estudio, por sus aportaciones, consejos y buenos ratos.

A mi sobrino y ahijado Julio Miguel Valenzuela López, que vino a alegrar nuestros días precisamente el día de presentación de mis exámenes pre-doctorales; dándome la alegría, energía y buenas vibras para concluir exitosamente esa fase vital de mis estudios Doctorales.

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>3</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>12</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>13</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>15</b>
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>17</b>
<b>2.- ANTECEDENTES</b> .....	<b>21</b>
2.1. Generalidades de Calamar Gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	21
2.2 Importancia Económica.....	24
2.2.1 Internacional .....	24
2.2.2 Nacional.....	25
2.3 Descripción de la Especie <i>Dosidicus gigas</i> .....	26
2.3.1. Taxonomía y Origen .....	26
2.3.2. Composición Nutrimental.....	28
2.3.2.1 Proteína. ....	28
2.3.2.2 Aminoácidos. ....	28
2.3.2.3 Lípidos. ....	30
2.3.2.4 Carbohidratos.....	31
2.4 Calamar como Alimento .....	31
2.4.1. Comercialización en Fresco.....	32
2.4.2. Comercialización como Producto Procesado .....	32
2.5. Alternativas de Comercialización de Alimentos .....	33
2.5.1 Alimentos Deshidratados.....	33
2.5.2 Alimentos Refrigerados .....	34
2.5.3. Alimentos Envasados .....	34
2.5.4. Alimentos Salados (Salazón).....	36



2.5.5. Alimentos Extruidos .....	37
2.6. Procesos de Extrusión en Alimentos .....	38
2.6.1. Factores que Influyen en el Proceso de Extrusión.....	42
2.6.1.1. Condiciones del proceso de extrusión.....	42
2.6.1.2. Efecto de la temperatura. ....	42
2.6.1.3. Humedad. ....	43
2.6.1.4. Proteína .....	43
2.6.1.5. Contenido de almidón. ....	43
2.7. Calidad de los Alimentos Extruidos .....	44
2.7.1. Calidad Nutricional .....	44
2.7.2. Características Físicas.....	45
2.7.2.1. Expansión.....	45
2.7.2.2. Densidad aparente.....	46
2.8. Efecto de la Interacción Proteína-Carbohidrato en la Calidad de Productos Extruidos.....	47
2.8.1. Determinación de las Interacciones Proteína-carbohidrato .....	47
2.8.1.1. Microscopía electrónica de barrido.....	47
2.8.1.2. Calorimetría diferencial de barrido (CDB). ....	50
2.8.1.3. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) .....	52
<b>3. HIPOTESIS.....</b>	<b>55</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>56</b>
4.1. Objetivo General.....	56
4.2. Objetivos Específicos .....	56
<b>5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>
<b>6. BOTANAS EXPANDIDAS A BASE DE MEZCLAS DE HARINAS DE CALAMAR, MAÍZ Y PAPA: EFECTO DE LAS VARIABLES DEL PROCESO SOBRE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS .....</b>	<b>66</b>
6.1. Resumen .....	67
6.2. Abstract .....	67
6.3. Introducción.....	68
6.4. Materiales y Métodos .....	70
6.4.1 Materiales .....	70
6.4.2. Preparación de la Muestra .....	70
6.4.3. Análisis Proximal y Contenido de Minerales .....	71
6.4.5. Índice de Expansión (IE) .....	72
6.4.6. Densidad Aparente (DA) .....	72
6.4.7. Firmeza .....	72

6.4.8. Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)	73
6.4.9. Porcentaje de Digestibilidad de la Proteína <i>in vitro</i> (PDPV)	73
6.4.10. Análisis Estadístico	74
6.5. Resultados y Discusión	74
6.5.1. Análisis Proximal y Contenido de Minerales de las Diferentes Formulaciones	74
6.5.2. Índice de Expansión (IE)	75
6.5.2. Densidad Aparente (DA)	80
6.5.3. Firmeza (F)	81
6.5.4. Índice de Solubilidad (ISA) y de Absorción en Agua (IAA)	84
6.6. Conclusiones	85
6.7. Declaración de Divulgación	86
6.8. Referencias	86

**7. RELATIONSHIPS BETWEEN PHYSICAL AND MORPHOMETRICAL PROPERTIES AND THE TEXTURE OF AN EXTRUSION-EXPANDED SNACK MADE FROM SQUID (*Dosidicus gigas*)..... 90**

7.1. Abstract	91
7.2. Resumen	91
7.3. Introduction	92
7.4. Materials y methods	94
7.4.1 Materials	94
7.4.2. Sample Preparation	95
7.4.3. Elaboration of the Extrusion-Expanded Snacks	95
7.4.4 Expansion Rate (ER)	96
7.4.5. Apparent Density (AD)	96
7.4.6 Texture Parameters	96
7.4.7. Acquisition of Images with ESEM	97
7.4.8. Digital Imaging Analysis (ADI)	97
7.4.9. Fractal Dimension ( $D_f$ ) and Lacunarity ( $L_g$ )	98
7.4.10. Statistical Analysis	98
7.5. Results and discussion	98
7.5.1. Expansion Rate (ER)	98
7.5.2 Apparent Density (AD)	100
7.5.3. Texture Parameters	101
7.5.4. Microstructure Analysis	103
7.5.5. Morphometric Changes	104
7.6. Conclusions	108
7.7. Disclosure Statement	108

7.7. Referencias .....	108
<b>8. COMPONENTES FUNCIONALES DE LA INTERACCIÓN DE PROTEÍNA DE CALAMAR Y HARINA VEGETAL DE UNA BOTANA EXPANDIDA POR EXTRUSIÓN MEDIANTE ESTUDIOS DE FTIR Y SEM.....</b>	<b>114</b>
8.1 Resumen .....	115
8.2 Introducción.....	116
8.3 Materiales y métodos.....	118
8.3.1 Materiales .....	118
8.3.2. Preparación de la muestra.....	118
8.3.3. Elaboración de botanas expandidas por extrusión.....	119
8.3.4 Análisis proximal y contenido de minerales.....	119
8.3.5 Porcentaje de digestibilidad de la proteína in vitro (PDPV).....	120
8.3.6. Propiedades calorimétricas .....	120
8.3.7. Análisis estructural por FTIR .....	121
8.3.8 Análisis estadístico .....	121
8.4. Resultados y discusión .....	122
8.4.1 Análisis proximal.....	122
8.4.2. Digestibilidad de proteína in vitro (PDPV) .....	122
8.4.3 Propiedades calorimétricas .....	125
8.4.4. Análisis estructural por FTIR .....	127
8.5 Conclusiones .....	129
8.6. Referencias .....	131
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>133</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Anatomía de <i>Dosidicus gigas</i> . Adaptado de Brown y Kisiel (2003). .....	22
<b>Figura 2.</b> Distribución geográfica del calamar gigante. Tomado de INAPESCA, 2014. ....	23
<b>Figura 3.</b> Extrusor de alimentos de tornillo simple: 1 motor, 2 alimentador, 3 camisa de refrigeración, 4 termopar, 5 tornillo, 6 barril, 7 chaqueta de calefacción, 8 cabeza, 9 fin, 10 cortador. I Sección de transporte, II Sección de compresión, III Sección de fusión. Fuente: (Harper, 1989) .....	40
<b>Figura 4.</b> Emisión de campo de microscopio electrónico de barrido (50x) de galletas de pescado-almidón (tapioca-camote) extruidos. A1-A5: mezcla 30:70 harina de pescado-almidón (tapioca-camote); B1-B5: mezcla 40:60 de pescado almidones. (%) * Denota el porcentaje. Fuente: Noorakmar et al. (2012). ....	49
<b>Figura 5.</b> Termograma de calorimetría diferencial de barrido de filetes de manto de calamar fresco y deshidratado a diferentes condiciones. HPD: secado con bomba de calor. HPD + 1 FIR, + 5FIR, +8 FIR: Secado con bomba de calor asistido con radiación infrarroja (Deng, 2014). ....	51
<b>Figura 6.</b> Espectro de FTIR de aislados de proteína de soja (A), aislados de proteína de trigo (B), aislados de proteína de maíz (C), aislados de proteína de soja + aislados de proteína de trigo + aislados de proteína de maíz + glucomanano de konjac AP (D) y glucomanano de konjac (E) (Widjanarko et al., 2010). ....	54

## LISTA DE TABLAS

<b>Cuadro 1.</b> Clasificación taxonómica del calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ) .....	27
<b>Cuadro 2.</b> Contenido nutrimental del calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ). .....	29

## RESUMEN

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es una de las especies de mayor interés comercial como fuente de proteína, y posee potencial para el desarrollo de botanas expandidas por extrusión (BEE). Las BEE se preparan principalmente a partir de almidón. Sin embargo, la adición de proteína animal permite aumentar su valor nutricional. Estudios recientes señalan que es factible combinar proteína de origen marino con diferentes fuentes de almidón para la elaboración de BEE. La incorporación de calamar deshidratado para elaborar un producto tipo botanas, requiere el estudio de las condiciones del proceso de extrusión y la interacción proteína-almidón (IPA) para producir un alimento con características fisicoquímicas adecuadas. El objetivo del presente trabajo fue explicar el efecto de las interacciones proteína-carbohidrato sobre la calidad nutricia y tecnológica de un producto extruido a base de harina de calamar, papa y maíz. Se determinó el efecto de las condiciones del proceso de extrusión [Temperatura (T) y velocidad de tornillo (VT)] y la relación papa/maíz (RPM) mezclada con calamar sobre las propiedades fisicoquímicas [índice de expansión (IE), densidad aparente (DA), firmeza (F), índice de solubilidad en agua (ISA) e índice de absorción de agua (ISA)] y porcentaje de digestibilidad de proteína *in vitro* (PDPV). El estudio se realizó bajo un diseño de experimentos de tres factores: T= 130, 140, 150, 160°C, VT = 100, 150, 200, 240 rpm y RPM= 1/5, 1/1 y 5/1. Los mejores valores de IE (2.9), DA (0.14 g/cm<sup>3</sup>), F (7.2 N), ISA (27.8 %), IAA (5.6 g H<sub>2</sub>O/g muestra) y PDPV<93% fueron obtenidos a VT:200, T:130°C y RPM 5/1. Empleando estas condiciones, en otro experimento se modificó el contenido de calamar (0<sub>1</sub>, 0<sub>2</sub>, 40, 60, 80, 100%), bajo un diseño completamente al azar con un tratamiento de 6 niveles; además se analizaron las variables de respuesta (índice de expansión, densidad aparente, firmeza, crunchines, crispness, crispness work, dimensión fractal, lagunaridad). Se observó que el incremento de calamar reduce el IE, sin embargo, aun con 60% se obtienen valores de expansión aceptables por el consumidor (IE:1.8). Los valores de crispness y cruchiness de los extrudidos tienen comportamiento inverso respecto contenido de proteína, no así la firmeza. La IPA propicia cambios morfométricos

significativos en la dimensión fractal (2.665-2.739) y lagunaridad (0.61-1.29). El análisis de calorimetría indica que durante la extrusión se forman compuestos de mayor peso molecular en comparación con la muestra no extruida, con variación en los espectros de infrarrojo [ $1600\text{ cm}^{-1}$  (Amina) y  $1010\text{ cm}^{-1}$  (Carboxilo)]. En esta investigación fue posible incorporar hasta un 60% de calamar para la elaboración de botanas expandidas por extrusión con propiedades de textura, morfométricas y nutrimentales competitivas para el mercado de las botanas; así como una buena alternativa de valor agregado para el calamar gigante.

Palabras clave: Calamar, extrusión, interacción proteína-carbohidrato, expansión, propiedades morfométricas.

## ABSTRACT

The giant squid (*Dosidicus gigas*) is one of the species with major commercial interest as a source of protein, and has potential for the development of extrusion expanded snacks (BEE). BEE are prepared mainly from starch. However, the addition of animal protein increases its nutritional value. Recent studies indicate that it is feasible to combine marine-derived protein with different starch sources for the preparation of BEE. The incorporation of dehydrated squid to produce a snack-type product requires the study of the conditions in the extrusion process and the protein-starch interaction (PSI) to produce a food with adequate physicochemical characteristics. The objective of the present work was to explain the effect of the protein-carbohydrate interactions on the nutritional and technological quality of an extruded product based on squid, potato and maize flour. The effect of extrusion process conditions (temperature (T) and screw speed (SS)) and the ratio of potato / maize (RPM) mixed with squid on the physicochemical properties (expansion index (EI), bulk density (BD), firmness (F), water solubility index (WSI) and water absorption index (WAS)) and Percentages of in vitro protein digestibility (IVPV). The experimental design of three factors: T= 130, 140, 150, 160°C, SS= 100, 150, 200, 240 rpm and RPM = 1/5, 1/1 and 5/1 were used. The best values of EI (2.9), BD (0.14 g / cm<sup>3</sup>), F (7.2 N), WSI (27.8%), WAS (5.6 g H<sub>2</sub>O/g sample) and IVPV <93% T:130°C and RPM 5/1. Using these conditions, in another experiment the squid content (01, 02, 40, 60, 80, 100%) was varied under a completely randomized design with a 6-level treatment; (Expansion index, apparent density, firmness, crunchiness, crispness, crispness work, fractal dimension, lacunarity) were also analyzed. It was observed that the increase in squid reduces IE, however, even with 60%, consumer values are obtained (IE: 1.8). The values of crispness and crunchiness of the extrudates have inverse behavior with regard to protein content, but not firmness. The PSI favors significant morphometric changes in the fractal dimension (2.665-2.739) and lacunarity (0.61-1.29). Calorimetry analysis indicates that during extrusion, higher molecular weight compounds are formed and compared to the non-extruded sample, with variation in the infrared (1600 cm<sup>-1</sup> (Amine) and 1010 cm<sup>-1</sup> (Carboxyl)) spectra. In this research it was possible to incorporate up to



60% of squid for the elaboration of expanded extrusion snacks with competitive texture, morphometric and nutritional properties for the snack market; As well as a good value-added alternative to the giant squid.

Keywords: Squid, extrusion, protein-carbohydrate interaction, expansion, morphometric properties.

## 1.- INTRODUCCIÓN

*Dosidicus gigas* es un molusco cefalópodo, que comúnmente es conocido como calamar gigante. En México esta especie se desarrolla en el Golfo de California y las costas del Océano Pacífico. Posee un ciclo de vida corto con un máximo de dos años, alcanzando tallas de hasta 1 m de longitud de manto y un peso máximo de 30 kg. La carne de calamar tiene bajo aporte calórico (92 kcal/100g), alto contenido de proteína (15-16%) y es una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados de la gama de omega 3 (Torrinha et al., 2014). A pesar de las bondades de la carne de calamar el consumo per cápita de este alimento en México es muy bajo (1.2 kg) (CONAPESCA, 2010), lo cual puede atribuirse a diversos factores como: la poca difusión de las propiedades de su carne, su sabor característico y el desconocimiento de las alternativas de consumo (Luna-Raya, 2006). El calamar gigante es una especie muy llamativa, sin embargo, tradicionalmente su comercialización es poca, lo cual se debe a su poca aceptación por el consumidor debido a su sabor ácido y amoniacal, es de textura rígida que requiere tiempos de cocción prolongados.

De la captura de calamar el 11% se destina para el mercado nacional y el 89% se exporta principalmente como manto congelado y productos con poco valor agregado, lo que genera poco beneficio económico, esto puede deberse quizás a la poca diversificación de la industria pesquera nacional. Dentro de los procesos de conservación de alimentos se encuentra la extrusión, que consiste en la combinación de operaciones unitarias como mezclado, cortado, calentamiento, enfriamiento y formación de producto (CONAPESCA, 2010). Este proceso modifica las características fisicoquímicas, estructurales y nutrimentales de los alimentos (Harper, 1998). En alimentos ricos en proteínas, como lo es el caso de la carne de calamar, el proceso de extrusión incrementa la biodisponibilidad de las proteínas debido a la desnaturalización ocasionada por la temperatura del proceso (Stanley, 1998).

Dentro de los cambios estructurales ocasionados por la extrusión se encuentra la expansión la cual ocurre debido a la formación de burbujas de vapor de agua en el interior

de la masa, que posteriormente son liberadas por el diferencial de presión generado entre la masa y la atmosfera a la salida del extrusor (Patil et al., 2007). El índice de expansión está directamente relacionado con la firmeza del producto extruido (Harper, 1998) y características de textura denominadas “crispness y crunchiness”, atributos se encuentran asociados a la fuerza mecánica requerida para comprimir el alimento hasta su fractura en pedazos pequeños (Tunick et al., 2013).

Los componentes responsables de la expansión de un alimento se encuentran el almidón, que debido a su polímero de glucosas posee la capacidad de retener burbujas de aire; sin embargo, en productos de origen marino la cantidad de almidón es nula, por lo que la expansión por efecto de la extrusión de los mismos se encuentra limitada. Al extrudir harinas de productos marinos el índice de expansión es casi nulo, por lo que se han propuesto como alternativa la mezcla de proteína animal con harinas de fuente vegetal con alto contenido de almidón, como lo es el caso del arroz y la papa; para favorecer la expansión y las propiedades reológicas del producto extruido.

En este sentido, se han realizado estudios con la finalidad de combinar proteínas de origen marino con fuentes de almidón, ejemplo de ello es el realizado por Choudhury et al. (2014), quienes estudiaron el efecto del proceso de extrusión sobre la mezcla de arroz y camarón (*Fenneropenaeus indicus*) a diferentes humedades, en proporciones 5:1; concluyendo que la adición de un alimento almidonoso favorece la expansión del producto extruido. Esto autores señalan que los gránulos de almidón absorben agua y en el instante de salida de la matriz del extrusor, el agua sometida a presión pasa a la forma de vapor y el almidón sufre un proceso de alineamiento, rizado y rotura (Colonna et al., 1998; Maroulis, 2004). De igual manera, Noorakmar et al. (2012), estudiaron el efecto de la adición de harina de papa sobre la extrusión de harina de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*) reportando que la harina de papa permite obtener un producto con alta expansión, baja densidad aparente y firmeza adecuada. Esto puede atribuirse a interacción de las moléculas de almidón con las proteínas, contribuyendo a la formación de redes a través de interacciones covalentes y no covalentes (Arhaliass et al., 2009).

Diversos autores (Noorakmar et al., 2012; Cortez-Netto et al., 2014; Choudhury et al., 2014) coinciden en que la mezcla de harinas de productos del mar con harina de alimentos almidonosos pueden ser empleados como materia prima para la generación de alimentos extruidos. Marek (2007), realizó un estudio donde se evaluó el efecto del proceso de extrusión sobre las propiedades físicas de botanas expandidas elaboradas a partir de harinas de calamar gigante combinado con papa como fuente de almidón, logrando obtener extruidos con propiedades físicas aceptables y competitivas comercialmente. Murphy et al. (2003), estudiaron mezclas a base de subproducto de cangrejo (10, 20 y 40%) con harinas de maíz/papa relación 2/1 (p/p), humedad de alimentación del 10% y dos velocidades de tornillo(VT) 150 y 250 rpm a temperatura de salida de 157°C, se observó que a menor VT y mayor porcentaje de harina de cangrejo, se reduce el índice de expansión (IE) (ej. 150 rpm: IE = 2.7, 2.1 y 1.7 y 250 rpm: IE = 2.5, 1.8 y 1.4, para 10, 20 y 40% de harina de cangrejo, respectivamente).

En el proceso de extrusión intervienen diversos factores tanto de proceso (temperatura (T), velocidad de tornillo (VT), velocidad de alimentación, diámetro de salida del equipo, relación de tornillo), como de la muestra (humedad, relación proteína-carbohidrato, fuente de almidón); sin embargo, para el procesamiento de productos de origen del mar los de mayor impacto son la T y VT, así como, la fuente de almidón, respectivamente (Harper, 1998).

A pesar de que el calamar gigante es un ingrediente prometedor para la elaboración de botanas nutritivas, no se han realizado estudios sobre las posibles interacciones de las proteínas con el almidón presente en cereales y tubérculos, de tal manera que surge la necesidad de realizar un estudio que permita describir el efecto del proceso de extrusión sobre las interacciones proteína-almidón en botanas elaboradas a partir de calamar-papa-maíz. Con la finalidad de aprovechar el alto contenido de proteína del calamar para la elaboración de botanas expandidas extrudidas, es necesario estudiar el efecto de las condiciones de proceso (T y VT), la relación fuente de almidón (maíz-papa) y el porcentaje de inclusión de calamar sobre las interacciones proteína-almidón, debido a que estas interacciones contribuyen en los cambios físicos y morfométricos que determinan las características sensoriales de aceptación por parte del consumidor. Es por ello que el

objetivo de este trabajo fue explicar el efecto de las interacciones proteína-carbohidrato sobre la calidad nutricia y tecnológica de un producto extruido a base de calamar, papa y maíz.

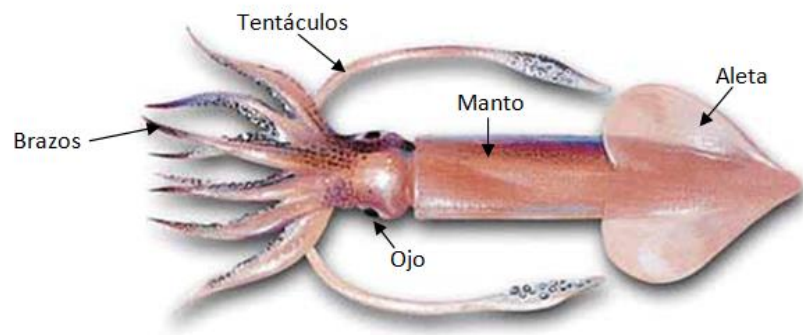
## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1. Generalidades de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

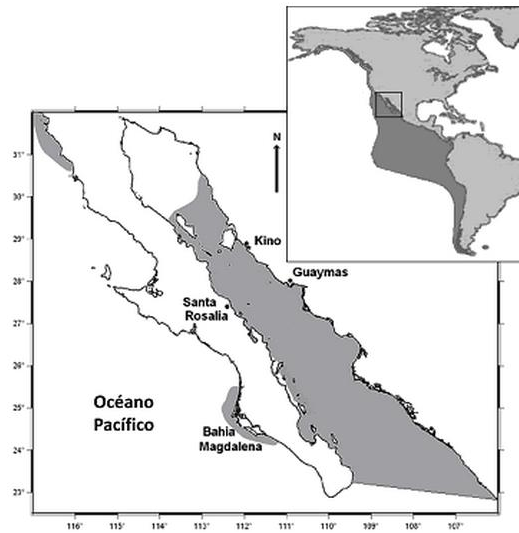
El calamar, es un molusco marino de cuerpo alargado y oval, con tentáculos alrededor de la cabeza; no tiene concha externa, sino una interna transparente en forma de tubo; se mueve propulsándose mediante un chorro de agua expedido con fuerza. El término molusco deriva del latín "*mollus*", que significa suave, siendo empleado para describir animales de cuerpo blando, generalmente este cuerpo se encuentra protegido por un tejido llamado manto. Dentro de los moluscos se encuentran los gasterópodos los bivalvos y los cefalópodos, siendo estos últimos la clase más estructurada, agrupando organismos de interés como el pulpo y el calamar gigante (Brusca y Brusca, 2005).

El calamar gigante, está constituido por dos regiones, la cabeza, la cual tiene ocho brazos y dos tentáculos alrededor de la boca, que está constituida por un pico quitinoso y una rádula (Figura 1). Sus ojos son de los más desarrollados en invertebrados y se sitúan a ambos lados de la cabeza. El manto alberga los órganos internos y es de forma cilíndrica, en su extremo terminal cuenta con dos aletas romboidales que forman parte de su sistema de locomoción junto con el sifón. El primero sirve para el nado lento y el segundo para el nado rápido mediante la propulsión a chorro (Ehrhardt et al., 1983).

La distribución de *Dosidicus gigas* básicamente es el Océano Pacífico oriental (37° N a 47° S), desde California hasta el sur de Chile (Nesis, 1983; Nigmatullin et al., 2001), su límite oeste alcanza aproximadamente los 125° W a lo largo del Ecuador (Figura 2). Se distribuye desde la superficie hasta aproximadamente 1000 m de profundidad (Yatsu et al., 1999).



**Figura 1** Anatomía de *Dosidicus gigas*. Adaptado de Brown y Kisiel (2003).



**Figura 2.** Distribución geográfica del calamar gigante. Tomado de INAPESCA, 2014.



Es importante resaltar que actualmente se conocen únicamente dos zonas donde se concentra el calamar gigante, la primera en aguas mexicanas: frente a las costas de Jalisco y Colima, en la costa pacífica de Baja California y en el interior del Golfo de California y la otra: desde el ecuador hasta los 28° S, principalmente frente a costas de Perú (Figura 2) (Nesis, 1983; Nigmatullin et al., 2001). Luna-Raya et al. (2006), han propuesto que la distribución del calamar gigante se debe a una combinación de factores bióticos y abióticos, ampliando o contrayendo su distribución espacial y temporal.

El calamar gigante es considerado un depredador activo de crustáceos y peces, algunos autores señalan que en ocasiones tiene prácticas de canibalismo al consumir calamares de menor tamaño y requiere una alta ingesta de alimentos para poder abastecer la alta demanda energética que exige su elevada tasa de crecimiento. El calamar, tiene un ciclo de vida corto con un máximo de dos años, alcanzando tallas de hasta 1 m de longitud de manto y un peso máximo de 30 kg, las especies que habitan el Golfo de California tienen un promedio de 50 -80 cm de longitud de manto y 9-13 kg de peso (De la Rosa et al., 1992; Nigmatullin et al., 2001).

## 2.2 Importancia Económica

### 2.2.1 Internacional

La producción pesquera y acuícola en el mundo ha crecido en las últimas décadas alcanzando los 170 millones de toneladas en 2016, de las cuales el 84.9% se destina al consumo humano. En particular, la captura en los últimos años se ha mantenido estable, mientras que la acuicultura ha ido en aumento. En 2016, el consumo promedio per cápita de productos pesqueros a nivel mundial alcanzó los 20 kg. Durante el año 2016, China ocupó el primer lugar de la producción mundial, mientras que México se ubicó en el lugar 16 aportando un millón 598 mil toneladas de productos pesqueros, que corresponde al 1.2% de la producción mundial (FAO, 2015).

Reportes de la FAO indican que en el año 2015 la producción mundial de calamar de diferentes especies alcanzó 3 589 206 t, siendo las especies de mayor producción la *Illex argentinus*, *Todarodes pacificus*, y *Dosidicus gigas* con 645,211 621,941 y 591,427 t, respectivamente. El calamar gigante aporta el 17.37% de la producción mundial del total de calamares, ocupando el tercer lugar de aportación.

### **2.2.2 Nacional**

En México el 72% de la producción pesquera nacional está representada por sardina (47%), camarón (11.25%), atún (5.2%), calamar (4.8%) y tilapia (4.3), mientras que el 28% restante lo conforman alrededor de 270 especies.

El calamar gigante, *Dosidicus gigas*, es la única especie de calamar explotada comercialmente en nuestro país. La distribución de este se encuentra concentrada principalmente en la región noroeste de México en la parte central del Golfo de California, teniendo como principales puertos de explotación Santa Rosalía, BCS, Guaymas, Sonora y Mazatlán, Sinaloa (Klett, 1996).

Reportes de CONAPESCA (2016) señalan que la importancia de la pesca de calamar gigante para México radica en que representa una de las cuatro especies más importante en cuanto a su volumen de captura de productos del mar, y que para el año 2015 superó las 80 mil toneladas. Es en el Golfo de California, Baja California Sur, Sonora y Sinaloa donde se registran las mayores capturas, representando más del 98% de las capturas nacionales. Luna-Raya et al. (2006), señalan que la recolección comercial del molusco ha sido muy importante para la industria pesquera regional, manifestada en la generación de empleos, tanto en la etapa de captura como en la de procesamiento.

Durante el año 2015, la captura de calamar alcanzó las 85,740 toneladas, generando 142.6 millones de pesos con su captura, la captura de este molusco se concentra en cuatro estados principalmente Baja California, Baja California Sur, Sonora y Sinaloa con aportaciones porcentuales de 46.3, 45.2, 23.2 y 19.3% respectivamente (CONAPESCA, 2016). En esta región existen 39 plantas procesadoras de calamar gigante, de las cuales 13 se ubican en

Baja California, tres en Baja California Sur, seis en Sinaloa y 17 en Sonora (CONAPESCA, 2012).

El 11% de la producción de calamar se destina al mercado nacional, donde la mayor demanda es por el manto en presentación de filete congelado y enlatado, aunque más recientemente se comercializa también las aletas y tentáculos. Del cuerpo del calamar se aprovecha principalmente el manto, sin embargo, a nivel nacional no se tiene la cultura de consumo de este animal, por lo que la mayor parte de la producción de este molusco se destina a la exportación, principalmente a países asiáticos, sin embargo, éste es exportado como materia prima y no como producto terminado (Luna-Raya et al., 2006). El 89% se exporta a países como Japón, Corea, China, Filipinas y España, procesado como filete congelado, filete pre-cocido natural, con sal o con azúcar, con ambos o con otros sazónadores, otorgándole mayor valor agregado.

## 2.3 Descripción de la Especie *Dosidicus gigas*

### 2.3.1. Taxonomía y Origen

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco carnívoro cuya clasificación taxonómica se puede observar en el Cuadro 1 (Clarke y Trueman, 1998). Dentro del género al que pertenece existen cerca de 100 especies distribuidas en todo el mundo, empleándose solo unas cuantas para el consumo humano de las cuales destaca el calamar gigante por sus propiedades nutrimentales.

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica del calamar gigante (*Dosidicus gigas*)

<b>Clasificación taxonómica del calamar gigante</b>	
<i>Reino</i>	<i>Animal</i>
<i>Phylum</i>	<i>Mollusca</i>
<i>Clase</i>	<i>Cephalopoda</i>
<i>Subclase</i>	<i>Coleoidea</i>
<i>Superorden</i>	<i>Decapodiformes</i>
<i>Orden</i>	<i>Teuthida</i>
<i>Sub orden</i>	<i>Oegopsia</i>
<i>Familia</i>	<i>Ommastrephidae</i>
<i>Subfamilia</i>	<i>Ommastrephidae</i>
<i>Genero</i>	<i>Dosidicus</i>
<i>Especie</i>	<i>Dosidicus gigas</i>

Fuente: Luna-Raya (2006).

### **2.3.2. Composición Nutricional**

La carne de calamar puede considerarse de bajo aporte calórico (92 kcal/100 g de carne), no contiene azúcares ni fibra dietaria, tiene un bajo contenido de carbohidratos (3.08 g/100 g de carne) y posee un bajo contenido de lípidos (1.38 g/100 g de carne) (Cuadro 2). Dentro del contenido lipídico destaca principalmente: ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) que corresponden a ácidos de la gama omega 3. La carne de calamar se caracteriza por su alto contenido de proteína (15.6 g/100 g de carne) que resulta ser más elevado con respecto a la carne de res, pollo y cerdo, además, la digestibilidad de las proteínas de la carne de calamar (99.8%) resulta ser más elevada que la de los otros tipos de carne (94%).

Sin embargo, a pesar de todas las virtudes nutrimentales del calamar anteriormente mencionadas, el consumo per cápita en México de este molusco es muy bajo (1.2 kg), comparado con el consumo per cápita para la carne de pollo, res y cerdo con valores de 21.8, 16.5, 15.1 kg respectivamente. Esto puede atribuirse a la poca difusión de las propiedades de la carne del calamar, a la falta de cultura en el consumo y al desconocimiento de sus alternativas de consumo (Salinas et al., 2004; Luna-Raya, 2006).

2.3.2.1 Proteína. Las proteínas presentes en la carne de calamar son digeribles casi en su totalidad (Cifuentes et al., 1997), contra una digestibilidad de las proteínas de carnes en general de  $94 \pm 3\%$  (FAO-OMS-ONU, 1985). El manto de calamar gigante contiene aproximadamente un 15.58 % de proteína total, la cual puede ser dividida en proteína miofibrilar (80%) proteína sarcoplasmática (12-20%) y proteína estromal o del tejido conectivo (2-10%) (Valdez, 2006).

2.3.2.2 Aminoácidos. Es importante destacar que las proteínas del calamar gigante son de alta calidad y poseen los 10 aminoácidos esenciales para el cuerpo humano (Córdova-Murueta, 2005). Deng et al. (2015), evaluaron la carne de calamar reportando 7 de los aminoácidos esenciales para el cuerpo humano, encontrando valores de 40 a 86 g/kg de proteína, estando en mayor concentración la lisina e isoleucina con 86.94 y 83.24 g/kg de proteína respectivamente.

**Cuadro 2.** Contenido nutrimental del calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

<b>Nutriente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad (por 100 g)</b>
<b>Proximal</b>		
Agua	g	78.5
Energía	kcal	92
Proteína	g	15.58
Lípidos totales	g	1.38
Carbohidratos (Por diferencia)	g	3.08
Fibra total	g	0
Azúcares totales	g	0
<b>Minerales</b>		
Calcio	mg	32
Hierro	mg	0.68
Magnesio	mg	33
Fósforo	mg	221
Potasio	mg	246
Sodio	mg	44
Zinc	mg	1.53
<b>Vitaminas</b>		
Vitamina C	mg	4.7
Tiamina	mg	0.2
Rivoflavina	mg	0.41
Niacina	mg	2.18
Vitamina B-6	mg	0.06
Folato	µg	5
Vitamina B-12	µg	1.3
Vitamina A	µg	10
Vitamina E	mg	1.2

Adaptado de: USDA-National Nutrient Database for Standard Reference (2015).

Dentro de los aminoácidos que constituyen las proteínas del calamar, la taurina es el de mayor predominancia que puede atribuirse a que es un importante componente intracelular y participa en los procesos de osmoregulación. Altas concentraciones de taurina son una característica común de los moluscos marinos, incluyendo al calamar gigante. La taurina es un aminoácido compuesto que suprime la acumulación de colesterol en el cuerpo, y, por ende, la concentración de colesterol en la sangre se mantiene baja. Además, la taurina reduce la grasa neutra, mantiene la presión arterial y previene la diabetes al regular la secreción de insulina. Si bien es cierto que el cuerpo sintetiza taurina, su ingestión directa vía alimentos que la contengan es recomendable (Klett, 1996).

2.3.2.3 Lípidos. El calamar es considerado fuente importante de ácidos grasos insaturados principalmente de ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA), a los que se le han atribuido propiedades benéficas para reducir la hipertriacilglicerolemia, anti arrítmicos, antiaterogénicos, antitrombóticos y antiinflamatorios. Recientemente, se ha relacionado al EPA y DHA con la protección contra enfermedades coronarias (CHD) (Wijendran y Hayes, 2004).

El efecto beneficioso de ácidos grasos polinsaturados se encuentra directamente vinculado con la relación de ácido graso omega 6 (n-6) con respecto al omega 3 (n-3); en general se acepta que la proporción ideal de n-6 a n-3 es de alrededor de 4:1. Sin embargo, la proporción actual en la dieta occidental habitual van de 20 a 30:1 (Schaefer et al., 2002), lo que puede favorecer un estado protrombótico y proagregante.

Con respecto al contenido de grasa, Torrinha et al. (2014), encontraron valores de 412 mg/100 g base seca (bs) de colesterol en el manto de calamar, valor que se encuentra por encima de lo reportado para carne de res (220 mg/100 g bs) y carne de cerdo (148 mg/100 g bs). En general, el contenido de colesterol en calamares, y cefalópodos es mayor comparado con la mayoría de organismos marinos y productos a base de carne de sangre caliente.

Torrinha et al. (2014), al evaluar el perfil de ácidos grasos, colesterol y vitamina E, en diferentes especies de calamar, encontraron que la especie *Loligo opalescens*, contenía en bs los ácidos grasos saturados al ácido palmítico (248 mg/100g), esteárico (67 mg/100g)

y mirístico (24 mg/100g) y entre los insaturados al ácido oleico (45 mg/100g), eicosenóico (40 mg/ 100 g) y palmitoléico (11 mg/100 g). Además, dentro de los poliinsaturados encontraron ácidos grasos pertenecientes a la familia omega 6 y omega 3. En el grupo de los omega 6, se reportó al ácido linolénico, eicosadienoico, eicosatetraenoico, docosapentanoico con cantidades de 6.7, 4.1, 27.7, 5.5 mg /100g respectivamente; dentro de la omega 3, al ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) con 491 y 184 mg /100g respectivamente.

La Asociación Americana del Corazón (AHA por sus siglas en inglés) recomienda que la ingesta de colesterol no sobrepase los 300 mg/día, por lo que es factible consumir 100 g de carne de calamar fresco sin sobrepasar la ingesta diaria recomendada de colesterol. Asimismo, Gómez (1994), señala que el colesterol presente en los alimentos no es el único responsable de las altas concentraciones de colesterol sanguíneo, sino más bien el total de grasa consumida en la dieta, en el mismo estudio se reportó que el calamar posee 3.0 mg/ 100 g bs de vitamina E.

2.3.2.4 Carbohidratos La carne de calamar tiene un aporte muy bajo de carbohidratos totales (3.08 g/100 g de carne), los cuales no son aprovechados por el ser humano, por lo que no contribuyen al aporte calórico (Ramamany et al., 2012). Desde el punto de vista de la salud pública el consumo de carne de calamar puede contribuir a reducir el alto índice de obesidad de las personas que lo ingieren (Luna-Raya, 2006).

## 2.4 Calamar como Alimento

El consumo de la carne del manto de calamar gigante es poco difundido, por lo que su consumo en México es muy bajo, y su comercialización se realiza de una manera que genera poco valor agregado (Luna-Raya, 2006). El 11% de la producción de calamar se destina al mercado nacional, donde la mayor demanda es en presentación de filete congelado y enlatado, aunque más recientemente se comercializa también las aletas y tentáculos en busca del aprovechamiento integral del recurso. El 89% se exporta a países como Japón, Corea, China, Filipinas y España, procesado como filete congelado, filete



precocido, precocido con sal, precocido con azúcar, con ambos o con otros sazonadores, otorgándole mayor valor agregado. Existen 39 plantas procesadoras de calamar gigante en la región, de las cuales 13 se ubican en Baja California, tres en Baja California Sur, seis en Sinaloa y 17 en Sonora (CONAPESCA, 2016).

#### **2.4.1. Comercialización en Fresco**

En el mercado nacional, el calamar gigante se comercializa principalmente en la forma de manto o filete fresco-congelado y fresco-enhielado, tentáculos o “bailarina” (cabeza con tentáculos) y aleta (Luna-Raya, 2006). En Baja California Sur, la actividad pesquera de calamar se realiza principalmente en la zona del municipio de Mulegé (específicamente en San Bruno, San Lucas y Santa Rosalía). Actualmente, el producto calamar en la zona de Santa Rosalía es vendido en fresco, lo que representa menores beneficios para los productores, dado el bajo precio de compra por parte de las plantas congeladoras de la región, que se encargan únicamente de la limpieza, lavado y congelación del producto para después ser enviado al mercado internacional (Corea del Norte y del Sur, Japón, China, Italia, Grecia, Hong Kong, Estados Unidos, Chile y España). Por lo tanto, en la región no se desarrollan actividades de procesos agroindustriales como empaque y enlatado o de otros subproductos para consumir de manera rápida (Montaño Méndez, 2015)

#### **2.4.2. Comercialización como Producto Procesado**

Con la finalidad de dar un valor agregado al calamar, en los años 90’s se buscó alternativas para su comercialización, una de ellas fue el calamar gigante enlatado, principalmente en la presentación de calamar en su tinta y calamar imitación abulón. La producción del calamar gigante enlatado se inició de manera experimental con la elaboración de

productos como calamar en salmuera y crema de calamar (Klett, 1996). Sin embargo, en México la comercialización de calamar enlatado ha tenido poco auge, se ofrece en diferentes presentaciones (cocido, en trozos, en su tinta, a la mexicana, etcétera), actualmente solo se cuenta con dos compañías en todo el país que se dedican al enlatado de calamar. Una de las variantes del procesamiento del calamar es la "drupa" que es muy consumida y popular en Asia, que consiste en calamar cocido y sazonado enlatado. Otro de los principales destinos del calamar procesado es Estados Unidos y España en su presentación de seco y congelado y, fresco–congelado, respectivamente.

## 2.5. Alternativas de Comercialización de Alimentos

### 2.5.1 Alimentos Deshidratados

Es uno de los métodos de conservación de alimentos más antiguo el cual consiste en la reducción del agua disponible para el crecimiento de microorganismos, alargando así su vida de anaquel. En el caso de pescados y mariscos esta operación se acompaña del proceso de salado, que además de contribuir con la reducción del agua disponible le proporciona un sabor característico al alimento (Mujumdar y Menon, 1995).

La deshidratación de alimentos es un método de conservación que tiene diversas ventajas, dentro de las que podemos mencionar el retraso del deterioro químico y microbiano, incrementa la concentración de nutrientes por unidad de alimento seco, se reduce el costo de almacenamiento y transporte, debido a que se reduce el volumen y peso, aunado a esto, no es necesario modificar la temperatura de almacenamiento y permite conservar el alimento por periodos prolongados (Nijhuis, 1996).

El calamar gigante es una especie de gran importancia económica, sin embargo, debido a su composición química es altamente susceptible a la descomposición, es por ello que se ha estudiado el proceso de deshidratado como una alternativa de conservación para este

molusco. Dentro de los estudios que han abordado esta temática se encuentra el realizado por Kanoshi et al. (2011), en el cual evaluaron el efecto del proceso de secado sobre el crecimiento de microorganismos dos variedades de calamar, concluyendo que el proceso de secado resulta ser un proceso efectivo para la conservación de este alimento.

### **2.5.2 Alimentos Refrigerados**

La refrigeración tiene su fundamento en la reducción del calor presente en un alimento para reducir los procesos fisiológicos propios (para el caso de frutas y hortalizas) o la proliferación de algunos microorganismos (Brown, 1991). Aunque podría pensarse que este método de conservación surgió con la invención de la refrigeración, no es así, desde épocas antiguas se realizaba la refrigeración empleando hielo o nieve natural, la cual se recolectaba de montañas cercanas (Talens, 2002). Hace una década, la mayoría de los productos pesqueros frescos se enhielan desde su recolección, recepción y exhibición, posteriormente el consumidor debe conservarlo en refrigeración hasta su preparación y consumo, sabiendo que el tiempo de conservación en fresco es limitado. Actualmente, la comercialización de alimentos congelados tiene un mercado potencial; se podría citar que la mayoría de los alimentos de origen animal o vegetal se comercializa de forma congelado, bajo un proceso denominado “congelado individual”, proceso de mantiene las piezas de forma individual y se reduce la pérdida de calidad cuando los productos se descongelan.

### **2.5.3. Alimentos Envasados**

Los alimentos envasados tienen su origen en el siglo XIX, este método de conservación consiste en aplicar un calentamiento a una temperatura que permita destruir posibles microorganismos presentes en el alimento, una vez eliminados dichos microorganismos

el envase que los contiene es sellado. Dentro de los principales envases empleados se encuentran: los frascos de cristal, bolsas herméticas y latas, siendo estas últimas las mayormente utilizadas (Rickman et al., 2007).

El proceso de enlatado generalmente se realiza a presiones altas (112 mm Hg) y temperaturas altas (111-121°C), dentro de los alimentos que exigen altas presiones se encuentran la mayoría de las verduras, carnes, mariscos, productos avícolas y lácteos. Sin embargo, alimentos que cuentan con pH inferior a 4.6 como algunas frutas en salmuera, pueden ser enlatados en baño maría con agua hirviendo (National Cannery Association, 1979). El enlatado permite conservar las características fisicoquímicas y nutrimentales del alimento, además de permitir conservar los alimentos por periodos de hasta dos años.

El envasado en recipientes metálicos, es el método de conservación que generalmente se utiliza en pescados grasos (especialmente sardinas y túnidos) y mariscos (principalmente mejillones, berberechos, navajas y cefalópodos). Este proceso industrial no altera la composición nutrimental del alimento, manteniendo sus vitaminas y minerales intactos (Elkins, 1979). El enlatado protege al alimento de la luz, por lo que la pérdida de los nutrientes fotosensibles (vitaminas A, K y ácidos fólicos) se reduce durante el paso del tiempo.

Debido a su importancia económica y sus características nutrimentales, se ha investigado el proceso de enlatado como posible alternativa de conservación del calamar gigante. Dentro de los primeros estudios del proceso de enlatado de calamar se encuentra el llevado a cabo por Varma y Joseph (1980), donde evaluaron el efecto del tiempo de escaldado y porcentaje de la salmuera sobre la calidad sensorial del manto de calamar; se observó que hasta un 7% de salmuera se lograba un sabor salado aceptable en el producto final; los autores señalan que el tiempo de escaldado del manto de calamar es determinante en la calidad sensorial del producto final, por lo que se intentaron diferentes tiempos de escaldado de 3, 5 y 7 min, reportando que las mejores condiciones se obtienen con un tiempo de escaldado de 5 min. En este estudio se concluye que la salmuera al 7%, un escaldado de 5 min y presión de cocción con vapor de  $1 \text{ kg/cm}^3$  permiten obtener calamar esterilizado en latas con características sensoriales aceptables.

#### 2.5.4. Alimentos Salados (Salazón)

El proceso de salazón es una de las técnicas más antiguas para la conservación de alimentos, la cual se ha aplicado ampliamente en diferentes alimentos de origen animal, incluyendo alimentos marinos. Este método de conservación de alimentos se fundamenta en la reducción del agua disponible mediante la interacción de las moléculas de agua con la sal. Aunque es posible emplear este método en alimentos de origen vegetal casi no se aplica en ellos, es aplicado principalmente en carnes o productos del mar (Kanagaraj et al., 2005).

La cantidad de sal utilizada para la conservación de carnes/pescados se basa en el peso en fresco del alimento a deshidratar, dependiendo de la naturaleza del mismo esta oscila 30-50% (Kanagaraj et al., 2005). Las propiedades que permiten que la sal de mar sea empleada eficientemente para la conservación de alimentos son su poder deshidratante y la propiedad bacteriostática. En los productos conservados por sal, contenido de humedad del alimento se reduce de 30 a 70% (Rajamani, 1998), lo que favorece su vida de anaquel.

Con la finalidad de mejorar el efecto de la sal en la conservación de alimentos, se ha combinado la salazón con otros procesos, ejemplo de ello es el llevado a cabo por Myung-Woo et al. (2000), en donde se estudió el efecto del proceso de salazón con la combinación de rayos gamma, el calamar (*Todarodes pacificus*) se cortó en rodajas, se lavó y después se realizó la salazón con 5, 10 y 20% (peso/peso) de cloruro sódico. El calamar salado se irradió con dosificaciones de 0, 2,5, 5,0 y 10 kGy de radiación gamma y se fermentó a 15°C durante 50 días. El calamar irradiado no fue diferente en la composición inmediata, la salinidad y la actividad del agua de calamar no irradiado. Los autores concluyen que la combinación de baja concentración de sal (10%) y radiación gamma fue eficaz en el procesamiento de calamar salado extendiendo su vida útil comparado con el control (20% de sal) sin añadir aditivos alimentarios.

### **2.5.5. Alimentos Extruidos**

La cocción por extrusión generalmente se refiere a la combinación del calentamiento de productos en el extrusor para crear un producto cocinado y con forma. Materiales crudos, como harinas, almidones, proteínas, sal, azúcar y otros ingredientes minoritarios son mezclados, cortados, cocinados para formar una masa semejante a un plástico (Bhattacharya, 2004). El procesamiento por extrusión, es una tecnología a bajo costo y alta eficiencia, que puede ser utilizado para el procesamiento de cereales o almidones en productos industriales y alimentarios, como alimentos botanas, cereales listos para su consumo y fórmulas infantiles (Zazueta-Morales et al., 2002; Milán-Carrillo et al., 2006).

Recientemente, se ha tomado un especial interés a la metodología por extrusión para el procesado y conservación de los alimentos, debido a que genera cambios nutrimentales y estructurales deseables en el alimento. Las altas temperaturas y presiones que se generan durante el proceso de extrusión incrementan la digestibilidad de algunas proteínas y almidón. El proceso de extrusión además de acentuar la calidad nutrimental de los alimentos, reduce su contenido de humedad alargando así su vida de anaquel (Rocha-Guzmán et al., 2008).

Si bien, el proceso de extrusión se ha destinado principalmente al procesamiento de cereales y leguminosas, recientemente se han realizado estudios para la incorporación de productos de origen animal con interés en los marinos. En el estudio llevado a cabo por Noorakmar et al. (2012), en donde se evaluó el efecto de la adición de dos fuentes de almidón (mezclas de harina de camote y harina de tapioca) en galletas de pescado extruidas, se observó que la harina de camote permite incorporar tilapia para la elaboración de botanas expandidas por extrusión, reportando el mayor radio de expansión en las harinas de mezcla de 30% de pescado y 70% de fuente de almidón, atribuyendo que el camote presenta mejor capacidad del almidón para generar estructuras más porosas en comparación con la tapioca. La harina de camote de color naranja, es un ingrediente prometedor en bocadillos de galletas de pescado extrudido ya que además de mejorar la funcionalidad tecnológica del pescado, incorpora color natural al alimento. En este

sentido, el autor sugiere que es posible emplear productos de origen marino cuando se combina con alguna fuente de almidón.

Para el caso de la incorporación de calamar para la elaboración de botanas expandidas por extrusión, son limitados los estudios que se han llevado a cabo destacando el realizado por Wiancki (2007) en donde evaluaron la factibilidad de emplear diferentes especies de peces marinos y calamar combinados con diferentes fuentes de almidón (cereales) para la elaboración de botanas expandidas por extrusión; reportando que la combinación de calamar-almidón permite obtener productos expandidos con características fisicoquímicas prometedoras. Es por ello que es necesario realizar futuras investigaciones que permitan conocer de mejor manera el comportamiento de la combinación calamar-almidón durante el proceso de extrusión, con la finalidad de poder generar botanas expandidas por extrusión que aprovechen las propiedades nutrimentales que posee el calamar.

## 2.6. Procesos de Extrusión en Alimentos

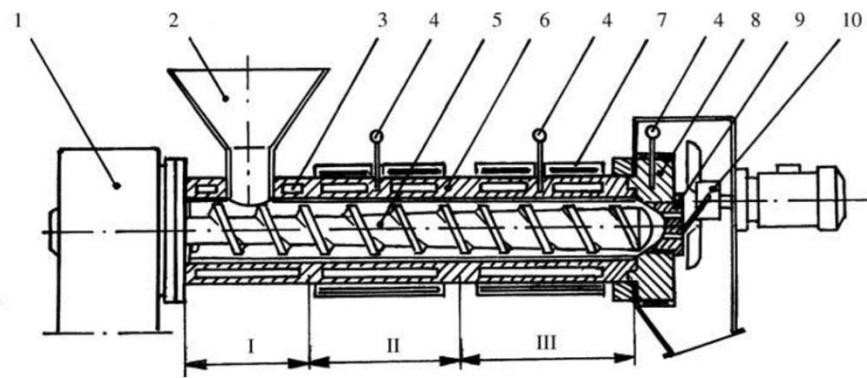
Desde sus inicios en la década de 1960, el proceso de extrusión ha sido estudiado ampliamente, principalmente en la industria de cereales. Sin embargo, durante este proceso se llevan a cabo cambios fisicoquímicos, estructurales e interacciones entre los componentes del sistema de alimentación, por lo que el proceso de extrusión se torna una operación compleja (Akdogan et al., 1997). La cocción por extrusión es un proceso de corta duración y alta temperatura en la que alimentos almidonosos y/o proteínicos son cocinados en un tubo por una combinación de humedad, presión, temperatura y cizallamiento mecánico, produciendo una transformación molecular y reacciones químicas en el alimento (Castells et al., 2005).

Un extrusor básico de tornillo simple (Figura 3), consiste en un tornillo o tornillos rotando en un cilindro al cual encajan de forma exacta, siendo movilizadas por un motor a través de una transmisión para reducir o variar la velocidad. El mecanismo de alimentación está

compuesto por una tolva para recibir el material a extrudir y se mueve a través de un tornillo alimentador localizado horizontal o verticalmente. Para permitir un mejor flujo, el alimentador está equipado con un agitador que ayuda a mantener constante la alimentación lo cual es esencial para el funcionamiento adecuado del extrusor y homogeneidad en la calidad del producto extrudido (Harper, 1998).

El proceso de extrusión permite desnaturalizar enzimas indeseables; inactivar factores anti-nutricionales como inhibidores de tripsina, ninjas de hemaglutinación, taninos, fitatos, entre otros compuestos no deseable; conserva los aromas y colores naturales de los alimentos, además, de esterilizar el producto procesado (Fellows, 2000; Bhandari et al., 2001). Este proceso se aplica en una amplia gama de alimentos dentro de los que destacan: los cereales listos para comer, bocadillos dulces y salados, aperitivos coextruidos, picatostes para ensaladas, alimentos para mascotas, mezclas de alimentos precocinados nutritivos para la alimentación infantil, productos de confitería y alimentos con textura similar a carne a partir de harinas de alto contenido proteínico desgrasadas y otros más (Harper, 1989; Eastman et al., 2001).





**Figura 3.** Extrusor de alimentos de tornillo simple: 1 motor, 2 alimentador, 3 camisa de refrigeración, 4 termopar, 5 tornillo, 6 barril, 7 chaqueta de calefacción, 8 cabeza, 9 fin, 10 cortador. I Sección de transporte, II Sección de compresión, III Sección de fusión. Fuente: (Harper, 1989)

Debido a la naturaleza polimérica de los alimentos cuando se aplican temperaturas altas, estos empiezan a perder su estructura ordenada, dentro de los principales fenómenos influenciados por la temperatura se encuentran la desnaturalización de proteínas y la gelatinización del almidón. La gelatinización y desnaturalización propicia un cambio en las propiedades físicas de la masa de los biopolímeros, debido a la formación de nuevas estructuras moleculares agregados por enlaces de hidrógeno (Masakuni et al., 2014). Uno de los cambios más significativos es el rápido aumento de la viscosidad del alimento en la extrusora, posteriormente, conforme la masa se va calentando y tras el corte mecánico la viscosidad empieza a disminuir gradualmente (Sagra, 1995). El extrusor somete la muestra a calentamiento y corte de cizalla, produciendo presión y temperatura dentro del equipo, cuando el material sale del equipo es expuesto a la presión atmosférica produciendo vapor de agua, generando así la expansión del producto (Choudhury y Gautam, 2003); para considerar que un producto posee buena expansión es necesario que su diámetro sea al menos 1.5 veces mayor que el diámetro de salida del equipo (Harper, 1998).

Estudios anteriores han demostrado que la incorporación de proteína en botanas expandidas por extrusión reduce los valores de expansión y aumentan de la firmeza del producto final, ambos de los cuales son indeseables declarado que, en la cocción por extrusión de la harina de trigo, la reducción de la expansión se debe a la presencia de la proteína de trigo y este efecto puede ser independiente del tipo de la proteína presente (Tovar et al., 1999).

Durante el proceso de extrusión de alimentos el almidón sufre cambios estructurales, como lo son la fusión, gelatinización, fragmentación y dextrinización, los cuales dependen de factores como la relación agua/almidón, temperatura, morfología, tamaño de partícula, relación amilosa/amilopectina, uso de aditivos, entre otros (Lai y Kokin, 1991). Dichas modificaciones generalmente incrementan la biodisponibilidad del almidón (Tovar et al., 1999), aunque éstos pueden contener fracciones retrogradadas resistentes al ataque enzimático, las cuales se comportan fisiológicamente como fibra dietética (Lue et al., 1991; Tovar, 1999). Asimismo, la proteína, como segundo componente principal en los extrudidos, puede sufrir desnaturalización y pérdida de solubilidad (Huber, 2001).

## 2.6.1. Factores que Influyen en el Proceso de Extrusión

2.6.1.1. Condiciones del proceso de extrusión. En el proceso de extrusión involucra interacciones entre la masa, la energía y la transferencia de momento, además de complejas transformaciones fisicoquímicas que afectan las propiedades del producto final, estas interacciones hacen que controlar las condiciones del proceso de extrusión se torne un poco complicado (Akdogan et al., 1997). Dentro de las condiciones de proceso que se controlan son: la formulación y contenido de humedad de la muestra (HM), la velocidad de alimentación, la temperatura del barril y del tornillo, la velocidad del tornillo (VT) y la configuración del dado a la salida del extrusor. Para elaboración de botanas expandidas a partir de mezclas de calabaza/maíz se ha sugerido el empleo de HM:20%, T: 40 a 140°C y VT: 250-350 rpm (Norfezah et al., 2013), en botanas elaboradas a partir de pescado/maíz se reportan HM: 16%, T:130°C y VT: 112 rpm; en este mismo sentido en botanas expandidas por extrusión elaboradas a partir de calamar-papa-maíz se obtuvieron productos con mejores características fisicoquímicas al emplear HM:15%, T:130°C y VT:200 rpm (Valenzuela-Lagarda et al., 2016).

2.6.1.2. Efecto de la temperatura. En el proceso de extrusión, la temperatura deberá ser la suficiente para liberar el vapor de agua del interior de la matriz al salir del extrusor. Si bien la temperatura es suministrada por el equipo, esta puede incrementarse por la fuerza de fricción generada por la matriz al desplazarse por el tornillo, el incremento de la temperatura disminuye la viscosidad del alimento en el interior del equipo (Miller, 1990). Las temperaturas de proceso empleadas dependerán del tipo de matriz de estudio, en el caso de chicharos-almidón se ha recomendado emplear T: 110, 120 y 130°C (Maskus & Arntfield, 2015), tilapia-tapioca T: 80 y 90°C (Noorakmar et al., 2012), carpa silvestre (*H. molitrix*) combinada con maíz T:130°C. En el estudio con calamar-fuentes de almidón, Valenzuela-Lagarda et al. (2016), evaluaron el efecto de la temperatura (T: 130,140, 150 y 160°C) sobre las propiedades fisicoquímicas (índice de expansión, densidad aparente, índice de absorción y de solubilidad en agua) de botanas expandidas por extrusión,

reportando que las mejores características físicas se obtienen al emplear temperaturas de proceso de 130°C.

2.6.1.3. Humedad. Para muestras con contenidos de humedad superiores a 35% es recomendable emplear un extrusor de doble tornillo, para humedades menores el uso de extrusor de tornillo sencillo o doble no ejerce diferencia significativa. La extrusión de alimentos expandidas como los de cereales empleados como desayuno o botanas generalmente se emplean humedades menores al 15% (Harper, 1998).

2.6.1.4. Proteínas- El efecto de las proteínas en la expansión depende de su tipo y concentración (Faubion y Hosney, 1982). El aislado de proteína de soja aumenta el radio de expansión del almidón de trigo cuando se incrementó su concentración de 1 a 8%, mientras que el gluten de trigo se redujo cuando se usa en concentraciones de hasta el 11%. Mathew et al. (1999), observaron que la disminución en el contenido de proteína en la harina de maíz (<4%) se benefició extruido en expansión debido al aumento en el contenido de almidón (>80%).

Onwulata et al. (1998), evaluaron el efecto del concentrado de proteína de suero al añadirlo a harina de maíz, arroz y papa, observando que en proporciones menores al 25% de proteína mejora la expansión del alimento, lo cual puede atribuirse al cambio de la configuración de los polímeros durante la extrusión y la humedad, sin embargo, en cantidades mayores a 25% de proteína se reduce la expansión.

Las proteínas afectan las propiedades extensionales de las masas extruidas, lo cual puede deberse a su capacidad de interactuar con el agua disponible en la matriz y debido a su macromolecular estructura y conformación. También, contribuyen a la extensa red tridimensional que conforma su estructura mediante enlaces covalentes e interacciones que se propician durante la extrusión (Madeka y Kokini, 1992; Li y Lee, 1996).

2.6.1.5. Contenido de almidón. Los biopolímeros naturales, almidón y ocasionalmente algunas proteínas desempeñan un papel importante en la estructura de formación de los productos de extrusión cocidos. El efecto de las condiciones de extrusión (altas temperaturas, presiones y fuerzas de cizallamiento) en los gránulos de almidón dependerá

del contenido de humedad de la muestra, para contenidos de humedad bajos (<35) el almidón se quiebra y se funde, mientras que a altos (>35), el almidón se expande y gelatiniza (Colonna et al., 1998). En ambos casos, la conversión del almidón conduce a la pérdida de estructura cristalina para formar una fase amorfa, esto ayuda a retener los gases liberados durante el proceso de expansión en la matriz de extrusión, lo que permite la formación de estructuras expandidas. La cantidad de polímero, que se encuentra en la fase continua determina la extensibilidad de las paredes celulares de burbujas en la espuma y por lo tanto la expansión global del producto extruido (Suknark et al., 1999).

## 2.7. Calidad de los Alimentos Extruidos

### 2.7.1. Calidad Nutricional

Durante la extrusión de los alimentos, las proteínas forman estructuras mediante un mecanismo muy similar que el almidón, en el cual las proteínas son dispersas de sus cuerpos nativos en una masa continua que fluye libremente. Este mecanismo requiere condiciones especiales dentro de las que destacan los niveles de agua (35-40%), las concentraciones de proteína (40%), temperaturas (150°C) y alta fuerza de corte de cizalla. En el estado fluido de la matriz a una alta temperatura la proteína es amorfa y desnaturalizada, por la acción del esfuerzo de corte, altas presiones y altas temperaturas (Harper, 1989). Con el fin de formar una estructura de textura comercialmente aceptable durante el proceso de extrusión, es necesario que la matriz fluya a través de un troquel del extrusor a una temperatura de 120-130°C de manera que su viscosidad aumenta y los fluidos alcanzan flujos laminares. El texturizado de alimentos se produce entre las moléculas a medida que fluyen simultáneamente de manera lineal mediante un desplazamiento del tipo laminar de unión transversal (Guy, 2001).

En un alimento con alto contenido de almidón los diferentes tipos de proteína presentes formarán fases dispersas. Dependiendo del tipo de proteína las interacciones con el almidón es variable, por ejemplo, las proteínas solubles en agua tales como albúminas (huevo y proteínas de suero de leche) se desnaturalizan por calor y coagulan en una masa hidratada suave (Guy y Horne, 1988).

### **2.7.2. Características Físicas**

El proceso de extrusión combina altas presiones con altas temperaturas, de tal manera que propicia diversos cambios físicos en los alimentos dentro de los cuales destacan el índice de expansión y la densidad aparente, debido a que son estos parámetros uno de los indicadores que impactan en mayor medida en la aceptación del alimento por parte del consumidor.

2.7.2.1. Expansión. Uno de los cambios más representativos en los productos extruidos es la expansión, el cual es un fenómeno muy complejo que se genera al aplicar altas temperaturas y bajas humedades en los alimentos. Dentro de los cambios involucrados se encuentran algunas transformaciones estructurales, transiciones de fase, nucleación hinchado crecimiento y colapso de algunas burbujas (Moraru y Kokini, 2003). Los factores que influyen en el fenómeno de expansión se encuentran las características del material extruido y las variables de operación, dentro de las primeras podemos encontrar la composición, la estructura molecular y las interacciones entre los componentes del material; en cuanto a las variables de operación se puede señalar la temperatura de barril y dado, la velocidad del tornillo, la geometría del tornillo, la energía mecánica aplicada y la incorporación de aire (Moraru y Kokini, 2003).

Existen diversos estudios sobre el efecto del proceso de extrusión y el contenido de proteína sobre el índice de expansión de las botanas obtenidas, Murphy et al. (2003), realizaron un estudio en el cual se evaluó los diferentes niveles de inclusión del

subproducto del procesamiento de cangrejo (10, 20 y 40%) combinado con harinas de maíz/papa relación 2/1 (p/p), evaluando dos velocidades de tornillo (VT:150 y 250 rpm) a temperatura de salida de 157°C, se observó que a menor VT y mayor porcentaje de harina de cangrejo, se reduce el índice de expansión (IE) (ej. 150rpm: IE = 2,7, 2,1 y 1,7, y 250 rpm: IE = 2,5, 1,8 y 1,4, para 10, 20 y 40% de harina de cangrejo, respectivamente) conforme aumenta la proteína animal por efecto del tipo y contenido de aminoácidos de la matriz. En este sentido, Noorakmar et al. (2012); Cortez-Netto et al. (2014) y Choudhury et al. (2014), sugieren que para extrudir matrices de origen animal se requiere agregar más del 50% de diferentes fuentes de almidón, lo que facilita la absorción de agua y permitir la formación de una estructura porosa en los productos (Camacho-Hernández et al., 2014).

2.7.2.2. Densidad aparente. La densidad aparente es una propiedad que poseen los alimentos porosos que se define como la cantidad de masa por unidad de volumen, en donde el volumen incluye la cantidad de espacios vacíos en el alimento (Harper, 1989) y su calidad sensorial. En el estudio llevado a cabo por Topuz et al. (2017), se evaluó el efecto de las variables de extrusión como la temperatura, la velocidad del tornillo y la humedad de la alimentación sobre la densidad aparente de botanas elaboradas a partir mezclas de camarón-maíz; se encontró que la densidad aparente de las muestras extruidas varió de 0.62 a 1.41 g/cm<sup>3</sup>, donde la mayor densidad se obtuvo cuando se emplearon las condiciones de proceso “moderadas”: temperatura (130°C), velocidad de tornillo (350 rpm) y humedad de alimentación (20 g/100 g). Los valores de DA reportados por Topuz et al. (2015), resultan ser menores (0.56-0.69) a los obtenidos en un estudio similar en donde también se elaboró botanas a partir de mezclas de camarón-maíz (Shaviklo et al., 2015), esta variación en los resultados de este parámetro, podría ser atribuida a la diferencia en las condiciones de proceso empleadas (Temperatura:160°C y humedad muestra: 15%).

Aguilar-Palazuelos et al. (2006), elaboraron botanas de tercera generación expandidas por microondas, a base de almidón de papa (AP) (50%), harina de maíz con calidad proteínica (MCP) (35%) y pasta de soya (PS) (15%), en su estudio determinaron el efecto de la temperatura de extrusión sobre el índice de expansión (IE) y la densidad aparente (DA),

reportando que estos parámetros tienen un comportamiento inverso entre sí; debido que el IE se incrementó mientras que la DA disminuyó cuando la temperatura de extrusión aumentó. Comportamiento similar ha sido reportado en otros estudios tales como botanas a base de mezclas de almidón con harinas de cangrejo (Murphy et al., 2003), pescado dorado (Cortez-Netto et al., 2014), tilapia roja (Noorakmar et al., 2012), camarón (Choudhury et al., 2014), pescado-calamar (Wianecki, 2007).

## 2.8. Efecto de la Interacción Proteína-Carbohidrato en la Calidad de Productos Extruidos

### 2.8.1. Determinación de las Interacciones Proteína-carbohidrato

Las características funcionales de los productos alimentarios se deben principalmente a las reacciones químicas que tienen lugar durante su procesamiento, las cuales se producen entre sus principales componentes: carbohidratos, proteínas, grasas y vitaminas. Con la finalidad de estudiar las posibles interacciones proteína-carbohidrato en los sistemas alimenticios se han propuesto diferentes metodologías para su estudio, dentro de las cuales destacan la microscopía electrónica de barrido (Noorakmar et al., 2012), Bdour et al., 2014), calorimetría diferencial de barrido (Remmele, 2000; Privalov et al., 1995; Deng, 2014) y espectroscopía de infrarrojo (Osborne, 2007; Lee, 2007).

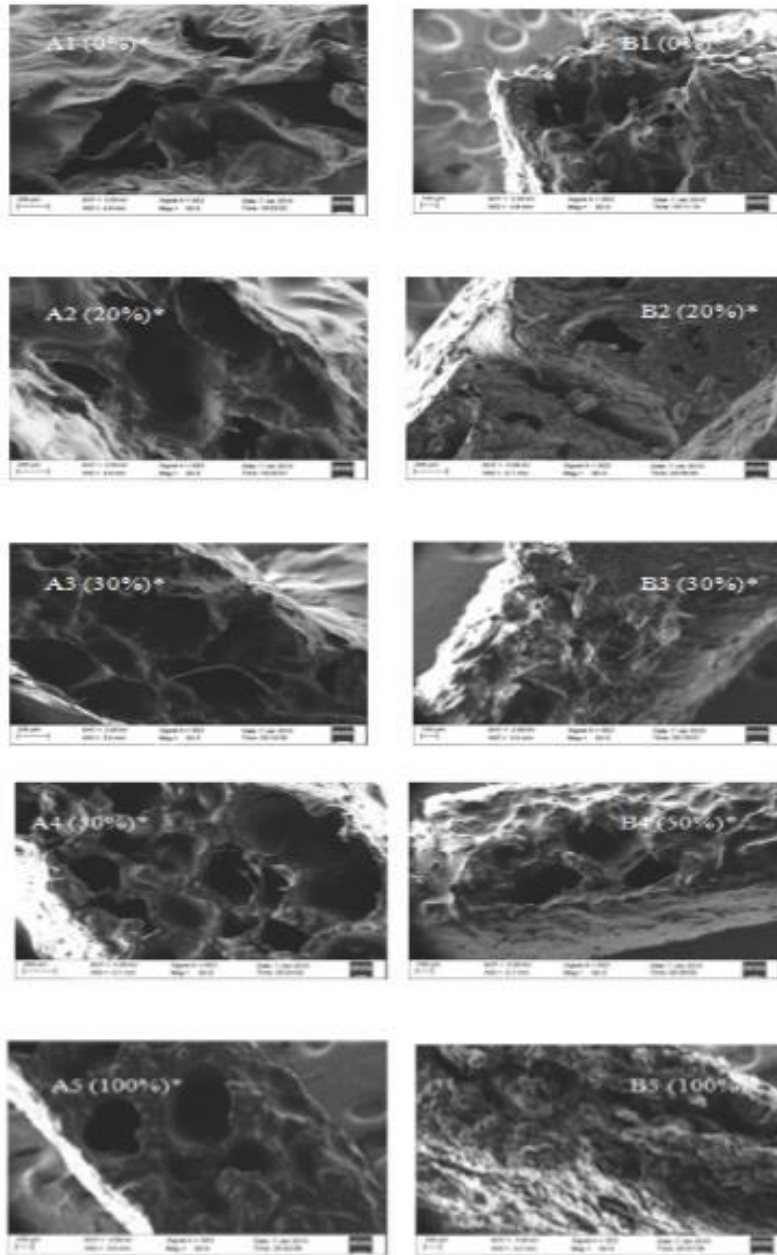
2.8.1.1. Microscopía electrónica de barrido. Con la finalidad de determinar los cambios microestructurales se ha propuesto como alternativa la técnica de microscopía electrónica de barrido, la cual permite obtener imágenes en dos dimensiones a partir de los electrones secundarios emitidos por la muestra analizada luego de ser bombardeada con un haz de electrones. Como los electrones secundarios son de baja energía (menos de 50 eV), se detectan los electrones más cercanos a la superficie. Por lo tanto, se producen zonas brillantes y sombras dependiendo de la topografía de la muestra, lo que se utiliza para la caracterización física de partículas, tamaño, forma, características de los agregados de



partículas etc. De este modo, se pueden obtener imágenes de las muestras con una resolución del tamaño de partículas de 1 a 10 nm (Ferrer-Balas, 2002).

La técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) ha sido ampliamente utilizada en la industria alimentaria e investigación del procesamiento de alimentos, debido a que permite caracterizar el producto final enfocándose principalmente en los cambios estructurales que ocurren en el material de estudio. La investigación llevada a cabo por Bdour et al. (2014), demostraron que mediante SEM es posible identificar diferencias entre el efecto de dos tipos de procesos: exposición al vapor y extrusión de harina de sorgo y cebada. En este estudio, el análisis de imágenes SEM resultó ser una herramienta útil para reconocer los cambios que ocurren a los granos después de diferentes métodos de procesamiento.

El radio de expansión es un parámetro de interés en los productos extruidos, que indirectamente indican el grado de formación de celdas de aire en el alimento para el mejor estudio de este fenómeno se emplea la microscopía electrónica de barrido. En su estudio Noorakmar (2012), señala que las estructuras internas de los alimentos extruidos se ven afectadas por la relación de pescado-harina de tapioca-harina de camote, reportando que las celdas de aire más grande se obtuvieron en los extruidos con menor cantidad de harina de pescado y mayor cantidad de almidón (Figura 4: A1-A5). También, las celdas más pequeñas de aire se observaron con el aumento en el contenido de pescado en la mezcla (Figura 4: B1-B5). En los extruidos de mezclas con 30% de pescado, se observó una pared celular más gruesa y una estructura celular más compacta. Esto coincide con lo reportado por Lee et al. (2003), que informaron que los productos con carne extruidos, presentaban células de aire más pequeñas que las que contenían trigo, y afirmaron que el contenido de almidón incrementaba la producción de celdas de aire, por su capacidad de adsorción de agua. Cantidades mayores de pescado en las harinas extruidas fomentan la formación de fibras continuas, mientras que, al reducir la proteína en las harinas se observan estructuras con mayor expansión (Bhattacharya et al., 1990).



**Figura 4.** Emisión de campo de microscopio electrónico de barrido (50x) de galletas de pescado-almidón (tapioca-camote) extruidos. A1-A5: mezcla 30:70 harina de pescado-almidón (tapioca-camote); B1-B5: mezcla 40:60 de pescado almidones. (%) \* Denota el porcentaje. Fuente: Noorakmar et al. (2012).

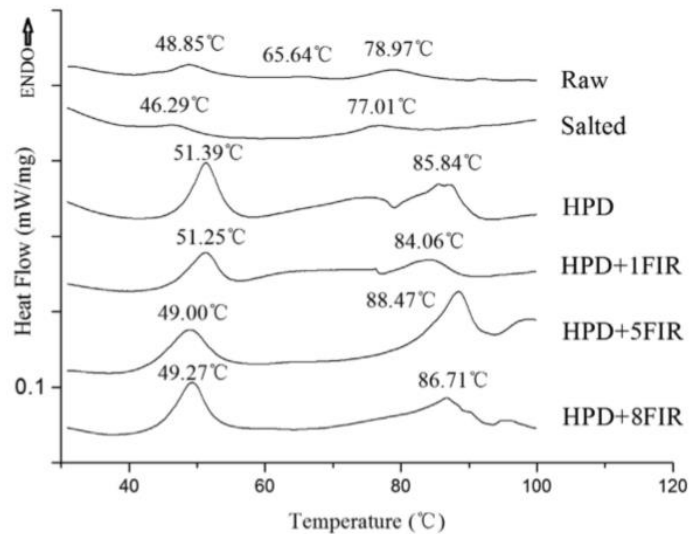
2.8.1.2. Calorimetría diferencial de barrido (CDB). Esta metodología ha sido ampliamente utilizada para determinar interacciones de diferentes polímeros (Sun et al., 2008), destacando las de proteínas-carbohidratos, debido a su influencia en la calidad sensorial de los productos extruidos. La calorimetría diferencial de barrido registra de forma continua la capacidad calorífica aparente de una disolución de proteína, o de cualquier macromolécula en función de la temperatura, obteniéndose lo que comúnmente se denomina termograma. En el cual se presenta un pico de absorción de calor correspondiente a un proceso o transición térmicamente inducida, por lo que, de acuerdo con el segundo principio de la termodinámica, corresponde a un proceso endotérmico. La información fundamental que proporciona la CDB es la capacidad calorífica relativa de un sistema en función de la temperatura (Privalov et al., 1995).

La CDB, permite estudiar el intercambio energético de las transiciones de plegamiento y despliegue de las proteínas. Al ser una de las técnicas más potentes para determinar los parámetros termodinámicos del despliegue térmico de las proteínas, es posible realizar la caracterización termodinámica de los cambios conformacionales inducidos por cambios de temperatura en las proteínas, ácidos nucleicos y bio-membranas (Remmele, 2000; Privalov et al., 1995).

Deng (2014), empleó la calorimetría diferencial de barrido para el estudio de las propiedades térmicas de transición ocurridas en la carne del manto de calamar durante el proceso de deshidratado con bomba de calor asistido mediante radiación infrarroja, donde se observó tres picos de transición endotérmica en la curva de flujo de calentamiento de la muestra fresca; los resultados reportados corresponden a la desnaturalización de la miosina (48.85°C), proteínas sarcoplasmáticas (65.64°C) y actina (78.79°C) (Figura 5).

Desde un punto de vista termodinámico la extrusión requiere el ablandamiento del biopolímero, lo que implica trabajar entre la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y la temperatura de fusión ( $T_m$ ) del biopolímero, pero sin llegar a la descomposición ( $T_d$ ) del mismo ( $T_m < T_d$ ). Este rango de temperaturas es conocido como punto de ablandamiento. Durante la extrusión, el calentamiento juega un papel muy importante en el procesado de materiales a base proteínas porque afecta a su conformación molecular, a su estado

polimérico y a sus interacciones moleculares. Dicho proceso, hace que las cadenas del biopolímero se alineen favoreciendo las interacciones entre cadenas. Como resultado, tanto el estado vítreo de los biopolímeros y los productos alimenticios y el papel del agua como plastificante provoca una atención creciente (Sun et al., 2008).



**Figura 5.** Termograma de calorimetría diferencial de barrido de filetes de manto de calamar fresco y deshidratado a diferentes condiciones. HPD: secado con bomba de calor. HPD + 1 FIR, + 5FIR, +8 FIR: Secado con bomba de calor asistido con radiación infrarroja (Deng, 2014).

Las proteínas permiten una amplia gama de interacciones intermoleculares que reducen la movilidad molecular y aumentan la viscosidad, dando como resultado un elevado punto de ablandamiento, a menudo por encima de la temperatura de descomposición. La agregación de proteínas por puentes disulfuro se facilita por el incremento de temperatura y el contenido en humedad. Por otro lado, el entrecruzamiento de las cadenas por puentes disulfuro da lugar a altas temperaturas de transición vítrea (Sun et al., 2008).

El principal inconveniente del uso de proteínas es que generalmente la temperatura de descomposición está por debajo del punto de ablandamiento, lo que implica que carezcan de propiedades termo formables y no puedan emplearse en la extrusión. Para evitar este

fenómeno, se puede usar plastificantes para modificar el punto de ablandamiento. Así, suele ser necesaria la utilización de un material plastificante para conferir propiedades termoplásticas a las proteínas y hacerlas procesables mediante el proceso de extrusión. El plastificante actúa reduciendo las interacciones entre las cadenas proteicas, principalmente por puentes de hidrógeno, y aumentando la movilidad de dichas cadenas (Gueguen et al., 1998).

Dentro de los principales ingredientes plastificantes se reconoce que el almidón es un biopolímero clave en la cocción por extrusión, por lo cual se ha planteado que las interacciones proteína-almidón pudieran mejorar las características termodinámicas de las proteínas permitiendo así su empleo para la elaboración de botanas expandidas por extrusión (Moraru y Kokini, 2003, Chang, 1992).

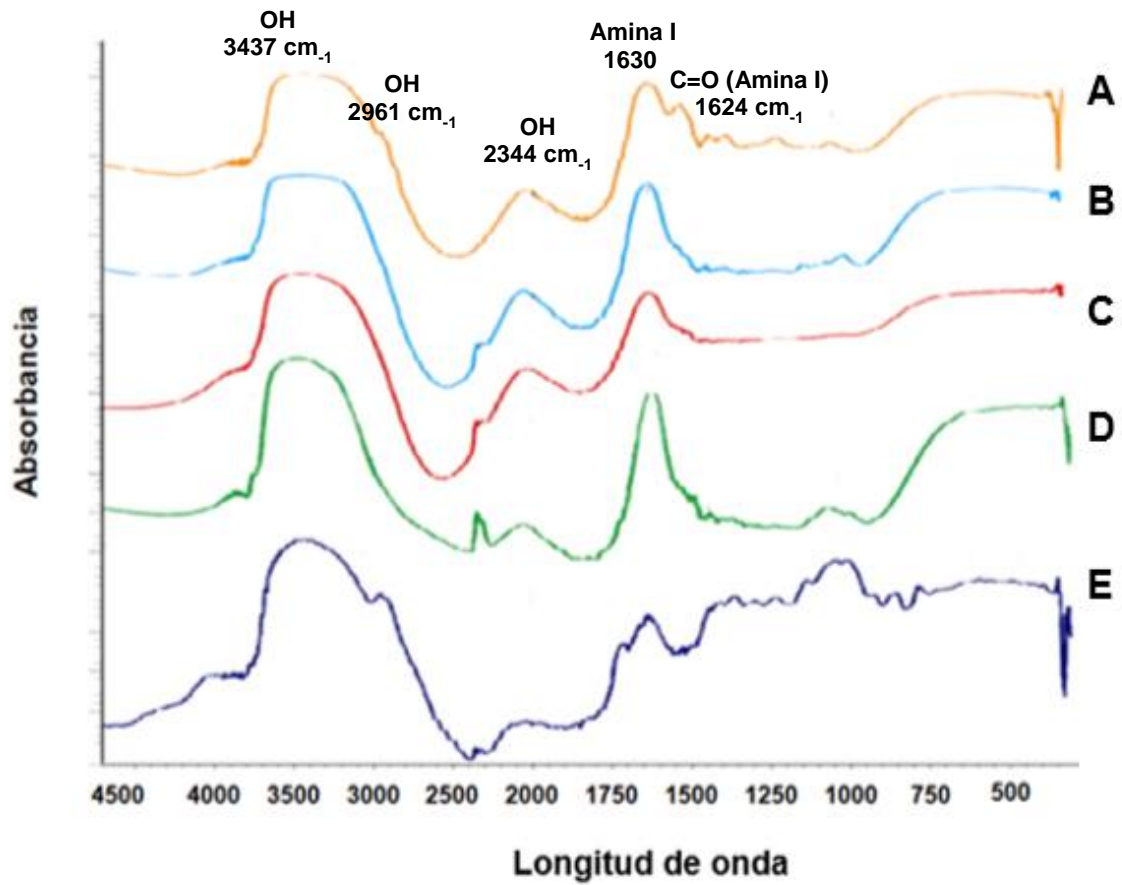
2.8.1.3. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) Con la finalidad de estudiar las posibles interacciones de polímeros en los alimentos se buscan nuevos métodos para su detección y caracterización, por lo que se ha planteado como alternativa la FTIR como herramienta para este tipo de análisis, ya que esta tiene las ventajas de ser no destructivo, rápido, flexible y aplicable en una amplia gama de muestras.

La FTIR se basa en la absorción de la radiación electromagnética en longitudes de onda en el rango 780-2500 nm. Los espectros FTIR de alimentos comprenden bandas anchas que surgen de absorciones superpuestas que corresponden principalmente a armonías y combinaciones de modos vibratorios que implican enlaces químicos del tipo CH, OH y NH (Guy et al., 1996). La energía térmica y mecánica procedente del proceso de extrusión provoca la división de los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de almidón-almidón y almidón-agua, lo cual puede medirse mediante NIR (Osborne, 2007; Lee, 2007).

Widjanarko et al. (2010), realizaron un estudio mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de los compuestos funcionales de mezclas de aislados de proteína de soja (APS), de trigo (APT), de maíz (APM) y glucomanano de konjac (*Amorphophallus konjac*) (KGM) para la elaboración de una barra alimentaria. Los

autores reportan que los espectros de infrarrojo muestran bandas características para cada uno de los componentes del alimento: de aislamientos proteicos indicado por la presencia de bandas anchas a  $3460\text{ cm}^{-1}$  para APS (A),  $3432$  para APT (B) y  $3400\text{ cm}^{-1}$  para APM (C) estas bandas son para las vibraciones de los enlaces del tipo  $\text{-OH}$  (Figura 6). Estas bandas pudieran ser atribuidas a los compuestos carboxílicos en la matriz de aislados de proteínas poliméricas. La presencia de compuestos carboxílicos y amida en APS y APT se confirmaron mediante las bandas a  $3235\text{ cm}^{-1}$  y  $3432\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. En la figura 5, se observaron a  $1650$  y  $1637\text{ cm}^{-1}$  para APS (A), mientras que para APT (B) se asignó a  $1635,52\text{ cm}^{-1}$  y para APM (C) fueron a  $1647\text{ cm}^{-1}$  y  $1634\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente; estas bandas indicaron la presencia de compuestos funcionales de grupos amida de proteína  $\text{-CONH-}$  que se atribuyeron a vibraciones de estiramiento de carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Si bien, en el estudio de Widjanarko et al. (2010), indicaron que cada uno de los aislados de proteínas posee espectros con bandas características, sin embargo, en este estudio se observó una notable diferencia entre la curva de transmisión IR de KGM (Figura 6E) y los espectros de aislados de proteínas (Figura 6A,B,C) y aislados de proteínas-KGM (Figura 6D), fue la eliminación de los picos de KGM a la longitud de onda  $808$  y  $875\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Esto indica que los espectros de manosa y residuos de glucosa desaparecieron, lo que significa que estos residuos podrían los gránulos de KGM pudieran estar interactuando con los aislados de proteínas.



**Figura 6.** Espectro de FTIR de aislados de proteína de soja (A), aislados de proteína de trigo (B), aislados de proteína de maíz (C), aislados de proteína de soja + aislados de proteína de trigo + aislados de proteína de maíz + glucomanano de konjac AP (D) y glucomanano de konjac (E) (Widjanarko et al., 2010).

### **3. HIPOTESIS**

- 1.- Las variables del proceso de extrusión (temperatura y velocidad de tornillo) y la relación de calamar-papa-maíz tienen un efecto significativo sobre la funcionalidad tecnológica del producto extrudido.
- 2.- Es posible utilizar más del 40% de proteína de calamar en combinación con fuentes de almidón (papa-maíz) durante el proceso de extrusión y obtener productos extrudidos con propiedades físicas aceptables.
- 3.- El incremento del contenido de proteína del calamar en la matriz a extrudir, influye en la interacción proteína-almidón y la formación de nuevos enlaces que generan complejos de mayor peso molecular que favorece la expansión del producto.
- 4.- El proceso de extrusión en una matriz de calamar-maíz-papa incrementa la calidad nutricional (digestibilidad de proteína in vitro) y funcionalidad tecnológica (índice de expansión, densidad aparente, solubilidad y absorción de agua) del producto extruido.



## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

Explicar el efecto de las interacciones proteína-carbohidrato sobre la calidad nutricia y tecnológica de un producto extruido a base de calamar, papa y maíz.

### 4.2. Objetivos Específicos

- 1.- Evaluar la influencia de las variables del proceso de extrusión (temperatura y velocidad de tornillo) y la relación de calamar-papa-maíz sobre la funcionalidad tecnológica de un producto extruido.
- 2.- Analizar las propiedades de la microestructura y firmeza de los productos extruidos elaborados a base de papa-maíz con diferentes porcentajes de inclusión de calamar y fuentes de almidón (papa-maíz).
- 3.- Analizar mediante espectroscopia de infrarrojo y calorimetría diferencial de barrido el efecto de la inclusión de calamar sobre los enlaces (intra y extra moleculares) y la formación complejos proteína-carbohidrato generados en productos extruidos combinados con papa-maíz.
- 4.- Determinar la digestibilidad de proteína in vitro y funcionalidad tecnológica de los productos extruidos elaborados a base de papa-maíz con diferentes porcentajes de inclusión de calamar.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Palazuelos E., M. Bustos F., Zazueta J.J. 2006. Preparation of high quality protein-based extruded pellets expanded by microwave oven. *Cereal Chem.* 83 (4):363-369.
- Ahmed A.E. and Labavitch J.M. 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *Food Biochem.* 1:361-365.
- Akdogan H., Tomas R.L. and Oliveira J.C. 1997. Rheological Properties of Rice Starch at High Moisture Contents during Twin-screw Extrusion. *Food Sci. Technol.* 30:488-496.
- Alavi S.H. 1999. Structural properties of protein-stabilized starch-based supercritical fluid extrudates. *Food Res. Int.* 32:107-118.
- Albersheim P., Nevins D.J., English P.D. and Karr A. 1967. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.* 5:340-345.
- Anton A.A., Fulcher R.G. and Arntfield S.D. 2009. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem.* 113:989-996.
- Arhaliass A., Bouzaza D. and Bouvier J.M. 1996. Die design dough expansion in low moisture extrusion-cooking process. *J. Food Eng.* 29(2):139-52.
- Bhandari B., D'Arcy B. and Young G. 2001. Flavour retention during high temperature short time extrusion cooking process: a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36, 453-461.
- Bhattacharya M. and Padmanabhan M. 1994. Evaluation of the hole pressure method to measure the first normal stress difference of corn meal dough during extrusion cooking. *Texture Stud.* 25(3):241-265.
- Bhattacharya S., Das H. and Bose A.N. 1990. Effect of extrusion process variables on microstructure of blends of minced fish and wheat flour. *J. of Food Sci. and Technol.* 2(1):22-28.
- Brown M.H. 1991. Microbiological aspects of frozen foods. In: Bald, W. B. (Ed.). *Food Freezing: Today and tomorrow*. Springer London. First Edition. London, England. Pp.15-25.

- Brusca R.C. and Brusca G.J. 2005. Invertebrados. Mc Graw Hill/Interamericana de España S.L. 2da edición. Madrid, España. Pp. 150-160.
- Castells M., Marin S., Sanchis V. and Ramos A.J. 2005. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Addit. Contam.* 22:150–157.
- Choudhury M.A., Chakraborty R. and Chaudhuri U.R. 2014. Thermal and Microstructural Property of Extruded Snack: An Overview. *Int. J. Eng. Res App.* 4(2):09-18.
- Choudhury G.S. and Gautam A. 2003. Effects of hydrolysed fish muscle on intermediate process variables during twin-screw extrusion of rice flour. *Food Sci. Technol.* 36:667-678.
- Colonna P., Tayeb J. and Mercier C. 1998. Extrusion Cooking of Starch and Starchy Products. En: “Extrusión Cooking”. Capítulo 10. Mercier C., Linko P. and Harper J. (eds). American Ass. of Cereal Chem. St. Paul, EUA. Pp. 247-319.
- CONAPESCA. 2010. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Anuario estadístico de pesca, CONAPESCA, México.
- CONAPESCA. 2012. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Anuario estadístico de pesca, CONAPESCA, México.
- Cordova-Murueta J.H. 2005. Potencian nutrientes del calamar gigante. *Reforma*, sección Ciencia, 25 de agosto.
- Cortes M., Chiralt A. and Suarez H. 2009. Influence of storage conditions on freeze-dried apple fortified with vitamin E. *Rev. Fac. Quím. Farmac.* 16(1):31-41.
- Cortés-Ruiz J.A., Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sánchez M.E., Carvallo-Ruiz M.G. and García-Sánchez, G. 2008. Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation. *Food Chem.* 110(2):486-492.
- De la Rosa M., Silva J., García V. and García S. 1992. El calamar. Una pesquería en desarrollo. Documento Interno. CRIP-Ensenada. INP.
- Deng Y., Wang Y., Yue J., Liu Z., Zheng Y., Qian B., Zhong Y. and Zhao Y. 2014. Thermal behavior, microstructure and protein quality of squid fillets dried by far-infrared assisted heat pump drying. *Food Control.* 32:02-110.
- Deng Y., Yali L., Yuegang W. and Yanyun Z. 2015 Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets. *Food Chemistry.* 171:168-176.
- Eastman J., Orthoefer F. and Solorio S. 2001. Using extrusion to create breakfast cereal products. *Cereal Foods World.* 46:468–471.

- Ehrhardt N.M., Jaquemin P.S., García B.F., González D.G., López M.J. Ortiz C.J. and Solís N.A. 1983. On the fishery and biology of the giant squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, Mexico. En: Caddy J.F.(Ed.), Advances in assessment of world cephalopod resources. FAO. Fish Technol. Papers. 231:306-340.
- Elkins E.R. 1979. Nutrient content of raw and canned green beans, peaches, and sweet potatoes. Food Technol. 33:66–70.
- Faubion J.M. and Hosney R.C. 1982. Temperature Short-Time Extrusion Cooking of Wheat Starch and Flour I. Effect of moisture and flour time on extruded properties Cereal Chem. 59(6):529-533.
- Faubion J.M., Hosney R.C. and Seib P.A. 1982. Functionality of grain components in extrusion. Cereal Food World. 27(5):212.
- Fellows P. 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. Tercer edición. Consultant, UK. pp. 177–182.
- Ferrer-Balas D.M. and Mai Y-W. 2002. Fracture behavior of polypropylene films at different temperatures: fractography and deformation mechanisms studied by SEM. Polymer. 43(10):3083-3091.
- Gómez G. 1994. Grasas y enfermedades crónicas. Seminario Grasa y Alimentación Humana. 27 Oct. 1994. San José, Costa Rica.
- Goñi I., García-Díaz L., Manas E. and Saura-Calixto F. 1996 Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food Chemistry. 56:445–449.
- Gueguen, J, Viroben G, Noireaux P and Subirade M. 1998. Influence of plasticizers and treatments on the properties of films from pea proteins. In. Crops and Prod. 7:149–157.
- Guy R. 2001. Extrusion Cooking: Technologies and Applications. Cambridge: Woodhead Publishing. Primer Edición. London, UK. Pp. 150-162.
- Guy R.E. and Horne A.W. 1988. Extrusion cooking and co-extrusion. In: Blanshard, J.M.V. and Mitchell, J.R. (eds), Food Structure: Its Creation and Evaluation, Butterworths, London. Pp.18:331–49.
- Guy R.E., Osborne B.G. and Robert P. (1996). The application of near-infrared reflectance spectroscopy to measure the degree of processing in extrusion cooking processes. J. Food Eng. 27:241–258.
- Harper J.M. 1989. Food extruders and their applications. In C. Mercier, P. Linko, & J. M. Harper (Eds.), Extrusion cooking. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. Pp. 1–15.

- Harper J.M. and Tribelhorn R.E. 1991. Expansion of native cereal starch extrudates. In Kokini, J. L., Ho, C. T. and Kaswe, M. V. (Eds.), Food Extrusion Science and Technology, New York: Marcel Dekker. Pp.653-669.
- Holm J., Bjorck I., Asp N.G., Sjöberg L.B. and Lundquist I. 1985. Starch availability in vitro and in vivo after flaking, steam-cooking and popping of wheat. J. Cereal Sci. 3:193–206.
- Holm J., Bjorck I., Drews A. and Asp N.G. 1986. A rapid method for the analysis of starch. Starch/Starke. 38:224–229.
- Hsu H.W., Vavak D.I., Saterlee I.D. and Miller G.A. 1977. A Multienzyme Techniques for Estimating Protein Digestibility. J. Food Sci. 42:1269-1273.
- Huber G. 2001. Snacks foods from cooking extruders. En: Lusas E, Rooney L, editors. Snacks foods processing. Technomic Publi. Pennsylvania. Pp. 315-368.
- INAPESCA. 2014. Instituto Nacional de Pesca. Actualización de la Carta Nacional de Pesca, INAPESCA, México.
- Kanagaraj J., John-Sundar V., Muralidharan C. and Sadulla S. 2005. Alternatives to sodium chloride in prevention of skin protein degradation a case study. J. of Cleaner Production. 13:825- 831.
- Klett-Traulsen A. 1996. Pesquería del calamar gigante *Dosidicus gigas*, en: M. Casas y G. Ponce (eds.), Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur, vol. I, CIB-CICIMAR-UABCS. México. Pp. 127-149.
- Kmostak S. and Kurtz D. 1993. Rapid Determination of Supplemental Vitamin E acetate in Feed Premixes by Capillary Gas Chromatography, J. of AOAC Int. 76(4):735-741.
- Konishi Y., Kobayashi M. and Kawai Y. 2011. Bacterial growth trend of a dried Japanese common squid (*Todarodes pacificus Steenstrup*) characterised by dehydration International. J Food Sci. and Techn. 46:2035-2041.
- Lai L. and Kokini J. 1991. Physicochemical and rheological of starch during extrusion (A review). Biotechnol. Progress. (7):251-266.
- Lee K.A. 2007. On-line analysis in food engineering. Ch. 9.2. In: Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology. Ozaki Y., McClure W.F. and Christy A.A., Ed. John Wiley & Sons, Inc. NJ. Pp. 361-378.
- Lee S.O., Min J.S., Kim I.S. and Lee M. 2003. Physical evaluation of popped cereal snacks with spent hen meat. Meat Science. 64(4):383-390.

- Leszek-Moscicki. 2011. *Extrusion-Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability*. Ed. WILEY-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany. Pp. 236.
- Li M. and Lee T.C. 1996. Effect of cysteine on the functional properties and microstructures of wheat flour extrudates. *J. Agri. Food Chem.* 44(7):1871-80.
- López-Cervantes J., Sánchez-Machado D.I., and Rosas-Rodríguez J.A. 2006. Analysis of free amino acids in fermented shrimp waste by high-performance liquid chromatography. *J. of Chrom.* 1105(1):106-110.
- Lue S., Hsieh F. and Huff H. 1991. Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: effects on expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. *Cereal Chem.* 68:227-234.
- Luna-Raya M.C., Urciaga-García J.I., Salinas-Zavala C.A., Cisneros-Mata M.A. and Beltrán-Morales L.F. 2006. Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora. *Eco. Soc. y Terr.* 6(22):535-560.
- Madeka H. and Kokini J.L. 1992. Effect of addition of zein and gliadin on the rheological properties of amylopectin starch with low-to-intermediate moisture. *Cereal Chem.* 69(5):489-94.
- Mahesh B.Z., Manisha V.J. and Uday S.A. 2002. Process Optimization and Characterization of Sorghum Based Extruded Product. *J. Food Sci. Eng.* 367-375.
- Maroulis Z.B., Thymi S., Krokida K.B. and Pappa A, 2004. Structural properties of extruded corn starch. *J. Food Eng.* 68(4):519-526.
- Masakuni T., Yukihiro Tamaki Y., Teruya T. and Takeda Y. 2014. The Principles of Starch Gelatinization and Retrogradation- *Food and Nut. Sci.* 5:280-291.
- Mathew J.M., Hosney R.C. and Faubion J.M. 1999. Effects of corn hybrid and growth environment on corn curl and pet food extrudates. *Cereal Chem.* 76(5):625-628.
- Milán-Carrillo J., Gutiérrez-Dorado R., Perales-Sánchez J.X., Cuevas-Rodríguez E.O., Ramírez-Wong B. and Reyes-Moreno C. 2006. The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41(7):727-736.
- Miller R.C. (1990). *Manual de Extrusión*. New York-EUA. Asociación Americana de Soya. 48.
- Montaño IE, Hernández LA, Lomelí H, Mesías FJ, Ávila A. 2015. Caracterización del consumidor de calamar gigante en Baja California Sur, México. *Corpoica Cienc Technol Agropecu.* 16(1): 41-50.

- Montgomery D.C. 2009. Diseño y análisis de experimentos. 7a edición. Limusa Wiley. Pp. 650-675.
- Moraru C.I., Lee T., Karwe M.V. and Kokini J.L. 2002. Phase behavior of a meat-starch extrudate illustrated on a state diagram. *J. Food Sci.* 67(8):3026-32.
- Mucha M. and Pawlak A. 2005. Thermal analysis of chitosan and its blends. *Thermochim. Acta.* 427:69–76.
- Mujumdar A.S. and Menon A.S. 1995. Drying of solids: principles, classification, and selection of dryers. In: *Handbook of Industrial Drying* (edited by A.S. Mujumdar). Marcel Dekker Inc. New York. pp. 1–39.
- Myers RH. 1971. *Response surface methodology*. Boston, MA: Allyn and Bacon. Pp. 330-338.
- Myung-Woo B., Kyong-Haeng L., Dong-Ho K., Jae-Hun K., Hong-Sun Y., And Hyun-Joo A. 2000. Food protection effects of gamma radiation on sensory qualities, microbiological and chemical properties of salted and fermented squid. *J Food Prot.* 63:7:934–939.
- National Canners Association. Research Laboratories. 1979. *Laboratory Manual for Food Canners and Processors. Volume I. Microbiology and Processing.* The AVI Publishing Company. Tercer Edición. Westport, Connecticut. Pp. 1-130.
- Nesis K.N., 1970. Biology of the Peru-Chilean giant squid: *Dosidicus gigas*. *Okeanology.* 10:140-152.
- Neto C.T., Giacometti J.A., Job A.E., Ferreira F.C., Fonseca J.L. and Pereira M.R. 2005. Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. *Carboh. Polym.* 62:97–103.
- Nigmatullin C.H., Nesis K.N. and Arkhipkin A.I. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Omamastrephidae). *Fish. Res.* 54:9-19.
- Nijhuis H.H., Torringa E. and Luyten H. 1996. Reserach needs and opportunities in the dry conservation of fruits and vegetables. *Drying Technol.* 14:1429–1457.
- Noorakmar A.W., Cheow C.S., Norizzah A.R., Mohd A. and Ruzaina I. 2012. Effect of orange sweet potato (*Ipomoea batatas*) flour on the physical properties of fried extruded fish crackers International. *Food Res. J.* 19(2):657-664.
- Norfezah M.N., Alistair C., Hardacre A., Charles S. Brennan. 2013. The Development of Expanded Snack Product Made from Pumpkin Flour-Corn Grits: Effect of Extrusion Conditions and Formulations on Physical Characteristics and Microstructure. *Foods.* 2:160-169

- Onwulata C.I. 2001. Physical properties of extruded products as affected by cheese whey. *J. Food Chem.* 34(7):424-429.
- Osborne B.G. 2007. Flours and breads. Ch. 8.1. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. Ozaki Y., McClure W.F., and Christy A.A., eds., John Wiley & Sons, Inc. NJ. Pp. 281-296.
- Paredi M.E., Tomas M.C. and Crupkin M. 2002. Thermal denaturation of myofibrillar proteins of striated and smooth adductor muscles of scallop (*Zygochlamys patagonica*). A differential scanning calorimetric study. *Journal of Agriculture Food Chem.* 50(4):830-834.
- Paredi M.E., Tomas M.C., Crupkin M. and Añon M.C. 1996. Thermal denaturation of muscle proteins from male and female squid (*Illex argentinus*) at different sexual maturation stages. A differential scanning calorimetric study. *J. Agr. Food Chem.* 44:3812-3816.
- Patil R.T., Berrios J.J., Tang J., Pan J. and Swanson B.G. 2005. Empirical modeling of extrusion cooking of chickpea flour for process scale up. ASAE meeting. Paper number: 056068. Tampa, Florida. Pp. 3-19.
- Privalov G., Kavina V., Freire E. and Privalov P.L. 1995. Precise scanning calorimeter for studying thermal properties of biological macromolecules in dilute solution. *Anal. Biochem.* 232(1):79–85.
- Rajamani S. 1998. Cleaner tanning technologies in the beam house operation. UNIDO report, 9-18.
- Ramasamy P., Subhapradha, Sadhasivan S., Seedeivi P., Shanmugam V. and Shanmugam A. 2012. Nutritional evaluation of the different body parts of cuttlefish *Sepia kobsiensis* Hoyle, 1885. *African Journal of Food Science* 6(22):535-538.
- Remmele R.L. and Gombotz W.R. 2000. Differential scanning calorimetry: A practical tool for elucidating the stability of liquid biopharmaceuticals. *Pharm. Technol. Europe.* 13(6):36-46.
- Rickman J.C., Bruhn C.M. and Barrett D.M. 2007. Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 2. Vitamin A and carotenoids, vitamin E, minerals and fibre. *J. Sci. Food Agric.* 87:930-934.
- Rocha-Guzman N.E., Gallegos-Infante J.A., Gonzalez-Laredo R.F., Bello-Pérez A., Delgado-Licon E., Ochoa-Martinez A. and Prado-Ortiz M.J. 2008. Physical Properties of Extruded Products from Three Mexican Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. *Plant Foods Human Nut.* 63:99–104.
- Sagra-Hazelnut Products. 1995. Personal communication. Ordu, Turkey.



- Salinas-Zavala C.A., Camarillo S., Mejía-Rebollo A., Sánchez-Hernández S., Sánchez-Verdugo C., González-Angulo M., Flores-Quintana E. and Beltrán-Morales L.F. 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.
- Saura-Calixto F., García-Alonso A., Goni I. and Bravo L. 2000. In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *J. Agric. Food Chem.* 48:3342–3347.
- Saura-Calixto F., Goni I., Bravo L., Mañas E. 1993. Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. *J. Food Sci.* 58:642–643.
- Schaefer E.J. 2002. Lipoproteins, nutrition and heart disease. *American J. Clin. Nut.* 75:191-212.
- Shaviklo A. R., Azaribeh M., Moradi Y. and Zangeneh P. 2015. Formula optimization and storage stability of extruded puffed corn-shrimp snacks. *LWT-Food Sci. Techn.* 63:1:307-314. doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.093.
- Stanley E., Salinas-Zavala C.A., Camarillo S., Mejía-Rebollo A., Sánchez-Hernández S., Sánchez-Verdugo C. and González-Angulo M. 1998. Protein Reactions During Extrusion Processing. En: *Extrusion Cooking*. Cap 10. Mercier C, Linko P, Harper JM (eds.). American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, EUA. Pp. 321-341.
- Stat-Ease. 2005. Design Expert Package, Version 7.0.0. Minneapolis. USA.
- Stewart G., Gosselin C. and Pandian S. 1992. Selected ion monitoring of tert-butyltrimethylsilyl cholesterol ethers for determination of total cholesterol content in foods. *Food Chem.* 44:377-380.
- Suknark K., Phillips R.D. and Huang Y.W. 1999. Tapioca-fish and tapioca-peanut snacks by twin-screw extrusion and deep-fat frying. *J. Food Sci.* 64:303-308.
- Sun S., Song Y. and Zheng Q. 2008. Thermo-molded wheat gluten plastics plasticized with glycerol: Effect of molding temperature. *Food Hydrocoll.* 22:1006–1013.
- Talens P. 2002. Study of the influence of osmotic dehydration and freezing on the volatile profile of strawberries. *J Food Sci.* 67:1648-1653.
- Topuz O.K., Gokoğlu N., Jouppila K. and Kirjoranta S. Development of Extruded Shrimp-Corn Snack Using Response Surface Methodology. *Turk J Fish Aquat Sci.* 12:1-18.
- Torrinha A., Gomes F., Oliveira M., Cruz R., Mendes E., Delerue-Matos C., Casal S. and Morais S. 2014. Commercial squids: Characterization, assessment of potential

health benefits/risks and discrimination based on mineral, lipid and vitamin E concentrations. *Food Chem. Toxicol.* 67:44–56.

- Tovar J. 1995. Influencia de factores intrínsecos de los alimentos sobre la digestión y absorción del almidón. *Arc. Latinoam. Nut.* 45(1):263-265.
- Tovar J., Herrera E., Laurentín A., Melito C. and Pérez E. 1999. In vitro digestibility of modified starches. En: Pandalai SG, editor. *Rec. Res. Adv. Agric. and Food Chem.* 3:1-10.
- Widjanarko S.B., Nugroho A. and Estiasih, T. 2011. Functional interaction components of protein isolates and glucomannan in food bars by FTIR and SEM studies. *African J. Food Sci.* 5(1):1 -21.
- Wijendran V. and Hayes K.C. 2004. Dietary n-6 and n-3 Fatty Acid Balance and Cardiovascular Health. *Annual Rev. Nut.* 24:597-615.
- Yatsu, A. 1999. Morphology and distribution of rhynchoteuthion paralarvae of two ommastrephid squids, *Dosidicus gigas* and *Sthenoteuthis oualaniensis*, collected from eastern tropical Pacific Ocean during 1997. En: Report of the Kayio Maru cruise for study on the resources of two ommastrephid squids. Fish. Agency of Japan. Pp. 193-206.
- Yemm E.W. and Willis A.J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. J.* 57:508-514.
- Zazueta-morales J., Martínez-Bustos F., Jacobo-Valenzuela N., Ordorica-Falomir C. and Paredes-López O. 2002. Effects of calcium hydroxide and screw speed on physicochemical characteristics of extruded blue maize. *J. Food Sci.* 67(9):3350-3358.
- Zeng J., Gao H., Li G. and Liang X. 2011. Extruded corn flour changed the functionality behaviour of blends. *Czech J. Food Sci.* 29(5):520–527.

## **6. BOTANAS EXPANDIDAS A BASE DE MEZCLAS DE HARINAS DE CALAMAR, MAÍZ Y PAPA: EFECTO DE LAS VARIABLES DEL PROCESO SOBRE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS**

JL Valenzuela-Lagarda<sup>a</sup>, R Gutiérrez-Dorado<sup>b</sup>, R Pacheco-Aguilar<sup>c</sup>, ME Lugo-Sánchez<sup>c</sup>, JB Valdez-Torres<sup>a</sup>, C Reyes-Moreno<sup>b</sup>, MA Mazorra-Manzano<sup>c</sup> MD Muy-Rangel<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Coordinación Culiacán. Culiacán, Sinaloa, México. <sup>b</sup>Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México. <sup>c</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, Hermosillo, Sonora, México

**Corresponding author:** Dr María Dolores Muy-Rangel. E-mail: [mdmuy@ciad.mx](mailto:mdmuy@ciad.mx)

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Unidad Culiacán, Carretera a El Dorado Km. 5.5. Campo El Diez. 80110, Culiacán, Sinaloa, México

Artículo publicado en la revista: CyTA: Journal of Food. 2017. Vol. 15, N°. 1

<http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2016.1219391>

## 6.1. Resumen

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es de interés comercial como fuente de proteína, y presenta potencial para el desarrollo de productos alimenticios listos para consumir, entre las que se encuentran las botanas expandidas por extrusión (BEE). El objetivo fue determinar el efecto de las condiciones del proceso de extrusión sobre las propiedades fisicoquímicas de BEE elaboradas con 40% de harina de calamar (HC) y 60% de mezclas de harinas de papa (HP)/maíz (HM) en relación (p/ p) 10/50, 30/30 y 50/10. Los mejores valores de índice de expansión (2,87), densidad aparente (0,14 g/cm<sup>3</sup>), firmeza (7,22 N), índice de solubilidad (27,76%) y de absorción (5,64 g H<sub>2</sub>O/g muestra) en agua, fueron obtenidos con la mezcla de mayor contenido de harina de papa. Se concluye que es posible elaborar botanas expandidas listas para consumir a partir de harina de calamar, ricas en proteína (>40%) con buenas propiedades fisicoquímicas.

## 6.2. Abstract

The jumbo squid (*Dosidicus gigas*) is one of the species of commercial interest as a source of protein and has potential for the development of ready to eat food products including expanded snacks by extrusion (SEE). The objective of this research was to determine the effect of the conditions of the extrusion process on the physicochemical properties of SEE made with 40% squid flour (HC) and 60% of potato (HP)/maize (HM) flour mixes in ratios (w/w) of 10/50, 30/30 and 50/10. The best values of expansion rate (2.87), bulk density (0.14 g/cm<sup>3</sup>), firmness (7.22 N), water solubility index (27.76%) and water absorption index (5.64 g H<sub>2</sub>O/g sample) were obtained with the mixture of higher content of potato flour. It is concluded that it is possible to produce ready to eat expanded snacks from squid meal rich in protein (>40%) with good physicochemical properties.

### 6.3. Introducción

Existen más de 100 especies de calamar en el mundo de las cuales las especies *Illex argentinus*, *Todarodes pacificus* y *Dosidicus gigas* son las de mayor importancia comercial (SilvaDávila, Avendaño-Ibarra, & Franco-Gordo, 2013). El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es una especie endémica del Pacífico Oriental distribuida desde California (40 °N) hasta el sur de Chile(45°S) con mayor población en las costas de Perú y el Golfo de California (Bazzino-Ferreri, 2014). En México, la producción de calamar gigante ocupa el séptimo lugar en cuanto a volumen de productos pesqueros. En 2014, su captura superó las 35 mil toneladas, de la cual más del 80% destinó al consumo en fresco en forma de manto refrigerado o congelado (CONAPESCA, 2015). Aunque en menor proporción, este también se consume en forma de alimento enlatado o deshidratado (Luna-Raya, Aragón-Noriega, & Salinas-Zavala, 2009). Una alternativa tecnológica para este molusco podría ser la extrusión, proceso que mediante presión y calor ha logrado expandir cereales, tubérculos y oleaginosas, de importancia comercial por su contenido de proteínas y almidón (Camacho-Hernández et al., 2014; Maskus & Arntfield, 2015).

Así mismo, se busca la posibilidad de adaptación de esta tecnología para el elaborar productos extrudidos a base de especies de origen marino (Cortez-Netto, Campagnoli-De Oliveira, Lapa-Guimarães, & Villegas, 2014; Noorakmar, Cheow, Norizzah, Mohd-Zahid, & Ruzaina, 2012; Murphy et al., 2003) como el calamar, con la ventaja de ofrecer alimentos de mayor valor biológico (VB) asociado su digestibilidad proteica (moluscos VB = 81%) comparado con los cereales (VB = 59% maíz y 65% trigo) (Cardellá-Rosales et al., 2007), de uso común en este tipo de alimentos. El efecto del proceso de extrusión sobre las propiedades físicas de botanas expandidas elaboradas a partir de harinas de calamar gigante (Wianecki, 2007) y especies de pescado (Choudhury, Chakraborty, & Chaudhuri, 2014; Noorakmar et al., 2012; Cortez-Netto et al., 2014; Murphy et al., 2003; Noorakmar et al., 2012), ha demostrado que se pueden obtener productos extrudidos con propiedades físicas aceptables y competitivas comercialmente. La extrusión es un método que combina altas temperaturas, presión y corte de cizalla para obtener productos

expandidos listos para consumo (Harper & Clark, 1979). Sin embargo, el alto contenido de proteínas de los productos de origen marino (ej. calamar >15%) limitan su empleo debido a su baja capacidad de retener vapor de agua, reduciendo su capacidad de expansión (Choudhury et al., 2014). Para considerar que una matriz logra la expansión durante el proceso de extrusión, esta deberá presentar un índice de expansión (diámetro del alimento/diámetro de salida del extrusor)  $\geq 1,5$ , según Harper and Clark (1979) y Delgado-Nieblas et al. (2015).

Botanas a base de mezclas de almidón más harinas de cangrejo (Murphy et al., 2003), pescado dorado (Cortez-Netto et al., 2014), tilapia roja (Noorakmar et al., 2012), camarón (Choudhury et al., 2014), pescado-calamar (Wianecki, 2007), han mostrado pobre capacidad de expansión (<1,5), debido a las altas proporciones (>30%) de proteína animal (Choudhury et al., 2014; Murphy et al., 2003). Por ello, para reducir este comportamiento se sugiere combinar dichos productos con diferentes fuentes y proporciones de almidón, principalmente papa-maíz (>70%) (Noorakmar et al., 2012), así como la optimización de las condiciones del proceso de extrusión (Delgado-Nieblas et al., 2015; Escalante-Aburto et al., 2014). Murphy et al. (2003), encontraron que mezclas a base de subproducto de cangrejo (10, 20 y 40%) con harinas de maíz/papa relación 2/1 (p/p), humedad de alimentación del 10% y dos velocidades de tornillo (VT) 150 y 250 rpm a temperatura de salida de 157°C, se observó que a menor VT y mayor porcentaje de harina de cangrejo, se reduce el índice de expansión (IE) (ej. 150rpm: IE=2,7, 2,1 y 1,7, y 250 rpm: IE = 2,5, 1,8 y 1,4, para 10, 20 y 40% de harina de cangrejo, respectivamente) conforme aumenta la proteína animal por efecto del tipo y contenido de aminoácidos de la matriz. En este sentido, Noorakmar et al. (2012); Cortez-Netto et al. (2014) y Choudhury et al. (2014), sugieren que para extrudir matrices de origen animal se requiere agregar más del 50% de diferentes fuentes de almidón, lo que facilita la absorción de agua y permitir la formación de una estructura porosa en los productos (Camacho-Hernández et al., 2014); además de favorecer la densidad aparente (DA) (Choudhury et al., 2014), la textura crujiente y la aceptación del producto (Oke, Awonorin, & Workneh, 2013). Para lograr la generación de una botana expandida dependen de la composición de los ingredientes y de las condiciones de procesamiento empleadas. Es por ello que, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de las condiciones del proceso de extrusión y la relación harina de

papa (HP)/maíz (HM) mezclada con harina de calamar sobre las propiedades fisicoquímicas de las botanas extrudidas expandidas.

## 6.4. Materiales y Métodos

### 6.4.1 Materiales

El manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) se obtuvo de un supermercado de la ciudad de Culiacán Sinaloa, y se mantuvo congelado a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Las hojuelas de papa (*Solanum tuberosum*) de la marca Bakers and Chefs® y harina de maíz (*Zea mays*) marca MASECA®, se adquirieron en un supermercado local, y almacenaron en refrigeración ( $4-8^{\circ}\text{C}$ ) hasta su uso.

### 6.4.2. Preparación de la Muestra

El manto de calamar se descongeló y se lavó con agua potable, se le retiró la túnica y capa exterior e interior, posteriormente se cortó en cubos de  $1\text{ cm}^3 \pm 0,2$  y se deshidrató en un secador de charolas a  $65^{\circ}\text{C}/18\text{ h}$  (condición obtenida según estudios preliminares). El calamar deshidratado y las hojuelas de papa fueron molidos empleando una licuadora modelo BPST02-B00 (Oster, Monterrey, México) y se tamizó en una malla 40. Se prepararon tres formulaciones de harina de calamar (C), papa (P) y maíz (M). La proporción de harina calamar se mantuvo constante (40%) y la relación de harinas de papa/maíz (RPM) en cada formulación fue RPM=10/50,30/30, 50/10 (p/p), cada una de las cuales se acondicionó con agua destilada hasta obtener una humedad del 15% antes del proceso. Las mezclas humectadas se empacaron en bolsas de polietileno y se almacenaron ( $4^{\circ}\text{C}/8\text{h}$ ). Antes de la extrusión se atemperaron ( $25^{\circ}\text{C}/1\text{ h}$ ).

### **6.4.3. Análisis Proximal y Contenido de Minerales**

La determinación de humedad, cenizas, proteína (N x 6.25), fibra dietaria (Megazyme), grasa y carbohidratos (por diferencia) en las muestras se realizó según las metodologías de la AOAC (1999). El contenido de minerales se determinó por absorción atómica (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Zn<sup>++</sup>, Cu<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup> y Mn<sup>++</sup>) y espectrofotómetro UV-visible (P<sup>+++</sup>) (AOAC, 1999).

### **6.4.4. Elaboración de Botanas Expandidas por Extrusión**

Para la elaboración de las botanas extrudidas expandidas (BEE) se empleó un extrusor de laboratorio detornillo simple Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc., South Hackensack, Nueva Jersey, EE.UU.) equipado con un tornillo de 19 mm de diámetro; longitud a diámetro 20:1; relación de compresión nominal 3:1 y dado de salida de 3 mm de diámetro. El barril del extrusor está compuesto de tres zonas de calentamiento, las primeras dos se mantuvieron a temperatura constante 95, 110° C respectivamente, y la tercera se ajustó a valores de 130, 140, 150 y 160°C de acuerdo al diseño experimental. La velocidad de rotación de tornillo fue 100, 150, 200 y 240 rpm para los diferentes tratamientos del diseño experimental. La muestra fue alimentada a un flujo de masa de 30–40 g/min. Los productos extrudidos se equilibraron a condiciones ambientales (25°C, HR=65%) y se guardaron en bolsas de polietileno hasta su uso.



#### 6.4.5. Índice de Expansión (IE)

Para evaluar el IE, se cortaron 5 piezas de extrudidos de 5 cm de largo cada una por cada tratamiento y se les midió el diámetro de cada pieza, por triplicado, empleando un Calibrador digital Weston (Modelo STW-1116–150). El resultado se calculó con respecto al diámetro de salida del extrusor (3 mm) (Escalante-Aburto et al., 2014).

#### 6.4.6. Densidad Aparente (DA)

Se cortaron 5 piezas de extrudidos cada uno de 5 cm de longitud para cada tratamiento. Se evaluó el peso de cada muestra en una balanza analítica Sartorius (Modelo AX224) y se midió por triplicado el diámetro de cada pieza con un Calibrador digital Weston (Modelo STW-1116–150). La densidad de la muestra se calculó en g/cm<sup>3</sup>, según la ecuación (1) (Lo, Moreira, & Castell-Pérez, 1998).

$$DA = \frac{\text{Peso muestra}}{\pi \left( \frac{\text{diámetro muestra}}{2} \right)^2 \text{Longitud muestra}} \quad (1)$$

#### 6.4.7. Firmeza

La firmeza de los productos extruidos se determinó como la fuerza de punción necesaria para perforar las muestras (Rodríguez-Miranda et al., 2014). Las mediciones se realizaron en un Texturómetro Chatillion CS225, cada extrudido, de aproximadamente 5 cm de longitud, se colocó horizontalmente en un plato de metal y se perforó con un punzón de 2 mm de diámetro a velocidades de 20 y 50 mm/min, hasta obtener la fuerza máxima de penetración para perforar 3 mm a la BEE. La firmeza se realizó en cien muestras con tres mediciones cada una de los productos obtenidos para cada uno de los tratamientos y se reportó en Newton (N).

#### 6.4.8. Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)

La determinación de ISA y IAA se realizó según Anderson, Conway, Pfeifer, and Griffin (1970). Se pesaron 2,5 g de muestra a los cuales se adicionaron 10 mL de agua destilada y mantuvo a 30°C durante 30 min. Posteriormente, la muestra se centrifugó a 1000 x g, por 10 min. El sobrenadante se decantó y se secó a 90°C/24 h. El precipitado retenido en los tubos se pesó en una balanza analítica. El ISA se calculó mediante la relación del peso del sobrenadante evaporado con respecto al peso de la muestra inicial por 100 y se reportó en porcentaje. Mientras que el valor de IAA fue a dimensional y se obtuvo mediante el cociente del peso del precipitado húmedo con respecto al peso de la muestra inicial.

#### 6.4.9. Porcentaje de Digestibilidad de la Proteína *in vitro* (PDPV)

Se pesaron 100 mg de muestra seca y desgrasada, se incubó con 20 ml de HCl 0,1 N y 1,5 mg de pepsina a 37°C/3 h. La mezcla se neutralizó con 10 ml de NaOH 0,2 N, se añadió 40 mg de pancreatina en 7,5 ml de buffer fosfato (pH = 8) y se incubó a 37°C/24 h, posteriormente se añadió 700 ml de ácido tricloroacético 80% y se centrifugó 10 min a 3215 x g. Al sedimento se le adiciona 30 ml de H<sub>2</sub>O, se filtró y deshidrató a 45°C/24h. Al residuo deshidratado y a la muestra inicial se le determinó el contenido de proteínas (micro Kjeldahl). El PDPV se calculó según ecuación 2 (Rathod & Annapure, 2016).

$$\text{PDPV (\%)} = \frac{\text{Proteína de la muestra} - \text{proteína en el residuo}}{\text{Proteína de la muestra}} \quad (2)$$

#### **6.4.10. Análisis Estadístico**

Se utilizó un experimento de tres factores: F1: Temperatura del extrusor ( $T = 130, 140, 150, 160^{\circ}\text{C}$ ), F2: Velocidad de tornillo ( $VT = 100, 150, 200, 240 \text{ rpm}$ ) y F3: relación harinas de papa/ maíz ( $RPM = 10/50, 30/30 \text{ y } 50/10$ ) totalmente al azar con dos réplicas por tratamiento. Las variables de respuesta analizadas fueron índice de expansión (IE), densidad aparente (DA), firmeza (F), índice de solubilidad en agua (ISA) e índice de absorción de agua (IAA). Cuando el análisis de varianza resultó significativo ( $p \leq 0,05$ ), se realizó una comparación de medias aplicando la prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Se utilizó el paquete estadístico MINITAB versión 17 (Montgomery, 2009).

### **6.5. Resultados y Discusión**

#### **6.5.1. Análisis Proximal y Contenido de Minerales de las Diferentes Formulaciones**

La incorporación de calamar gigante a las formulaciones a extrudir genera productos con más del 40% de proteína, valor que se incrementa al aumentar la proporción de maíz/papa; así mismo por la naturaleza de los ingredientes, esta relación favorece en los productos la presencia de fibra dietaria, carbohidratos y minerales como el fósforo, potasio, sodio, magnesio y calcio, principalmente (Tabla 1). La modificación de los componentes proximales observados en las muestras en estudio, es el inicio para promover la interacción entre las macromoléculas y obtener productos extrudidos expandidos, según lo sugerido por Choudhury et al. (2014) y Murphy et al. (2003).

### 6.5.2. Índice de Expansión (IE)

Para el índice de expansión, el análisis estadístico no mostró diferencia estadística significativa ( $p \geq 0,5$ ) para las interacciones T\*RPM, VT\*RPM y T\*VT\*RPM; pero si ( $p \leq 0,5$ ) para los factores temperatura, velocidad de tornillo, RPM, temperatura\*velocidad de tornillo (Tabla 2). Los valores de IE de las botanas extrudidas expandidas (BEE) variaron entre 0,77 y 2,87, donde el valor más alto se obtuvo en las muestras con RPM = 50/10 tratadas a T = 130° C y VT = 200 rpm (Figura 1). Esto pudiera deberse al mayor contenido de almidón, por efecto de la harina de papa, en comparación con la harina de maíz; ya que, durante la extrusión, el almidón genera estructuras con mayor número de poros y tamaño, lo que favorece la expansión. Así mismo, el tipo de almidón también puede influir en el IE de las BEE, por ejemplo, el almidón de papa posee mayor contenido de amilopectina (79%) que el almidón de maíz (68%) (Hernández-Medina, Torruco-Uco, Chel-Guerrero, & Betancur-Ancona, 2008; Salinas-Moreno, Pérez-Herrera, Castillo-Merino, and Álvarez-Rivas (2003); lo que puede afectar el grado de expansión de la botana (Camacho-Hernández et al., 2014). La relación directa del contenido de almidón con el IE aquí encontrado, concuerda con los resultados reportados por Murphy et al. (2003), al elaborar alimentos extrudidos con 60–90% de mezcla de harina de papa /harina de maíz (relación 1/2) y 10–40% de carne de cangrejo. El mismo comportamiento fue reportado en BEE elaboradas con la inclusión de proteína de distinta fuente animal como pescado (Clayton & Miscourides, 1992), jaiba (Choudhury & Gautam, 2003) y camarón (Gogoi, Oswalt, & Choudhury, 1996). La mejora en el IE fue atribuido al incremento en la relación amilopectina/amilosa en la fuente de almidón (Gogoi et al., 1996).

En la Figura 1 y 2, de manera general, se puede observar que conforme aumentó la velocidad de tornillo en el proceso de extrusión, las BEE mostraron un incremento significativo del IE. Esto puede atribuirse a una relación directa entre VT, donde la energía mecánica específica generada por este factor, permite modificar las propiedades termomecánicas de los materiales alimenticios y favorecer el IE de los productos (Iwe, Zuilichen, & Ngoddy, 2001).

**Tabla 1.** Contenido proximal y de minerales para las formulaciones calamar RPM: 10/50, 30/30 y 50/10.

**Table 1.** Mineral and proximate content for squid-RPC: 10/50, 30/30 and 50/ 10 formulations.

Componente	RPM*		
	10/50	30/30	50/10
Humedad (%)	4.83 ± 0.06 <sup>a**</sup>	4.48 ± 0.19 <sup>b</sup>	4.32 ± 0.06 <sup>b</sup>
Proteína (%)	49.31 ± 1.65 <sup>a</sup>	42.92 ± 1.07 <sup>b</sup>	40.59 ± 1.52 <sup>b</sup>
Lípidos (%)	1.61 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.35 ± 0.52 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.40 <sup>a</sup>
Carbohidratos (%)	35.00 ± 0.92 <sup>a</sup>	41.19 ± 1.33 <sup>b</sup>	42.32 ± 2.93 <sup>b</sup>
Fibra dietaria (%)	6.03 ± 0.73 <sup>a</sup>	6.72 ± 2.60 <sup>a</sup>	7.29 ± 1.85 <sup>a</sup>
Cenizas (%)	3.15 ± 0.06 <sup>c</sup>	3.33 ± 0.08 <sup>b</sup>	3.73 ± 0.05 <sup>a</sup>
Fe (mg/100g)	2.68 ± 0,12 <sup>a**</sup>	1.73 ± 0,24 <sup>b</sup>	1.66 ± 0,12 <sup>b</sup>
Mn	0.19 ± 0,016 <sup>a</sup>	0.21 ± 0,017 <sup>a</sup>	0.22 ± 0,011 <sup>a</sup>
Zn	6.05 ± 0,24 <sup>a</sup>	5.11 ± 0,16 <sup>b</sup>	4.11 ± 0,05 <sup>c</sup>
Cu	0.34 ± 0,021 <sup>a</sup>	0.35 ± 0,021 <sup>a</sup>	0.34 ± 0,038 <sup>a</sup>
Na	240.94 ± 4,60 <sup>b</sup>	250.88 ± 3,70 <sup>b</sup>	268.69 ± 10,61 <sup>a</sup>
K	649.81 ± 4,97 <sup>c</sup>	787.0 ± 24,9 <sup>b</sup>	1006.1 ± 46,7 <sup>a</sup>
Ca	59.18 ± 3,7 <sup>a</sup>	52.19 ± 0,73 <sup>a,b</sup>	46.51 ± 1,32 <sup>b</sup>
Mg	106.03 ± 12,11 <sup>a</sup>	107.38 ± 2,68 <sup>a</sup>	111.68 ± 0,73 <sup>a</sup>
P	656.76 ± 9.22 <sup>a</sup>	628.7 ± 26.4 <sup>a,b</sup>	608.33 ± 4.77 <sup>b</sup>

Nota: \*RPM = Relación de harinas de papa/maíz. \*\*Diferentes letras en cada renglón indican diferencia significativa ( $\alpha = 0,05$ ).

Note: \*RPC = Ratio potato/corn flour. Different letters in each row indicate significant difference ( $\alpha = 0.05$ ).

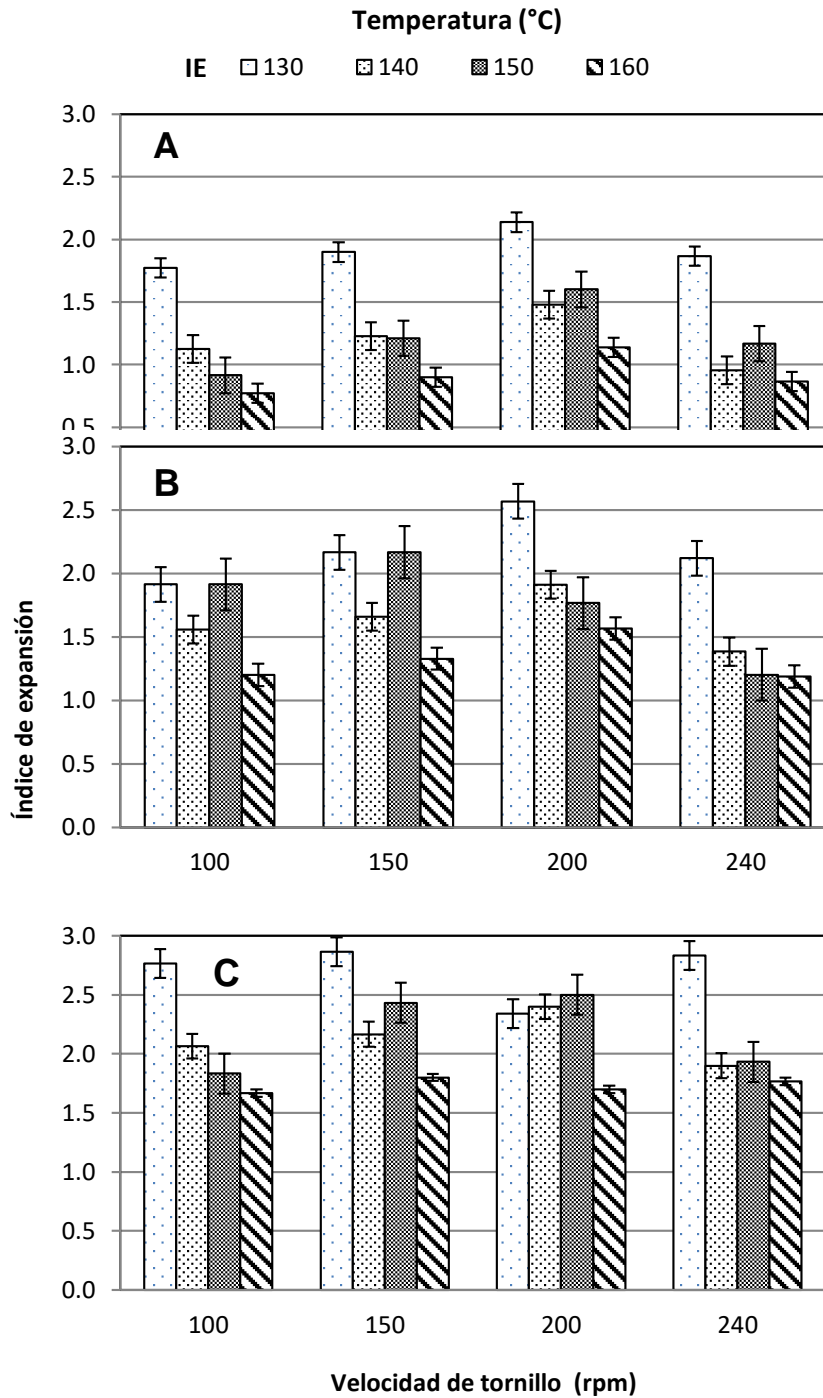
**Tabla 2.** Valores p del análisis estadístico de los factores para cada una de las variables de respuesta en productos extrudidos.

**Table 2.** Values p statistical analysis of the factors for each of the response variables in extruded products.

Factor	Variable de respuesta				
	IR	DA	ISA	IAA	Firmeza
T	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
VT	0.007	0.000	0.015	0.020	0.000
ROME	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
T*VT	0.018	0.019	0.946	0.962	0.670
T*RPM	0.249	0.001	1.000	1.000	0.039
VT*RPM	0.554	0.119	1.000	1.000	0.537
T*VT*RPM	0.965	0.983	1.000	1.000	1.000

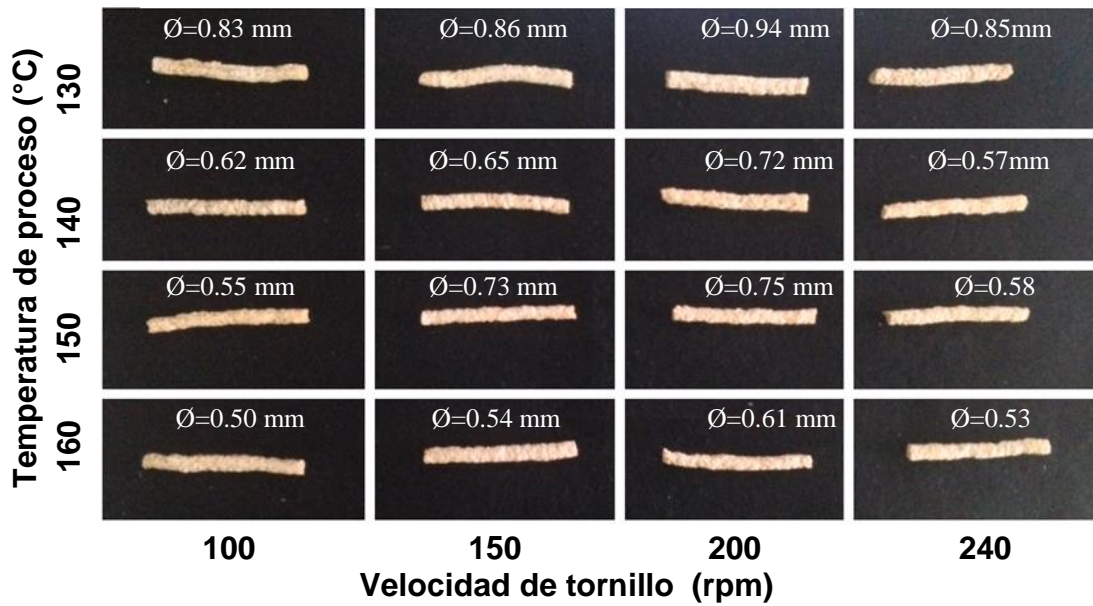
Nota: T = Temperatura; VT = Velocidad de tornillo; RPM = Relación de harinas de papa/maíz. T\*VT, T\*RPM, VT\*RPM, T\*VT\*RPM = Interacción de cada uno de los factores. Valores  $p \leq 0,05$  indican un efecto significativo de los factores sobre las variables de respuesta.

Note: T = Temperature; VS = Screw speed; RPM = Ratio potato/corn flour. T \* VT, T \* RPM, RPM VT \*, T \* VT \* RPM = Interaction of each factors.  $p \leq 0.05$  values indicate a significant effect of factors on the response variables



**Figura 1.** Efecto de la temperatura de extrusión (°C) y la velocidad de tornillo (rpm) sobre el índice de expansión de botanas extrudidas expandidas elaboradas con diferentes formulaciones de harinas de calamar, papa y maíz: A) RPM 10/50; B) RPM 30/30; C) RPM 50/10. Las barras indican la desviación estándar de 10 muestras.

**Figure 1.** Effect of extrusion temperature (°C) and screw speed (rpm) on the expansion rate of expanded extruded snacks made with different formulations of squid, potato and corn flour: A) RPC 10/50; B) RPC 30/30; C) RPC 50/10. Bars indicate the standard deviation of 10 samples.



**Figura 2.** Las fotografías muestran el efecto de la temperatura de extrusión (°C) y la velocidad de tornillo (rpm) sobre el diámetro de botanas extrudidas expandidas elaboradas con la formulación de harinas 40% calamar+ 50% papa + 10% maíz (RPM = 50/10).

**Figure 2.** Photographs showing the effect of extrusion temperature (°C) and screw speed (rpm) on the diameter of expanded extruded snacks made with formulation squid = 40% + potato = 50% + corn = 10% flour (RPC = 50/10).



Sin embargo, en este trabajo de investigación al incrementar la VT hasta 240 rpm la expansión se redujo, debido posiblemente a los altos esfuerzos de cizalla y altas presiones generadas durante la extrusión, lo que produce un colapso estructural del material alimenticio y una reducción del índice de expansión de las muestras (Rueda, Kil-Chang, & Martínez-Bustos, 2004). Un comportamiento similar fue reportado por Murphy et al. (2003), al extrudir una mezcla compuesta de 40% harina de cangrejo + 40% harina de maíz + 20% harina de papa, obteniendo un IE de 1,6 y 1,3 para VT de 150 y 250 rpm, respectivamente. También, se puede observar que al incrementar la temperatura de extrusión (TE) en el dado de salida del extrusor se afectó el IE de las BEE en la mayoría de los tratamientos (Figura 1). En algunos reportes se ha encontrado que existe un incremento del IE en las BEE conforme aumenta la temperatura en el rango 130 a 150°C, sin embargo, a temperaturas superiores a 150°C se presenta un efecto negativo de la TE sobre el IE de las BEE (Camire, 1998; Choudhury et al., 2014).

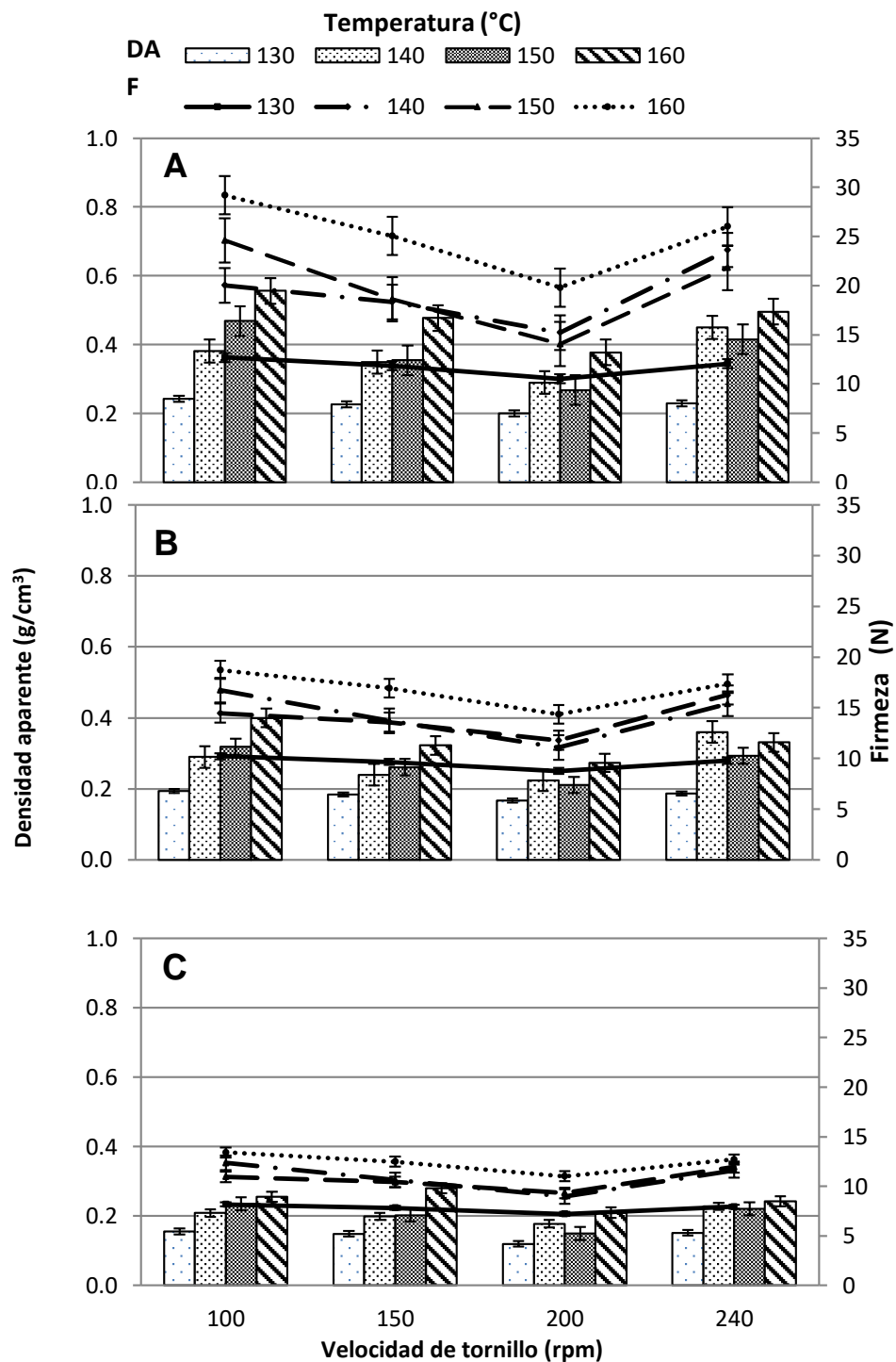
### **6.5.2. Densidad Aparente (DA)**

El análisis estadístico para DA no mostró diferencia estadística significativa ( $p > 0,5$ ) para las interacciones VT\*RPM y T\*VT\*RPM; pero si ( $p \leq 0,5$ ) para los factores temperatura, velocidad de tornillo, RPM, temperatura\*velocidad de tornillo y temperatura\*relación harina papa/maíz (Tabla 2). Se ha reportado que la DA es inversamente proporcional al IE y que esta respuesta es afectada por la formulación de ingredientes, la temperatura y velocidad de tornillo del extrusor (Anderson et al., 1970; Chevanan, Rosentrater, & Muthukumarappan, 2007; Choudhury & Gautam, 2003). Como se puede observar en la Figura 3, los resultados obtenidos en este trabajo de investigación concuerdan con lo anteriormente reportado. Los extrudidos obtenidos a partir de la formulación con RPM 50/10 fueron los que presentaron los menores valores de DA debido a la mayor proporción de almidón de papa que almidón de maíz (Figura 2). Esto pudiera explicarse por el mayor contenido de amilosa en esta formulación (Salinas-Moreno et al., 2003). Como lo señalan diversos estudios, la DA disminuye al incrementar el contenido de amilosa (Gogoi et al.,

1996; Hernández-Medina et al., 2008); el almidón de papa posee mayores cantidades de este componente que el almidón de maíz. En el caso de la TE y la VT se presentó un efecto inverso sobre la DA de las BEE respecto al IE, como se explicó anteriormente.

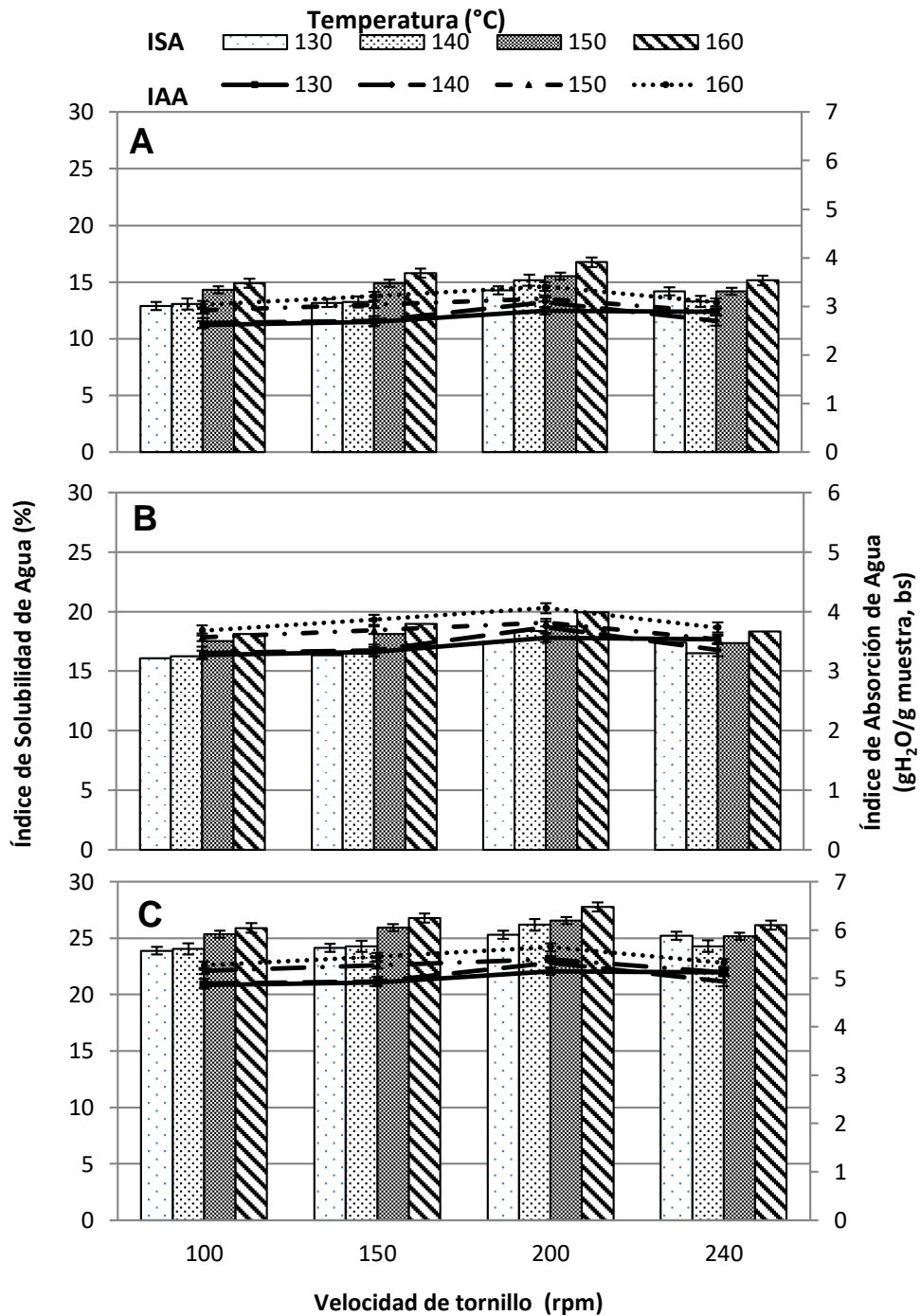
### **6.5.3. Firmeza (F)**

Los valores de firmeza no mostraron diferencia estadística significativa ( $p > 0,5$ ) para las interacciones T\*VT, VT\*RPM y T\*VT\*RPM; pero si ( $p \leq 0,5$ ) para los factores temperatura, velocidad de tornillo, RPM y temperatura\*mezcla (Tabla 2). Se considera una textura deseable cuando los valores de firmeza se encuentran entre 15 y 25 N según Maskus y Arntfield (2015), para botanas elaboradas con harina de maíz de aceptación comercial. Los valores de firmeza de las BEE variaron de 7,2 a 29,2 N (Figura 3) y fueron inversamente proporcional a los valores de IE, similar a lo ocurrido con DA. Los valores más pequeños de firmeza se obtuvieron en la BEE elaborada con la RPM 50/ 10 en la mezcla de ingredientes alimentados al extrusor [40% de harina de calamar y 60% de la mezcla HP/HM, humedad 15%]. La menor firmeza (7,22 N) obtenida con esta RPM (50/10) se alcanzó con  $T = 130^{\circ}\text{C}$  y  $VT = 200$  rpm. Esto podría explicarse un menor esfuerzo a la penetración por una mayor cantidad de poros con aire formados en la BEE, los cuales presentan una menor resistencia al esfuerzo de penetración (Hernández-Díaz, Quintero-Ramos, Barnard, & Balandran-Quintana, 2007). Los valores de firmeza obtenidos para las BEE elaboradas con la RPM 50/10 pudieran compararse con la textura de una BEE elaborada comercialmente a partir de almidón de maíz la cual presentó una firmeza de 8,8 N (Noorakmar et al., 2012).



**Figura 3.** Efecto de la temperatura de extrusión (°C) y la velocidad de tornillo (rpm) sobre la densidad aparente (DA) y la firmeza (F) de botanas extrudidas expandidas elaboradas con diferentes formulaciones de harinas de calamar, papa y maíz: A) RPM 10/50; B) RPM 30/30; C) RPM 50/10. Las barras indican la desviación estándar de 5 y 100 muestras respectivamente.

**Figure 3.** Effect of extrusion temperature (°C) and screw speed (rpm) on the bulk density (DA) and firmness (F) of expanded extruded snacks made with different formulations of squid, potato and corn flour: A) RPC 10/50; B) RPC 30/30; C) RPC 50/10. Bars indicate the standard deviation of 5 and 100 samples respectively.



**Figura 4.** Efecto de la temperatura de extrusión (°C) y la velocidad de tornillo (rpm) sobre el índice de absorción de agua (ISA = %) e índice de solubilidad en agua (IAA = g H<sub>2</sub>O/g muestra) de botanas extrudidas expandidas elaboradas con diferentes formulaciones de harinas de calamar, papa y maíz: A) RPM 10/50; B) RPM 30/30; C) RPM 50/10. Las barras indican la desviación estándar de 3 muestras.

**Figure 4.** Effect of extrusion temperature (°C) and screw speed (rpm) on the of water absorption index (ISA = %) and water solubility index (IAA = g H<sub>2</sub>O/g sample) of expanded extruded snacks made with different formulations of squid, potato and corn flour: A) RPC 10/50; B) RPC 30/30; C) RPC 50/10. Bars indicate the standard deviation of 3 samples.

#### 6.5.4. Índice de Solubilidad (ISA) y de Absorción en Agua (IAA)

Para las variables ISA e IAA el análisis estadístico mostró diferencia estadística significativa ( $p \leq 0,05$ ) para los factores temperatura, velocidad de tornillo y relación harina papa/maíz. Mientras que las interacciones T\*VT, T\*RPM, VT\*RPM y T\*VT\*RPM no presentan diferencia estadística significativa ( $p > 0,5$ ) (Tabla 2). El ISA e IAA son indicadores del nivel de daño ocurrido en el almidón del alimento durante el procesamiento por extrusión (Hernández-Díaz et al., 2007). Los valores de ISA e IAA para las BEE elaboradas a partir de mezclas compuestas de harinas de calamar, papa y maíz variaron en el rango 13,1–27,7% y 2,7– 5,6 g H<sub>2</sub>O/g muestra, respectivamente (Figura 4). Los valores más altos de estos parámetros para las BEE se obtuvieron para la mezcla con RPM 50/10. Este comportamiento puede deberse a la mayor proporción de almidón de papa en la mezcla.

Diversos estudios han reportado que el almidón de papa está compuesto de amilopectina con una estructura altamente ramificada con un mayor número de sitios activos que le permiten mayor solubilidad (Cheng, Tsai, & Tseng, 1996; Chevanan et al., 2007). Allen, Carpenter, and Walsh (2007) señalaron que la amilopectina tiene mayor capacidad de absorción de agua con respecto a la amilosa, de tal manera que almidones con alto contenido de este biopolímero presentan mayor IAA, como lo observado en este estudio. Los valores más altos de ISA = 27,76% y IAA = 5,64 g de H<sub>2</sub>O/g de muestra, obtenidos con la mezcla con RPM 50/10 se presentaron a TE=160°C y VT=200 rpm. Similar comportamiento fue reportado por Noorakmar et al. (2012), durante la extrusión de una formulación a base de tilapia:tapioca:papa, donde al incrementar el contenido de papa relación papa/tapioca de 50/50 a 72/25 se incrementó el ISA e IAA (Noorakmar et al., 2012).

En el caso del efecto de la TE y velocidad de tornillo (100 a 200 rpm) sobre ISA e IAA de las BEE (Figura4) se presentó un incremento similar al de IE por efectos ya explicados con anterioridad; mientras que la velocidad de tornillo de 240 rpm redujo estas variables. Esto último, posiblemente se relaciona con la poca permanencia de la formulación en el

extrusor, lo que podría reducir la modificación del almidón y capacidad de absorción de agua (Escalante-Aburto et al., 2014). La Figura 2 muestra las BEE de calamar obtenidas con las mejores características fisicoquímicas, al utilizar harina de calamar (40%) y mezclas de harina de papa/maíz en proporción 5/1.

#### **6.5.5. Digestibilidad de Proteínas *in vitro* (DPIV)**

En consideración a los resultados de las mejores características físicas de los extrudidos, se analizó el DPIV en las botanas elaboradas con la RPM 50/10 a  $T = 130^{\circ}\text{C}$  encontrando valores de 93.1, 92.8, 93.4 y 94.4% para las muestras a  $VT = 100, 150, 200$  y  $240$ , respectivamente. Estos resultados superan el rango de DPIV reportado para maíz (90.3%), papa (89.0%) y pescado (85%) (Cardellá-Rosales et al., 2007), lo cual indica que la combinación entre la proporción calamar/papa/maíz y las condiciones del proceso de extrusión pudieran cambiar la configuración de las macromoléculas, mejorar sus interacciones y la biodisponibilidad (Anderson, 1982; Rueda et al., 2004).

### **6.6. Conclusiones**

La inclusión de diferentes niveles de harina de papa y harina de maíz en la formulación a extrudir a base de calamar y el efecto de las variables del proceso de extrusión (temperatura y velocidad de tornillo) permitió la elaboración de productos expandidos listos para su consumo con buenas propiedades fisicoquímicas de competencia comercial. En las botanas extrudidas expandidas (BEE) se logró incluir 40% de proteína, lo cual mejora su valor nutricional. La BEE con las mejores características fisicoquímicas fue obtenida al utilizar en la mezcla a extrudir 40% de calamar, 50% de harina de papa y 10% de harina de maíz. Para fortalecer los resultados de esta investigación, se sugiere realizar

estudios sensoriales con la muestra natural, con saborizantes y su estabilidad durante de mercadeo.

#### 6.7. Declaración de Divulgación

No existe ningún conflicto de interés reportado por parte de los autores.

ORCID MD Muy-Rangel <http://orcid.org/0000-0002-6971-535X>

#### 6.8. Referencias

- Allen, K., Carpenter, C., & Walsh, M. (2007). Influence of protein level and starch type on an extrusion-expanded whey product. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 953–960. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01316.x
- Anderson, R. (1982). Water absorption and solubility and amylograph characteristics on roll-cooked small grain products. *Cereal Chemistry*, 59, 265–269. doi:10.2307/962593
- Anderson, R., Conway, H., Pfeifer, V., & Griffin, E. (1970). Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today*, 14, 4–12. doi:10.1002/star.19700220408
- AOAC. (1999). *Official methods of analysis* (15th ed.). Washington, DC: Association of Official Agricultural Chemists.
- Bazzino-Ferreri, G. (2014). Length-weight relationships and condition factors of the humboldt squid (*Dosidicus gigas*) from the Gulf of California and the Pacific Ocean. *Journal of Shellfish Research*, 33, 769–780. doi:10.2983/035.033.0311
- Camacho-Hernández, I., Zazueta-Morales, J., Gallegos-Infante, J., Aguilar-Palazuelos, E., Rocha-Guzmán, N., Navarro-Cortez, N., & Gómez-Aldapa, C. (2014). Effect of extrusion conditions on physicochemical characteristics and anthocyanin content

- of blue corn third-generation snacks. *CyTA – Journal of Food*, 12, 320–330. doi:10.1080/19476337.2013.861517
- Camire, M. (1998). Chemical changes during extrusion cooking: Recent advances. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 434, 109–121. doi:10.1007/978-1-4899-1925-0\_11
- Cardellá-Rosales, L., Hernández-Fernández, R., Upmann-Ponce de León, C., Vicedo-Tomey, A., Sierra-Figueroa, S., Rubio-Bernal, E., & Fernández-Regalado, E. (2007). *Bioquímica humana*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.
- Cheng, Y., Tsai, M., & Tseng, K. (1996). Effect of amylose content on the rheological property of rice starch. *Cereal Chemistry*, 73, 415–420.
- Chevanan, N., Rosentrater, K., & Muthukumarappan, K. (2007). Twin screw extrusion processing of feed blends containing distillers dried grains with solubles (DDGS). *Cereal Chemistry*, 84, 428–436. doi:10.1094/CCHEM-84-5-0428
- Choudhury, G., & Gautam, A. (2003). Hydrolyzed fish muscle as a modifier of rice flour extrudate characteristics. *Journal of Food Science*, 68, 1713–1721. doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb12318.x
- Choudhury, H., Chakraborty, R., & Chaudhuri, U. (2014). Thermal and microstructural property of extruded snack: An overview. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 4, 9–18.
- Clayton, J., & Miscourides, D. (1992). Extruder texturized foods from underutilized fish tissue. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 3, 65–89. doi:10.1300/J030v01n03\_06
- CONAPESCA. (2015). *Anuario estadístico de pesca*. México: Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA).
- Cortez-Netto, J., Campagnoli-De Oliveira, P., Lapa-Guimarães, J., & Villegas, M. (2014). Physicochemical and sensory characteristics of snack made with minced Nile tilapia. *Food Science and Technology*, 34, 591–596. doi:10.1590/1678-457X.6395
- Delgado-Nieblas, C., Zazueta-Morales, J., Gallegos-Infante, J., AguilarPalazuelos, E., Camacho-Hernández, I., Ordorica-Falomir, C., ... Carrillo-López, A. (2015). Elaboration of functional snack foods using raw materials rich in carotenoids and dietary fiber: Effects of extrusion processing. *CyTA – Journal of Food*, 13, 69–79. doi:10.1080/19476337.2014.915892
- Escalante-Aburto, B., Ramírez-Wong, A., Torres-Chávez, P., López-Cervantes, J., Figueroa-Cárdenas, J., Barrón-Hoyos, J., ... Gutiérrez-Dorado, R. (2014).



- Obtaining ready-to-eat blue corn expanded snacks with anthocyanins using an extrusion process and response surface methodology. *Molecules*, 19, 21066–21084. doi:10.3390/molecules191221066
- Gogoi, B., Oswalt, A., & Choudhury, G. (1996). Reverse screw element(s) and feed composition effects during twin-screw extrusion of rice flour and fish muscle blends. *Journal of Food Science*, 61, 590–595. doi:10.1111/j.1365-2621.1996.tb13165.x
- Harper, J., & Clark, J.P. (1979). Food extrusion. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 11, 155–215. doi:10.1080/10408397909527262
- Hernández-Díaz, J., Quintero-Ramos, A., Barnard, J., & Balandran-Quintana, R. (2007). Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Science and Technology*, 13, 301–330. doi:10.1177/1082013207082463
- Hernández-Medina, M., Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L., & BetancurAncona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Food Science and Technology*, 28, 718–726. doi:10.1590/S0101-20612008000300031
- Iwe, M., Zuilichen, D., & Ngoddy, P. (2001). Extrusion cooking of blends of soy flour and sweet potato flour on specific mechanical energy (SME), extrudate temperature and torque. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25, 251–266. doi:10.1111/j.1745-4549.2001.tb00459.x
- Lo, T., Moreira, R., & Castell-Perez, M. (1998). Effect of operating conditions on melt rheological characteristics during twin-screw food extrusion. *Transactions of the ASAE*, 41, 1721–1728. doi:10.13031/2013.17315
- Luna-Raya, M., Aragón-Noriega, E., & Salinas-Zavala, C. (2009). Análisis del consumo de calamar gigante en el noroeste de México. *Región y Sociedad*, 21, 145–157.
- Maskus, H., & Arntfield, S. (2015). Extrusion processing and evaluation of an expanded, puffed pea snack product. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 5, 378–383. doi:10.4172/2155-9600.1000378 4
- Montgomery, D. (2009). *Diseño y análisis de experimentos*. D.F., México: Limusa-Wiley.
- Murphy, M., Skonberg, D., Camire, M., Dougherty, M., Bayer, R., & Briggs, J. (2003). Chemical composition and physical properties of extruded snacks containing crab-processing by-product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1163–1167. doi:10.1002/jsfa.1520
- Noorakmar, A., Cheow, C., Norizzah, R., Mohd-Zahid, A., & Ruzaina, I. (2012). Effect of orange sweet potato (*Ipomoea batatas*) flour on the physical properties of fried extruded fish cracker. *International Food Research Journal*, 19(2), 657–664.

- Oke, M., Awonorin, S., & Workneh, T. (2013). Expansion ratio of extruded water yam (*Dioscorea alata*) starches using a single screw extruder. *African Journal of Agricultural Research*, 8, 750–762.
- Rathod, R., & Annapure, U. (2016). Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *Food Science and Technology*, 66, 114–123. doi:10.1016/j.lwt.2015.10.028.
- Rodríguez-Miranda, J., Ramírez-Wong, B., Vivar-Vera, M., Solís-Soto, A., Gómez-Aldapa, C., Castro-Rosas, J., ... Delgado-Licon, E. (2014). Effect of bean flour concentration (*Phaseolus vulgaris*), moisture content and extrusion temperature on the functional properties of aqua feeds. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13, 649–666.
- Rueda, J., Kil-Chang, Y., & Martínez-Bustos, F. (2004). Functional characteristics of texturized defatted soy flour. *Agrociencia*, 38, 63 –73. doi:10.1111/j.1541-4337.2007.00025.x
- Salinas-Moreno, Y., Pérez-Herrera, P., Castillo-Merino, J., & Álvarez-Rivas, L. (2003). Amylose: Amylopectin ratio in starch of nixtamalized maize flour and its relationship with tortilla quality. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26, 115–121.
- Silva-Dávila, R., Avendaño-Ibarra, R., & Franco-Gordo, M. (2013). Calamares y pulpos de la costa sur de Jalisco y Colima. In M.A. Franco-Gordo (Ed.). *Inventario de biodiversidad de la costa sur de Jalisco y Colima* (pp. 43–56). Autlán de Navarro: Universidad de Guadalajara.
- Wianecki, M. (2007). Evaluation of fish and squid meat applicability for snack food manufacture by indirect extrusion cooking. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6, 29 –44.

**7. RELATIONSHIPS BETWEEN PHYSICAL AND MORPHOMETRICAL PROPERTIES AND THE TEXTURE OF AN EXTRUSION-EXPANDED SNACK MADE FROM SQUID (*Dosidicus gigas*)**

JL Valenzuela-Lagarda<sup>1</sup>, García-Armenta E<sup>2</sup>, Pacheco-Aguilar R<sup>3</sup>, Gutiérrez-Dorado R<sup>2</sup>, Mazorra-Manzano MA<sup>3</sup>, ME Lugo-Sánchez<sup>3</sup> y MD Muy-Rangel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Culiacán. Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Hermosillo. Hermosillo, Sonora, México

**Corresponding author:** Dra. María Dolores Muy-Rangel. E-mail: [mdmuy@ciad.mx](mailto:mdmuy@ciad.mx)

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Unidad Culiacán, Carretera a El Dorado Km. 5,5. Campo El Diez, 80110, Culiacán, Sinaloa, México

Artículo enviado a la revista: *Journal of Texture Studies*. Online ISSN: 1745-4603

## 7.1. Abstract

The giant squid (*Dosidicus gigas*) is one of the species of most commercial interest due to its source of protein, and it possesses potential to develop ready-to-eat food products, including expanded by extrusion snacks (EES). The EES's are prepared primarily from starch, however, adding animal protein allows it to increase its nutritious contents. Adding proteins requires the study of the conditions for the process of extrusion and its interaction with other ingredients to obtain an extruded product with the appropriate physical and chemical characteristics. The objective of this study was to evaluate the effect of the protein-carbohydrate interaction and the physical properties and the morphological parameters of an extrusion-expanded snack, elaborated with squid and potato-corn flour. The Independent variable was the squid's content (0, 20, 40, 60, 80, 100 %). The expansion index, (IE) of the sample is significantly minor ( $p < 0.5$ ) when the squid content increases IE= 2,0, 1,8 1,4 to 40, 60 y 80%, respectively. In the samples with more protein contents, the crispness and crunchiness were reduced, whereas firmness increased. With Digital Imaging analysis it was observed that the interaction protein-starch allows significant morphometric changes from the fractal dimension (2.665-2.739) and lacunarity (0.61-1.29). The obtained results show that it is possible to incorporate up to 60% of squid to prepare extrusion-expanded snacks, with texture properties and morphometric characteristics that suggest competition with on-the-market snacks.

## 7.2. Resumen

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es una de las especies de mayor interés comercial como fuente de proteína, y posee potencial para el desarrollo de productos alimenticios listos para comer, incluyendo botanas expandidas por extrusión (BEE). Las BEE se preparan principalmente a partir de almidón; Sin embargo, la adición de proteína animal permite aumentar su valor nutricional. La incorporación de proteínas requiere el estudio de las condiciones del proceso de extrusión y su interacción con los otros ingredientes para conseguir un producto extruido con características fisicoquímicas adecuadas. El

objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la interacción proteína-carbohidrato sobre las propiedades físicas y parámetros morfométricos de una botana expandida por extrusión elaborado con calamar-harina de maíz-harina maíz. La variable independiente fue el contenido de calamar (0<sub>1</sub>, 0<sub>2</sub>, 40, 60, 80, 100 %). El índice de expansión (IE) de las muestras es significativamente menor ( $p < 0.5$ ), cuando se incrementa el contenido de calamar, IE= 2,0, 1,8 1,4 para 40, 60 y 80%, respectivamente. En las muestras con mayor contenido de proteína los valores de crispness y crunchiness se redujo, mientras que la firmeza se incrementó. Mediante el análisis de imagen digital se observó que la interacción proteína-almidón propicia cambios morfométricos significativos en la dimensión fractal (2.665-2.739) y lagunaridad (0.61-1.29). Los resultados obtenidos demuestran que es posible incorporar hasta un 60% de calamar para la elaboración de botanas expandidas por extrusión con propiedades de textura y características morfométricos que sugieren ser competitivas con las botanas comerciales

### 7.3. Introduction

The giant squid (*Dosidicus gigas*) is an endemic species from the western pacific, distributed from California (40 °N) all the way until south Chile (45 °S) with the densest population on the coasts of Peru and the Gulf of California (Bazzino-Ferreri, 2009). The world production of the different species of squid during 2016 was 2'189,206 t, of which the *Dosidicus gigas* took the third place with 406,356 t (FAO, 2015). In Mexico, the giant squid reached a production of 38,300 t and it took sixth place in fishing products volume on 2015 (CONAPESCA, 2015); where more than 90% was destined to consumptions as a fresh catch and the rest in canned goods y dehydrated. (Luna-Raya et al., 2006). Recently, it was being evaluated to incorporate muscle of fishing species in extruded products, finding that it is necessary the incorporation of starch sources to obtain extrusion-expanded snacks (BEE) with animal protein that show acceptable physical properties and commercially competitive (Ratankumar et al., 2014; Ali et al., 2016; Valenzuela-Lagarda et al., 2016). The process of extrusion combines high pressures, high

temperatures and shear strength (Harper & Clark, 1979), causing that the soon-to-be extruded mix experiences changes in its physical and chemical properties (Delgado-Nieblas et al., 2015), micro-structural (Bdour et al., 2014) y nutrimental (Wu et al., 2015), with effect that can either be positive or negative in the quality of products (Harper & Clark, 1979; Bdour et al., 2014). One of the main indicators of acceptance of extruded food on the behalf of the consumer is the characteristics of texture named *crispness* and *crunchiness*. Said attributes are associated to the applied mechanical force to compress the ingredients until its fracture into small pieces (Tunick et al., 2013). Also, *crispness* has been defined as the emission of a clean, fast, acute sound that is evaluated with the incisive teeth and open lips, whereas *crunchiness* as a series of sounds with less intensity, accompanied by small *events* that happen with closed mouth, and in the molars. (Chauvin et al., 2008). Both parameters are dependent of the interactions of the polymers of the matrix and the capability for expansion (during its preparation or compression) (Albert et al., 2009, Duizer, 2012).

Multiple studies of extruded elaborated from wheat-corn show values within the ranges of 93.2-157.4 N y 74.06-442.06 N in *firmness* and *crispness*, respectively, where *crispness* was directly proportional to temperature, due to the fact that high temperature favors interactions between fibers and starch, allowing higher fragility of the food. (Oliveira et al., 2017).

Studies conducted in expanded snacks prepared from rye found that crunchiness increases with decreasing humidity and the size of the pore (Saeleaw et al., 2012). Because the texture properties depend on the microstructure of the food, it is important to know the behavior of the components of the food in the study as a function of the process, humidity and combinations of other bio-polymers. Conducted studies on extruded from tilapia-potato-tapioca reported higher dimensions in pores when the content of tilapia in the sample was less than the contents of potato. Furthermore, a higher potato content caused thicker walls in the cavities (Noorakmar et al., 2012).

In order to grasp a better understanding of the physical changes that favor the texture of the extruded, it is considered to be important to complement the microstructural study with quantitative analysis of the irregularity and distribution of the pores in the extruded expanded snacks. The quantification of the microstructural changes of the foods has to include morphometric parameters as fractal dimensions ( $D_f$ ) closely related to the lacunarity parameter ( $L_g$ ), characterizing these changes in irregular patterns that form within the structure of the foods with digital imaging analysis (ADI) (García-Armenta, et al., 2014; Chanona-Pérez et al., 2009), as reported on dehydrated apples (Chanona et al., 2008; Santacruz-Vázquez et al., 2008), fried bits of wheat (Santacruz-Vázquez et al., 2011), dehydrated strawberry (Morales-Delgado, 2014) y and particles in the nectar of the apples (Benítez et al., 2016). With ADI, it has been achieved the effect of the drying process over the irregularity and distribution of Surface roughness related to the visual quality of a model carbohydrate-based product (Morales-Delgado et al., 2014; García-Armenta et al., 2016a); A long processing time (300 min) causes more irregular surfaces to appear ( $F_d=2.3703$ ) compared to shorter times (150 min,  $F_d=2.1666$ ), and the analysis of the images can be used as a reference of the quality of the product or process (Chanona et al., 2008).

In the same way, during the strawberry convection dry (*Fragaria x ananassa Dutch*) in the morphometric changes of the cells of the mesocarp, it was observed higher regularity ( $<D_f$ ) on the outline of the cells to higher drying temperatures ( $D_f = 1.62$  y  $1.58$  a  $60^\circ\text{C}$  y  $90^\circ\text{C}$ ) (Morales-Delgado et al., 2014). Both papers show that  $D_f$  results depend on the material of study and the process. With the purpose of understanding the effect the possible interactions between the animal protein and the carbohydrates about the physical characteristics of extruded products, it was studied the inclusion of squid over the texture *crunchiness*, *crispness* and the microstructural fix of extrusion-expanded snacks.

## 7.4. Materials y methods

### 7.4.1 Materials

The giant squid's skin (*Dosidicus gigas*) frozen and the potato chips (*Solanum tuberosum*) were bought at a local supermarket in the city of Culiacan, Sinaloa, and they were kept at

-18°C until used. The corn (*Zea mays* L.) on the cob used was Pioneer 3015W, obtained from a seed store in the city of Culiacan, Sinaloa.

#### **7.4.2. Sample Preparation**

The squid's skin was defrosted and washed. All of the interiors were removed, as well as the outer layers. Posteriorly, it was cut into  $1 \text{ cm}^3 \pm 0.2$  cubes and dehydrated by convection at 65°C/18 h (condition obtained according to preliminary studies, data not shown) on a stove, model 2 ZECD NSF (Excalibur Dehydrators, Sacramento, CA, USA). The dehydrated squid, the corn and the chips were grinded in a hammer mill MD01 (Marca JERSA, México D.F., México) and, after that, a smaller grinded was used by a table mill Mill LM3100 (Perten Instrument, Stockholm, Sweden) net 40. The formulas were prepared, dehydrated squid (C), potato flour (P) y corn flour (M).

The potato/corn relation (RPM) maintained its 5:1 (p/p), and the squid proportion varied 40, 60, 80 y 100%; 0<sub>1</sub>, 0<sub>2</sub> correspond to 100% potato y 100% corn, respectively. Each formulation was supplied with distilled water until 15% humidity was achieved before the process. The humidified mixes were packed in polystyrene bags and stored (4°C/8h), before the extrusion, they were put to room temperature (25°C/1 h).

#### **7.4.3. Elaboration of the Extrusion-Expanded Snacks**

For the elaboration of the expanded, extruded snacks, a lab extruder was used (20-CW-DN Brabender Instruments, Inc., South Hackensack, NJ, USA) equipped with a 19 mm screw; with length 20:1; compression 3:1 y and 3 mm diameter (Gutiérrez-Dorado et al., 2008). The extruder's barrel is composed of three heating zones, and they were adjusted to constant temperature 95, 110, y 130°C, respectively, to a speed of 200 rpm. The sample was fed to a mass flux of 30–40 g/min. The extruded products were exposed to ambient conditions (25°C, HR=65%) and were stored in polystyrene bags until used. (Valenzuela-Lagarda et al., 2016)



#### 7.4.4 Expansion Rate (ER)

For its evaluation, five pieces of extruded were cut 5cm of length each of them for the treatment. Each piece was measured in diameter using a digital calibrator STW-1116–150 (Weston, Monterrey, Nuevo León, México). The measurements were taken three times. Results were calculated by the relation of the diameter of the sample ( $D_s$ ) with respect to the diameter of the extruder ( $D_e$ ) (3 mm) using equation 1 (Dileep et al., 2010):

$$EI = \frac{D_s}{D_e} \quad (1)$$

#### 7.4.5. Apparent Density (AD)

5 pieces of extruded were cut 5 cm of length for each treatment. The weight of each sample was evaluated on an analytical scale AX224 (Sartorius, Goettingen, Germany) and the diameter was measured in each piece with a digital calibrator STW-1116–150 (Weston, Monterrey, Nuevo León, México). The analyses were taken three times. The density of the sample was calculated in  $\text{g/cm}^3$ , according to the equation (2) (Sha et al., 2016).

$$AD = \frac{\text{Sample Weight}}{\pi \left(\frac{\text{Sample diameter}}{2}\right)^2 \text{Sample length}} \quad (2)$$

#### 7.4.6 Texture Parameters

For each treatment, 60 samples of  $5.0 \pm 0.1$  cm in length were used. The firmness data were obtained using a texture analyzer LS1 (AMETEK, Berwyn, Pennsylvania, United States) linked to the NEXIGEN PLUS 4.0 software. A 50 mm graduated cylinder was used, at a speed of 10 mm/s to compress the samples in a transversal fashion at a 90%. Firmness was taken into account as the resistance of the sample to compression, measured in Newton (N). The Crispness was determined as the longitude of the force-deformity curve; crunchiness, was calculated as the work used during the test, and crispness work ( $W_c$ ), was determined by the quotient of crunchiness multiplied by the total number of peaks.

Starting at the force-deformity curve, the number of peaks was calculated  $n$ , the integer of the  $S$  curve (or area below the curve at 100% of the tension) and the distance of

compression were calculated with (equation 3) the parameters from  $n$ ,  $S$  y  $d$  (Van Hecke et al., 1998)

$$W_c = \frac{F_{cr}}{N_{sr}} = \frac{S}{\frac{d}{n}} (N * mm) \quad (3)$$

Where:  $N_{sr}$  is the number of space,  $F_{cr}$  is the grinding force and  $W_c$  clarity work.

#### **7.4.7. Acquisition of Images with ESEM**

Morphology of the samples was analyzed in an electronic microscope with environmental scanning (ESEM), model EVO LS 10 (Carl Zeiss, Berlín, Germany). The dry samples and without previous treatment were mounted on slides with the help of carbon, double sided tape. The samples were cut transversally, thus the analysis corresponds to interior morphology. Observation was done at extended pressure conditions using water vapor in the microscope's chamber at 10 Pa. A Secondary electron detector was used alongside a voltage acceleration at 8 kV (García-Armenta et al., 2016a).

#### **7.4.8. Digital Imaging Analysis (ADI)**

The images captured with the ESES were processed using the ImageJ v.1.50d software (National Institutes of Health, USA), making the fractal analysis by *boxcounting* method through the plugin FracLac Box-Counting.

For picture processing, the original picture (609 x 734 pixels) was cut into 12 smaller size pictures (203 x 184 pixels) with the sole purpose of improve the statistical treatment of the parameters of  $D_f$  y  $L_g$ . Posteriorly, an automatic brightness adjustment and contrast in an 8-bit format, using scales of gray. Finally, we proceeded to use the FracLac plugin for the calculation of said morphological parameters.

Differences in gray intensity in the structure of the snack the ADI included the generation of graphics of Surface in 3D utilizing plugin 3D Surface Plot for ImageJ, in which the following conditions were applied: size of the (256 pixels), scale (10), isolation level (3.5), perspective (0.09) y luminosity (0.21). Finally, the level of intensity of gray was calculated

for each location of the pixel in the picture in the of the surface of the snack. (García-Armenta et al., 2016a)

#### 7.4.9. Fractal Dimension ( $D_f$ ) and Lacunarity ( $L_g$ )

Fractal dimension of texture was calculated with the method reported by García-Armenta et al. (2016a), which utilizes *boxcounting* method. It is approximately the pendant log-log of the relation between the size of the box ( $r$ ) and the difference in intensity of the level of gray ( $I$ ) with equation 4.

$$D_f = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log I(r)}{\left(\frac{1}{r}\right)} \quad (4)$$

Moreover, lacunarity of surface images obtained by calculating the standard deviation ( $\sigma$ ) and average ( $\eta$ ) intensity gray level of pixels in each box in a given box size any orientation ( $g$ ) (equation 5) (García-Armenta et al., 2016b).

$$L_g = \left(\frac{\sigma}{\eta}\right)_{r,g}^2 \quad (5)$$

#### 7.4.10. Statistical Analysis

A single-factor experiment was used  $F_1$ : % of squid inclusion ( $F_1 = 0_1, 0_2, 40, 60, 80, 100\%$  squid) with three repetitions per treatment. The response variables analyzed were: expansion rate (ER), apparent density (AD), firmness (F), crispiness, crunchiness, fractal dimension (FD) and lacunarity. When the analysis of variance was significant ( $p < 0.05$ ), A comparison of means using the Tukey test ( $\alpha = 0.05$ ) was performed. The statistical package MINITAB version 17 was used (Montgomery, 2009).

### 7.5. Results and discussion

#### 7.5.1. Expansion Rate (ER)

The percent of squid inclusion had a significant effect ( $p < 0.05$ ) over the expansion index (Table 1), with a reduction from 2.0 to 1.4 as the percentage of inclusion increase. In contrast, potato and corn samples showed  $ER = 3.5$  and  $2.8$  respectively. Increasing the

protein proportion of squid protein in the matrix promotes the interaction between proteins and reduce the interaction protein-starch (Onwulata et al., 2001). This reduces the formation of starch-protein three-dimensional networks which have a greater capacity to retain the water vapor that is generated during the extrusion process, preventing the formation of porous structures associated with ER (Harper 1979). Mulye and Zofair (2015), reported an equal behavior when they studied the effect of the Croaker fish filling (*J. dussumieri*) in combination with rice flour, corn and soybeans on the physical properties of extruded expanded snacks. In that study, the fish increment (12 to 21%), reduced the values of ER from 3.4 to 3.1. These values are higher than the ones that we obtained in our study with squid, due to the low incorporation of fish that the authors evaluated. The same behavior was reported, Noorakmar et al. (2012) by incorporating red tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in the mix of Tapioca-potato flour, reporting that increasing the content of fish (30 to 40%) the expansion index gets reduced from 1.65 to 1.20. Similar results were reported by studying the combination of Malaysian fish meal (25%) with taro corns (*C. esculenta*) and broken rice (*O. sativa*, Linn) where values of ER=1.1-1.2 (De Cruz et al., 2015) were reported. These values were much lower than those obtained in our study, (ER= 1.9 y 2.0) even when a higher 60 and 40% squid content was employed, which could be attributed to the difference in starch source and protein source among the studies reported with respect to this work. The reduction of ER by increasing the percentage of protein inclusion can be attributed to the fact that the squid has mostly fibrillar type proteins, which are characterized by interacting with each other forming rigid and compact structures, which do not favor the formation of rigid structures that reduce the capacity of expansion.

**Table 1.** Effect of squid content on texture parameters of extrusion-expanded snacks made from dehydrated squid-potato maize flour.

Tr* (%)	ER	AD (gcm <sup>-2</sup> )	Hardness (N)	Crispness Peaks	Crispness	Crunchiness (Nmm)	Wc (Nmm)
0 <sub>1</sub>	**3.5±0.3 <sup>a***</sup>	0.03±0.01 <sup>e</sup>	132.9±56.9 <sup>c</sup>	48.8±9.3 <sup>a</sup>	711.2±309.7 <sup>a</sup>	613.7±252.4 <sup>a</sup>	13.5±6.9 <sup>c</sup>
0 <sub>2</sub>	2.8±0.4 <sup>b</sup>	0.04±0.01 <sup>d</sup>	114.0±43.5 <sup>d</sup>	32.2±9.4 <sup>b</sup>	509.6±143.8 <sup>b</sup>	357.7±112.2 <sup>c</sup>	13.7±13.6 <sup>c</sup>
40	2.0±0.1 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	228.6±53.9 <sup>b</sup>	16.9±7.2 <sup>c</sup>	502.7±75.2 <sup>b</sup>	520.5±105.6 <sup>b</sup>	34.9±14.5 <sup>c</sup>
60	1.9±0.1 <sup>d</sup>	0.13±0.02 <sup>b</sup>	296.5±32.5 <sup>a</sup>	6.5±3.5 <sup>d</sup>	334.8±43.73 <sup>c</sup>	539.7±93.2 <sup>b</sup>	106.3±58.9 <sup>b</sup>
80	1.4±0.2 <sup>e</sup>	0.20±0.01 <sup>a</sup>	244.6±13.0 <sup>b</sup>	3.1±1.3 <sup>d</sup>	248.7±13.17 <sup>d</sup>	360.8±33.2 <sup>c</sup>	144.9±76.7 <sup>a</sup>

IR: Expansion ratio, AD: Apparent density, Wc: Crispness work.

\* Treatments: 0<sub>1</sub>= 100% potato. 0<sub>2</sub>= 100% corn. 40, 60 y 80% Squid combined with potato:maize (5:1).

\*\* The treatments were performed in triplicate, for each of them the mean and standard deviation of 60 determinations were calculated.

\*\*\* Means within column with different letters are significantly different (p<0.05)

### 7.5.2 Apparent Density (AD)

The percentage of squid incorporation had a significant effect ( $p < 0.05$ ) on the AD with a range of 0.03 to 0.20 g • cm<sup>-3</sup> (Table 1); Where the squid content increases the AD increases, this can be attributed to the fact that the bulk density is inversely proportional to the expansion index (Jozinović et al., 2016). A similar behavior is reported by Ratankumar-Singh (2014) when assessing the effect of the incorporation of Indian major carp (*Labeo rohita*) dehydrated in rice flour and corn blends to make extruded expanded potatoes reporting AD values of 0.08 to 0.24 g / cm<sup>3</sup> when increasing the protein content in the mixture (15-25%) Extruded samples without squid (potato and corn) consist mainly of starch, which has the ability to form larger pores; by incorporating squid protein decreases the capacity of expansion because the evaporation of the water trapped in the matrix is reduced, generating smaller pores increasing therefore the bulk density. For commercial extruded snacks, Maskus and Arntfield (2015) reported values of AD between

0.18 and 0.39 g • cm<sup>-3</sup>; greater results to those found in snack products prepared in this study, however snack foods made from squid showed good expandability even with the addition of up to 60% of this mollusk

### 7.5.3. Texture Parameters

The incorporation of squid has a significant effect on the firmness ( $p < 0.05$ ) of the extruders (Table 1, Figure 1), where higher firmness values (277.3 N) can be observed in mixtures with 60% squid. It is important to mention that extruders with 40 and 80 % of squid presented a lower firmness, this could be as a result of the incorporation of the 60% of squid that could provide the amount of protein suitable for the synergism of the protein-starch interactions to be carried out in such a way that by increasing the squid content to 80% the adhesion existing in the structure of the product is smaller, thus producing a lower breaking strength, similarly to the use of 100% squid the structural adhesion is minimal, thus preventing the formation of the pellet. It is possible to observe (Table 1) an inverse relationship between ER and AD, because more expanded materials possess a larger quantity and pore size, smaller thickness and require less force for their rupture. This is in agreement with the results obtained in extruded products based on tilapia-tapioca-potato, which showed more firmness and, lower expansion rates when increasing the quantity of fish (Noorakmar et al., 2012).

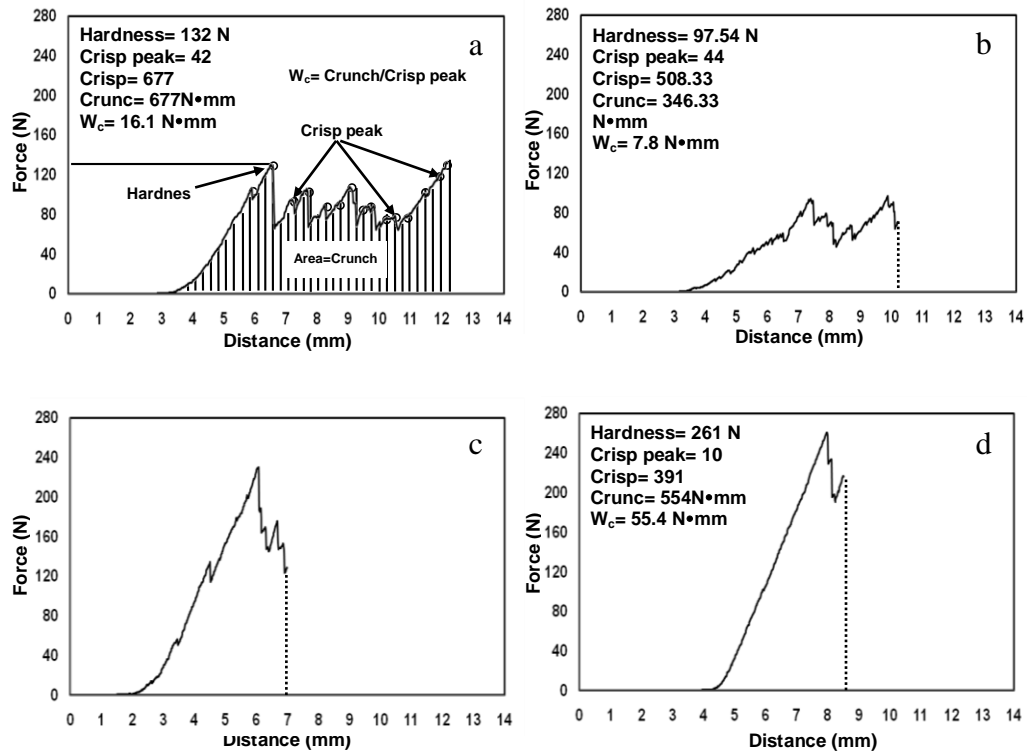
Figure 1 shows the most representative compression-strain (mm) force curves (mm) of the extruders with 100% potato, 100% corn, 40 and 60% squid. In Figure 1a, the firmness corresponds to the maximum force before reaching structural collapse; Crunchiness is related to the sum of the forces generated during compression (area under the curve) and crispness as the length of the graph line. The crispness peak are the individual forces necessary for the compression of one or a set of cavities in the sample structure while the crispness work is the ratio of the area of the deformation curve and the crispness peak, which represents the average work required to fracture a cell or a group of cells simultaneously (Cheng et al., 2007).

The value of crispiness and crunchiness (Table 1), were significantly reduced by increasing the squid content (0% = 711.2 and 613.7 N • mm and 100% = 248.2 and 360.8

N • mm). Such a reduction could be due to the fact that the substitution of the squid protein for the starch generates the formation of structures of greater rigidity and resistance in the food, so that the force produced by the water vapor generated is not able to form cavities in the food matrix; Therefore, it is recommended to incorporate starch, which because of its branched conformation is able to retain more water and allows the formation of porous structures thus improving the expansion (Noorakmar et al., 2012; Murphy et al., 2003; Maskus & Arntfield, 2015).

The values of crispiness y crunchiness Were significantly higher in the sample with 100% potato in contrast to the rest of the samples, and with 100% corn. This may be due to the fact that the type of starch in the potato has a higher ratio of amylopectin / amylose to corn (Gogoi et al., 1996) as well as a higher solubility in water, allowing a better expansion, this behavior can be attributed to the fact that the amylopectin has a branched structure allowing it to form a more open matrix with respect to the amylose that is linear (a similar shape to the fibrillary proteins of the squid), thus producing more rigid structures with smaller values of texture Negative (Oliveira et al., 2017).

Significant reduction in the values of crispness and crispness peaks by increasing the squid content (Table 1 and Figure 1c, d) could be related to a lower protein starch interaction that manifests in a smaller area under the curve; Not so for samples 100% potato and corn with large pore structures, thin walls, compression length and number of peaks. Similar behavior has been reported in extruding modified starch with different inclusion levels of soy protein (0, 6, 12 and 18%), where protein incorporation reduces the values of crispness (Oliveira et al., 2017). Similarly, in mixtures of corn with protein sources (amaranth, quinoa and kaniwa) it was reported that protein increase of 20 to 50% reduced the sensory values of crispness (9 to 8) and crunchiness (7 to 6) (Ramos-Diaz et al. 2015). Similarly, when extruding mixtures of sorghum-corn and different proteins (whey, soybeans and legumes) in two proportions (1: 6 and 5: 2), it was found that the incorporation of protein reduces the values of crispness and that Is related to a smaller pore size of the extrude (Devi et al., 2011).



**Figure 1.** Compressive force–deformation curve of extrudate processed with: a) 100% Potato, b) 100% Corn, c) 40% Squit, d) 60% Squit. Crisp peak= crispness peak; Crisp: crispness; Crunc: crunchiness;  $W_c$ : crispness work.

#### 7.5.4. Microstructure Analysis

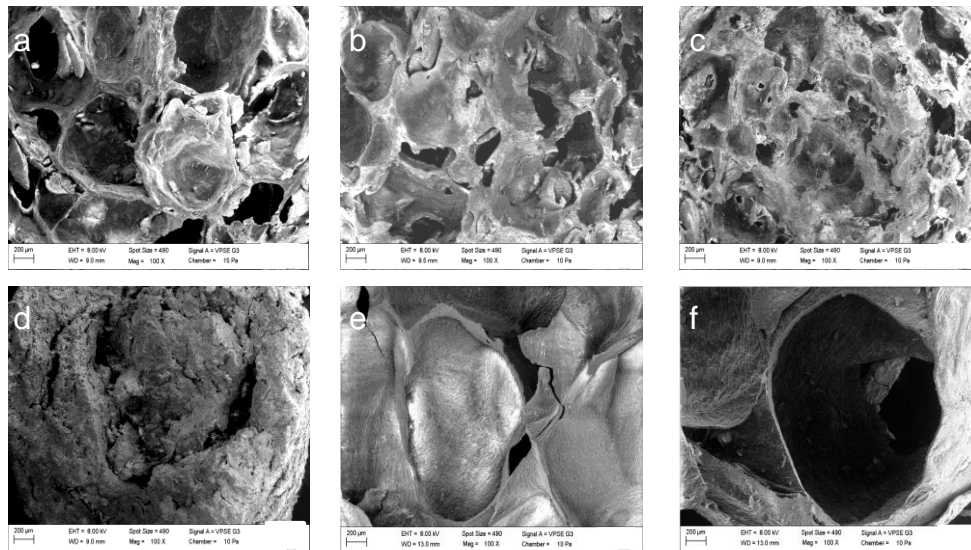
In Figure 2a, b, c; the microstructure of cross-sections of snacks made with different levels of inclusion of squid (40, 60 and 80%) are shown with a pore diameter of 600, 450, 200 microns and greater thickness of the pore walls, respectively. In Figure 1e, f, g; Corresponding to squid, potato and corn in 100%, it is observed that the squid sample did not generate porous structures due to the protein composition (myofibrillar) with reduced



expansion capacity (Faubion and Hosoney 1982); While with potato and corn, pores of  $\varnothing = 1100$  and  $1600 \mu\text{m}$  are observed, attributed to the capacity of the starch to generate three-dimensional networks that allow trapping the water vapor generated during heating and maintain the pore structure at the end of the extrusion process (Moraru and Kokini, 2003). Similar behavior was observed in a tapioca-potato extrudate with 30 and 40% tilapia, where increasing the fish content increased wall thickness and decreased pore ( $\varnothing = 400$  and  $\leq 250 \mu\text{m}$ ) (Noorakmar et al. Al., 2012). In this study, using 40 and 60% squid, it was found that the pore decreased with increasing protein content ( $\varnothing = 600$  and  $450$  microns) which could be the result of increasing the protein content of the protein-interaction is encouraged generating more compact structures that are reflected in morphology of smaller pores with thicker walls. The synergism of the squid in protein-carbohydrate interactions shows promising results (at no higher concentrations than 60% of squid) with structural characteristics comparable to those made with reduced amounts of animal protein (15% of Silver Carp,  $\varnothing = 500 \mu\text{m}$ , pore) (Shahmohammadi et al., 2014). In this sense, it is possible to incorporate up to 60% of squid for the elaboration of expanded snacks with morphometric properties of texture, crunchiness and crispness competitive with the products that are currently on the market.

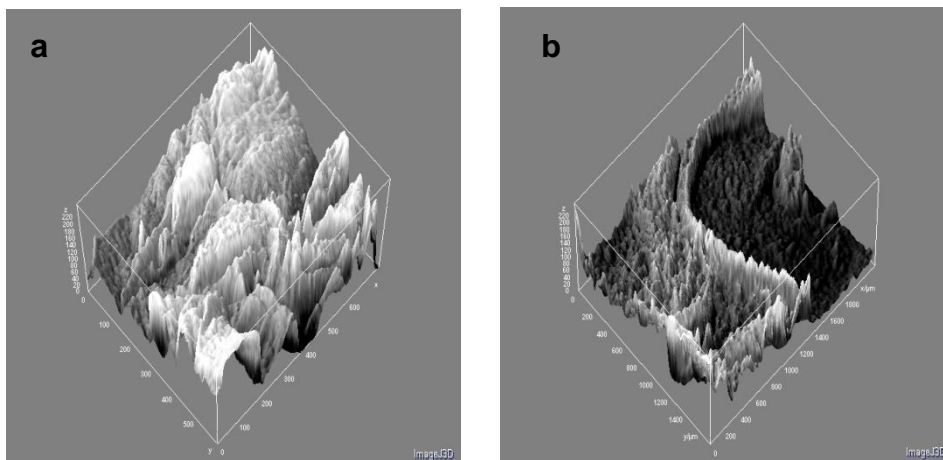
#### **7.5.5. Morphometric Changes**

In Figures 3 and 4, the 3D charts are presented in scales of gray generated from the micrographics from figure 2, which illustrate areas with clearer tones, which indicate empty cavities ‘pores’ in the internal structure of the product, whereas the darker tones are associated with more compact structures (Chanona et al., 2003). In this sense, the snacks with 100% potato (Figure 3a) show a bigger Surface of White tones, which is related to a lower apparent density and a higher expansion index (Table 1). The change of color from white to black is achieved by incorporating squid to the extruded snacks. (Figure 4).

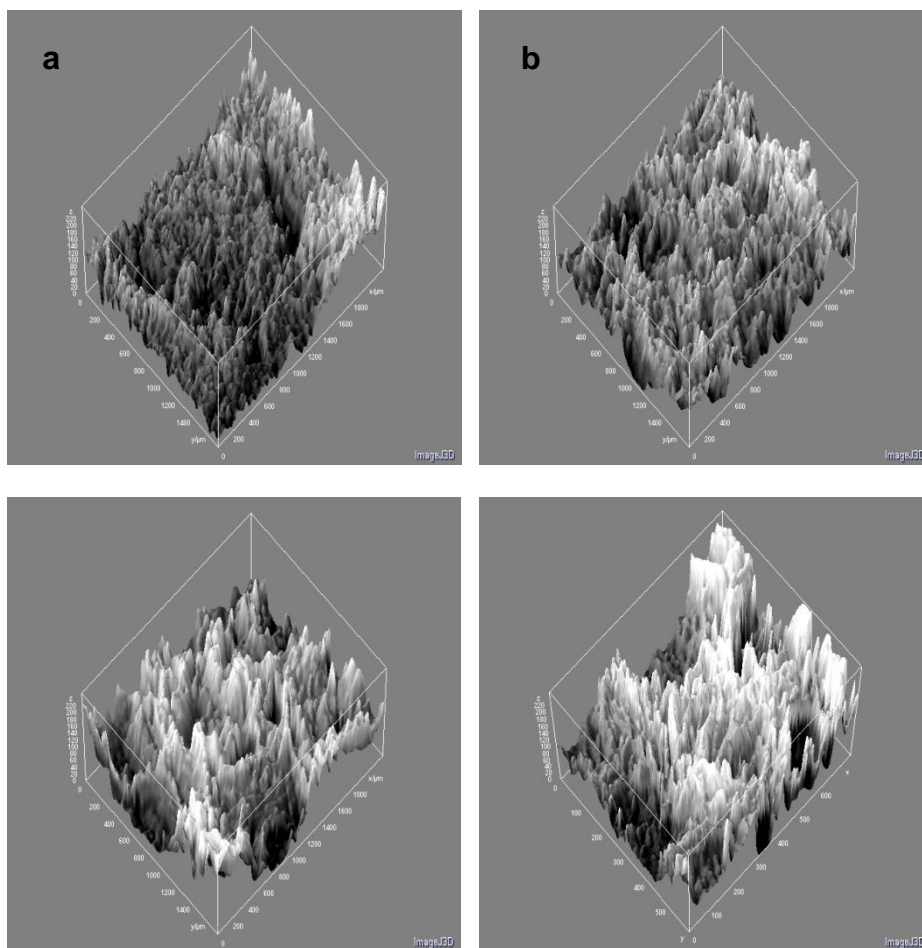


**Figure 2.** Micrographs of the effect of the inclusion of squid meal on the structural changes of the extruded snacks; A) 40, b) 60%, c) 80%, d) 100% squid, e) 100% potato, f) 100% corn.

The percentage of inclusion of squid showed a positive effect ( $p < 0.05$ ) of the fractal dimension and lacunarity. (Table 2). The higher fractal dimension was observed in the samples 100% corn and 100% squid which is related to surface graphics and a higher contrast in the black and white tones. (Figures 2a y 3a) and the highest irregularity in the size, shape and proportion of the cavities in the structures of the snacks (picture 1e,d), which can be attributed to the composition of these ingredients, where corn is rich in amilose and protein, and squid is high on protein, components with lineal molecular structures that generate dense, compact structures. Similar behavior was reported in fried snacks, where the increase of the volume of the samples was due to the temperature, increasing the values of fractal dimension values (Mohammadi-Moghaddam., 2015). The snacks made from 60% squid showed less values of fractal dimension, which is related to a less irregular structure with a smoother surface.



**Figure 3.** 3D surface graphs of the texture of snacks made with: a) 100% potato, b) 100% corn.



**Figure 4.** 3D surface graphs of the texture of snacks made with: a) 100, b) 80, c) 60, d) 40% squid.

**Table 2.** Effect of the squid content on the morphometric parameters of fractal dimension and lacunarity.

<b>Treatment (%)</b>	<b>Composition</b>	<b>Fractal dimension</b>	<b>Lacunarity</b>
0 <sub>1</sub>	Potato (100%)	*2.699 <sup>b**</sup> ± 0.030	0.129 ± 0.075 <sup>a</sup>
0 <sub>2</sub>	Corn (100%)	2.732 <sup>a</sup> ± 0.024	0.115 ± 0.116 <sup>a</sup>
40%	Squid (40)+Potato-corn***	2.694 <sup>b</sup> ± 0.024	0.129 ± 0.052 <sup>a</sup>
60%	Squid (60)+Potato-corn	2.665 <sup>c</sup> ± 0.022	0.141 ± 0.044 <sup>a</sup>
80%	Squid (80)+Potato-corn	2.710 <sup>b</sup> ± 0.025	0.075 ± 0.019 <sup>b</sup>
100%	Squid (100)	2.739 <sup>a</sup> ± 0.025	0.061 ± 0.025 <sup>b</sup>

\* Average and corresponding standard deviation of 36 replicates. \*\* Different letters in the same column indicate significant differences (p < 0.05). \*\*\* For each sample the relation maize potato was 5: 1.

Lacunarity is a parameter of the fractal patterns that describe the symmetry of a picture and it refers to a measurement of the distribution of the array of irregularities described by the parameter of the fractal dimension (García-Armenta et al., 2016a). Fractal dimension analysis has been used to evaluate the effect of the dehydration process in the structural changes of carrots and potatoes, concluding that the fractal dimension could be employed as an indicator of quality in the structure of foods that have been dried with similar or minor values compared to a witness sample. (Kerdpi boon et al., 2006).

Squid samples 0<sub>1</sub>, 0<sub>2</sub> y 40-60%, did not show a relevant difference in the values of lacunarity (Table 2), possibly, due to the fact that the contents of starch was enough to form structures able to retain the water steam, generate heterogeneous pores, because of the interaction starch-protein, for this sample 60-40%. Whereas to a higher inclusion of squid, lacunarity reduces significantly, a phenomenon that does not favor the expansion of the extruded (Table 1).

Results indicate that elaboration of an expanded snack with 60% squid produces structures with empty spaces of heterogeneous distribution with a minor structural collapse when applied a force (smaller values of crispness), of a higher firmness and crunchiness.

## 7.6. Conclusions

The digital analysis showed that the content of protein is determinant in the irregularity and heterogeneity of the microstructural array of the extruded-expanded snacks, which is directly related to the parameters of texture such as firmness, crispness and crunchiness. The achieved results in this study show that it is possible to incorporate up to 60% squid to the preparation of the extrusion expanded snacks with properties of texture and morphometric characteristics that suggest to be competitive with on-the-market snacks, allowing an added protein increase of 63% dry base, which generates a product of a higher nutritious content, characteristic that is highly relevant considering the acceptance of this type of product on the market.

## 7.7. Disclosure Statement

There is no conflict of interest reported by the authors.

ORCID MD Muy-Rangel <http://orcid.org/0000-0002-6971-535X>

## 7.7. References

- Albert, A., Varela, P., Salvador, A., Fiszman, S.M. (2009). Improvement of crunchiness of battered fish nuggets. *European Food Research Technology*, 228, 923–930.
- Ali, H.A., Mansour E.H., Osheba A.S., & ElBedawey A.E.A. (2016) Evaluation of Extruded Products Prepared from Corn Grits – Corn Starch with Common Carp Fish. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*, 3(5), 102-108.
- Bazzino-Ferreri, G. (2014). Length-weight relationships and condition factors of the humboldt squid (*Dosidicus gigas*) from the Gulf of California and the Pacific Ocean. *Journal of Shellfish Research*, 33, 769–780. doi:10.2983/035.033.0311.

- Bdour, M.A., Al-Rabadi, G.J., Al-Ameiri, N.S., Mahadeen A.Y., & Aaludatt M.H. (2014). Microscopic analysis of extruded and pelleted barley and sorghum grains. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7(3), 227-231.
- Benítez, E.I., Lozano, J.E., & Genovese D.B. (2010). Fractal dimension and mechanism of aggregation of apple juice particles. *Food Science and Technology International*, 16, 179-186.
- Chanona, J.J., Alamilla, B.L., Farrera, R.F., Quevedo, R., Aguilera, J.M. & Gutiérrez., L.G. (2003). Description of the convective air drying of a food model by means of the fractal theory. *Food Science and Technology International*, 9(3), 201-207.
- Chanona, P.J.J., Alamilla, B. L. Farrera, R.R., Quevedo, R., Aguilera, J. M., & Gutiérrez L.G.F. (2008). Description of the convective air-drying of a food model by means of the fractal theory. *Food Science and Technology International*, 9, 207.
- Chanona-Pérez, J., Quevedo, R., Jiménez-Aparicio, A.R., Gumeta-Chávez, C., Mendoza-Pérez, J.A., Calderón-Domínguez, G., Alamilla-Beltrán, L. & Gutiérrez-López, G.F. (2009). Image processing methods and fractal analysis for quantitative evaluation of size, shape, structure and microstructure in food materials. En G. Gutiérrez, G. Barbosa, J. Welti y E. Parada (Eds.), *Food Engineering, Integrated Approaches* (pp. 255-264). Springer, Nueva York.
- Chauvin, M.A., Younce, F., Ross, C., & Swanson, B. (2008). Standard scales for crispness, crackliness and crunchiness in dry and wet foods: relationship with acoustical determinations. *Journal of Texture Studies*, 39, 345–368.
- Cheng, E.M., Alavi, S., Pearson, T., & Agbisit, R. (2007). Mechanical–acoustic and sensory evaluations of corn starch–whey protein isolate extrudates. *Journal of Texture Studies*, 38, 473–498.
- CONAPESCA. (2015). Anuario estadístico de pesca. México: Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. (CONAPESCA).
- De Cruz, C.R., Kamarudin, M.S., Saad, C.R., & Ramezani-Fard, E. (2015). Effects of extruder die temperature on the physical properties of extruded fish pellets containing taro and broken rice starch. *Animal Feed Science and Technology*, 199, 137-145.
- Delgado-Nieblas, C., Zazueta-Morales, J., Gallegos-Infante, J., AguilarPalazuelos, E., Camacho-Hernández, I., Ordorica-Falomir, C., ... Carrillo-López, A. (2015). Exlaboration of functional snack foods using 485 raw materials rich in carotenoids and dietary fiber: Effects of extrusion processing. *CyTA – Journal of Food*, 13, 69 –79.
- Devi, N. L., Shobha, S., Tang, X., Shaur, S. A., Dogan, H., & Alavi, S. (2010). Development of protein-rich sorghum-based expanded snacks using extrusion technology. *International Journal of Food Properties*, 16, 263-276.

- Dileep, A.O., Shamasundar, B.A., Binsi, P.K., & Howell, N.K. (2010). composition and quality of rice flour–fish mince based extruded products with emphasis and thermal properties of rice flour. *Journal of Texture Studies*, 41(2), 190–207
- Duizer, L. (2012). A review of acoustic research for studying the sensory perception of crisp, crunchy and crackly textures. *Trends in Food Science & Technology*, 12, 17–24
- Faubion, J.M., Hosney, R.C. (1982). High-temperature short-time extrusion cooking of wheat starch and flour. II. Effect of protein and lipid on extrudate properties. *Cereal Chemistry*, 59,6, 533-537.
- García-Armenta, E., Téllez-Medina, D.I., Alamilla-Beltrán, L., Arana-Errasquín, R., Hernández-Sánchez, H. & Gutiérrez-López, G.F. (2014). Multifractal breakage patterns of thick maltodextrin agglomerates. *Powder Technology*, 266, 440-446.
- García-Armenta, E., Téllez-Medina, D.I., Alamilla-Beltrán, L., Hernández-Sánchez, H. y Gutiérrez-López, G.F. (2016a). Morphometric analysis of transverse surface of fractured maltodextrin agglomerates. *International Journal of Food Properties*, 19, 2451-2462.
- García-Armenta, E., Téllez-Medina, D.I., Sánchez-Segura, L., Alamilla-Beltrán, L., Hernández-Sánchez, H. y Gutiérrez-López, G.F. (2016b). Multifractal breakage pattern of tortilla chips as related to moisture content. *Journal of Food Engineering*. 168, 96-104.
- Gogoi, B., Oswalt, A., & Choudhury, G. (1996). Reverse screw element(s) and feed composition effects during twin-screw extrusion of rice flour and fish muscle blends. *Journal of Food Science*, 61, 590–595.
- Gutiérrez-Dorado, R, Ayala-Rodríguez, AE, Milán-Carrillo, J, López-Cervantes, J, Garzón-Tiznado, JA, López-Valenzuela, JA, Paredes-López, O, & Reyes-Moreno, C. 2008. Technological and nutritional properties of flours and tortillas from nixtamalized and extruded quality protein maize (*Zea mays* L.). *Cereal Chemistry*, 85(6), 808-816.
- Harper, J., & Clark, J.P. (1979). Food extrusion. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 11, 155–215.
- Jozinović, A., Šubarić, D., Ačkar, D., Babić, J., Planinić, M., Pavoković, M., Blažić, M. (2012). Effect of screw configuration, moisture content and particle size of corn grits on properties of extrudates. *Croatian Journal of Food Science Technology*, 4(2), 95-101.
- Kerdpi boon, S., Kerr W.L., Devahastin, S. (2006). Neural network prediction of physical property changes of dried carrot as a function of fractal dimension and moisture content. *Food Research International*, 39, 1110-1118.

- Luna-Raya, M., Aragón-Noriega, E., & Salinas-Zavala, C. (2009). Análisis del consumo de calamar gigante en el noroeste de México. *Región y Sociedad*, 21, 145-157.
- Maskus, H., & Arntfield, S. (2015). Extrusion processing and evaluation of an expanded, puffed pea snack product. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 5, 378–383.
- Mohammadi-Moghaddam., T., Bahram-Parvar., M., & Razavi, S.A.M. (2015). Effect of frying temperature and time on image characterizations of pellet snacks. *Journal of Food Science Technology*, 52(5), 2958–2965.
- Morales-Delgado, D.Y., Téllez-Medina, D.I., Rivero-Ramírez, N.L., Arellano-Cárdenas, S., López-Cortez, S., Hernández-Sánchez, H., Gutiérrez-López, G., & Cornejo-Mazón, M. (2014). effect of convective drying on total anthocyanin content, antioxidant activity and cell morphometric parameters of strawberry parenchymal tissue (*Fragaria x ananassa* Dutch). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(1), 179-187.
- Moraru, C.I., Kokini, J.L. (2003). Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3, 147-165.
- Mulye, V.B., & Zofair, S.M. (2015). Utilization of croaker (*Johnius dussumieri*) to develop ready to eat puff snack product using extrusion technology. *Food Science Research Journal*, 6(2), 184-191.
- Murphy, M., Skonberg, D., Camire, M., Dougherty, M., Bayer, R., & Briggs, J. (2003). Chemical composition and physical properties of extruded snacks containing crab-processing by-product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1163–1167.
- Noorakmar, A., Cheow, C., Norizzah, R., Mohd-Zahid, A., & Ruzaina, I. (2012). Effect of orange sweet potato (*Ipomoea batatas*) flour on the physical properties of fried extruded fish cracker. *International Food Research Journal*, 19(2), 657–664.
- Oliveira, L.C., Schmiele, M., Steel, C.J. (2017). Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. *Food Science and Technology*, 75, 261-270.
- Onwulata, C.I., Isobe, S., Tomasula, P.M., & Cooke P.H. (2006). Properties of Whey Protein Isolates Extruded under Acidic and Alkaline Conditions. *Journal of Dairy Science*, 89, 71–81.
- Ramos-Díaz J.M, Suuronen J.P., Deegan K.C., Serimaa R., Tuorila H, Jouppila K. (2015). Physical and sensory characteristics of corn-based extruded snacks containing amaranth, quinoa and kañiwa flour. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 1047-1056.



- Ratankumar, R. K., Majumdar, R. K., & Venkateshwarlu, G. (2014). Optimum extrusion-cooking conditions for improving physical properties of fish-cereal based snacks by response surface methodology. *Journal Food Science Technology*, 51(9), 1827–1836.
- Ratankumar-Singh, R.K., Majumdar, R.K., & Venkateshwarlu, G. (2014). Optimum extrusion-cooking conditions for improving physical properties of fish-cereal based snacks by response surface methodology. *Journal of Food Science Technology*, 51(9), 1827–1836.
- Saeleaw, M., Dürschmid, K., Schleining, G. (2015). The effect of extrusion conditions on mechanical-sound and sensory evaluation of rye expanded snack. *Journal of Food Engineering*, 110, 532-540.
- Santacruz-Vázquez, C., Santacruz-Vázquez, V., & Luna-Cerón, H. (2011). Determinación de los cambios morfométricos, a partir de la dimensión fractal y su relación con los parámetros fisicoquímicos de un producto de harina de trigo en forma laminar durante el proceso de freído por inmersión. *Superficies y Vacío*, 24(4), 145-152.
- Santacruz-Vázquez, V., Santacruz-Vázquez, C., Welti-Chanes, J., Farrera-Rebollo, R.R., Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J., & Gutiérrez-López, G.F. (2008). Effects of air-drying on the shrinkage, surface temperatures and structural features of apples slabs by means of fractal analysis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7(1), 55-63.
- Shah, F.U.H, Sharif, M.K., Butt, M.S., & Shahid, S. (2016). Development of protein, dietary fiber, and micronutrient enriched extruded corn snacks. *Journal of Texture Studies*. 47(5) 1-10.
- Shahmohammadi, H.R., Bakar, J., Russly, A.R., Noranizan, M.A., & Mirhosseini, H. (2014). Puffed corn-fish snack development by extrusion technology. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(3), 748-760.
- Tunick, M.H., Onwulata, C.I., Thomas, A.E., Phillips, J.G., Mukhopadhyay, S., Sheen, S., Liu, C.K., Latona, N., Pimentel, M.R., & Cooke P.H. (2013). Critical evaluation of crispy and crunchy textures: a review. *International Journal of Food Properties*, 16, 949–963.
- Valenzuela-Lagarda, J.L, Gutiérrez-Dorado, R., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M.E., Valdez-Torres, J.B., Reyes-Moreno, C., Mazorra-Manzano M.A., & Muy-Rangel, M.D. (2016). Botanas expandidas a base de mezclas de harinas de calamar, maíz y papa: efecto de las variables del proceso sobre propiedades fisicoquímicas. *CyTA - Journal of Food*, 15, 118-124.
- Van-Hecke, E., Allaf, K., & Bouvier, J.M. (1998). Texture and structure of crispy-puffed food products. II: Mechanical properties in puncture. *Journal of Texture Studies* 29, 617–632.

Wu, M., Yi, Liu., Wang, L., & Li, D. (2015). Effects of extrusion parameters on rheological properties, chromatism, protein solubility and microstructure of flax seed-corn mixture. *International Journal Agriculture & Biology Engineering*, 8(6), 89-98.

## 8. COMPONENTES FUNCIONALES DE LA INTERACCIÓN DE PROTEÍNA DE CALAMAR Y HARINA VEGETAL DE UNA BOTANA EXPANDIDA POR EXTRUSIÓN MEDIANTE ESTUDIOS DE FTIR Y SEM.

### *Functional interaction components of protein squid and vegetable flour of an extrusion-expanded snack by FTIR and SEM studies*

*JL Valenzuela-Lagarda<sup>1</sup>, Pacheco-Aguilar R<sup>2</sup>, Gutiérrez-Dorado R<sup>3</sup>, Lizardi Mendoza J<sup>2</sup>, Valenzuela Lopez JA<sup>3</sup>, Mazorra-Manzano MA<sup>2</sup>, Muy-Rangel MD<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación Culiacán. Culiacán Sinaloa, México.

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.

**\*Corresponding author:** Dra. María Dolores Muy-Rangel. E-mail: mdmuy@ciad.mx.  
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC. Coordinación Culiacán,  
Carretera a El Dorado Km. 5,5. Campo El Diez, 80110, Culiacán, Sinaloa, México

Artículo en proceso de revisión interna

## 8.1 Resumen

Las botanas expandidas por extrusión (BEE) son alimentos de gran aceptación por el consumidor, y se encuentran elaboradas principalmente a base de maíz, trigo, papa y arroz. Con la finalidad de mejorar las características nutrimentales de este tipo de alimentos se han realizado estudios en busca de incorporar proteínas de origen marino. Debido a su alta producción, bajo precio, disponibilidad y composición nutrimental adecuada se ha propuesto la utilización de calamar para la elaboración de BEE. Estudios recientes demuestran que es factible extrudir muestras con hasta un 60% de calamar, obteniendo productos con características competitivas con las botanas del mercado, sin embargo, no se han realizado estudio de las posibles interacciones proteína-almidón responsables de estos atributos. Como objetivo se busca conocer el efecto de la inclusión de calamar y el proceso de extrusión sobre la interacción proteína-carbohidrato y digestibilidad proteica de botanas expandidas elaborados a partir de calamar-papa-maíz. Se empleó un diseño de dos factores, F<sub>1</sub>: % de inclusión de calamar (F<sub>1</sub> = 0<sub>1</sub>, 0<sub>2</sub>, 40, 60, 80, 100% Calamar) y F<sub>2</sub>: Muestra sin extrudir y extruida; con tres repeticiones por tratamiento, en donde las variables de respuesta fueron: Digestibilidad de proteína in vitro (DPIV), temperatura de fusión (T<sub>m</sub>), entalpía ( $\Delta H$ ) y cambios estructurales (FTIR). La DPIV y T<sub>m</sub> aumentan al incrementar el contenido de calamar en la muestra y con el proceso de extrusión (PE); sucediendo lo contrario con la  $\Delta H$ . El proceso de extrusión reduce los grupos amina I y amina I (1615 y 1540 cm<sup>-1</sup>) responsables de la interacción proteína-proteína, mientras que los enlaces *o*-glucosídicos (1015 cm<sup>-1</sup>) se incrementan. Con este estudio se logró obtener BEE elaboradas a partir de calamar con contenido de proteína (40-85%) y de valor biológico (DPIV>93%), se demostró que durante el proceso de extrusión se propician interacciones proteína-almidón que se ven reflejados en cambios calorimétricos y estructurales de las muestras analizadas.

Palabras clave: Calamar, extruido, interacción proteína-almidón, temperatura de fusión, FTIR, DSC.

## 8.2 Introducción

Las botanas expandidas por extrusión (BEE) son alimentos de gran aceptación por el consumidor, y se encuentran elaboradas principalmente a base de maíz, trigo, papa y arroz. De manera general las BEE son altos en carbohidratos (>20% de ingesta diaria recomendada), algunas se elaboran con aceites y presentan un reducido contenido de proteína (Rhee et al., 1999). Con la finalidad de mejorar las propiedades nutrimentales de este tipo de alimentos se ha propuesto la incorporación de productos de origen marino como fuente de proteína de alto valor biológico, considerando al calamar gigante (*Dosidicus gigas*), la cual es endémica del Pacífico Oriental y de importancia para México (FAO, 2015). En el 2106, el calamar gigante alcanzó el sexto lugar nacional en volumen de productos pesqueros (CONAPESCA, 2015); donde más del 90% se destinó al consumo en fresco como fuente de proteína de bajo costo (Luna-Raya et al., 2006). Recientemente, se ha evaluado la incorporación de músculo de especies pesqueras en productos extruidos con la necesidad de incorporar almidón, para lograr que las BEE con proteína animal presenten propiedades físicas aceptables y de competitividad comercial (Ratankumar et al., 2014; Ali et al., 2016; Valenzuela-Lagarda et al., 2016). Los productos extruidos son elaborados a partir de combinación de distintos ingredientes que conforman una matriz de carbohidratos, proteínas y agua, durante el proceso de extrusión se propician múltiples interacciones que determinan la calidad del producto final (Widjanarko et al., 2011; Navarro-Cortez et al., 2014). Las proteínas contenidas en los alimentos marinos son principalmente del tipo fibrilar las cuales, debido a su conformación “compacta”, poseen una limitada capacidad de formar estructuras tridimensionales que permitan retener el vapor de agua generado durante el proceso de extrusión (Choudhury and Gautam, 2003). En este sentido los productos elaborados a partir de proteínas de origen animal poseen valores reducidos de índice de expansión (IE) y valores mayores de densidad aparente (DA), los cuales son indicadores de calidad de los productos expandidos y determinantes en la aceptación por parte del consumidor. Con la finalidad de mejorar estas características se han realizado estudios para determinar el efecto de la combinación de proteínas de origen marino con diversos vegetales; dentro de estos estudios destaca el de Shahmohammadi et al. (2014), donde evaluaron el efecto del contenido de Silver Carp (*H. molitrix*) combinada con harina de maíz sobre el índice de expansión y el contenido de

proteína en el producto extruído, ellos encontraron que el incremento en el contenido de pescado reduce significativamente el IE. Diversos estudios han demostrado que es posible obtener botanas a base de mezclas de almidón con cangrejo (Murphy et al., 2003), pescado dorado (Cortez-Netto et al., 2014), tilapia roja (Noorakmar et al., 2012), camarón (Choudhury et al., 2014), pescado-calamar (Wianecki, 2007), sin embargo, estos productos han mostrado pobre capacidad de expansión ( $<1,5$ ), debido a las altas proporciones ( $>30\%$ ) de proteína animal (Choudhury et al., 2014; Murphy et al., 2003). Con la finalidad de estudiar las interacciones proteína-almidón que ocurren durante el proceso de extrusión se han propuesto diferentes metodologías dentro de las que se encuentran la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). La DSC ha sido ampliamente utilizada para determinar interacciones de diferentes polímeros (Sun et al., 2008), destacando las interacciones proteínas carbohidratos, debido a su influencia en la calidad sensorial de los productos extruidos. Limón-Valenzuela et al. (2017), evaluaron el efecto de concentrados de proteína de leche al mezclarlo con almidón de maíz, sobre las características microestructurales de una botana expandida de tercera generación; los autores reportan que los valores de entalpia de las muestras extruidas son menores ( $\Delta H$  0.33 y 2 J/g) con respecto a los valores de las materias primas ( $\Delta H$  entre 8.0 y 12.13 J/g), comportamiento que atribuyen al hecho de que el proceso de extrusión produce materiales degradados que requieren de menor energía para llevar a cabo sus cambios conformacionales. En este mismo sentido Teoh et al. (2001), realizaron un estudio de la influencia del tipo de matriz (harina de maíz, gluten de maíz y almidón nativo) sobre las propiedades calorimétricas de botanas expandidas por extrusión, concluyendo que el proceso de extrusión propicia la reducción de los valores de entalpia en las muestras, comportamiento que coincide con lo reportado por diversos autores (Yang et al., 2015; Li et al. 2014). Widjanarko et al. (2010) realizaron un estudio mediante FTIR de los compuestos funcionales de mezclas de aislados de proteína de soja (APS), de trigo (APT), de maíz (APM) y glucomanano de konjac (*Amorphophallus konjac*) (KGM) para la elaboración de una barra alimentaria y, se reportan que los espectros de infrarrojo muestran bandas características para cada uno de los componentes del alimento: aislamientos proteicos indicado por la presencia de bandas anchas a  $3460\text{ cm}^{-1}$  para APS,  $3432$  para APT y  $3400\text{ cm}^{-1}$  para APM; estas

bandas son para las vibraciones de los enlaces del tipo –OH; se observó que los espectros de manosa y residuos de glucosa desaparecieron, lo que significa que estos residuos de los gránulos de KGM pudieran estar interactuando con los aislados de proteínas. En este sentido, se ha reportado que la DSC y la FTIR se pueden emplear para el estudio de las interacciones proteína-almidón. Sin embargo, en la literatura son limitados los trabajos que utilizan estas herramientas para el estudio de las interacciones proteína-almidón en matrices de proteínas de origen marino-almidón sometidos al proceso de extrusión. Es por ello, que el objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la inclusión de calamar y el proceso de extrusión sobre la interacción proteína-carbohidrato y digestibilidad proteica de botanas expandidas elaborados a partir de calamar-papa-maíz.

### 8.3 Materiales y métodos

#### 8.3.1 Materiales

El manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) congelado y las hojuelas de papa (*Solanum tuberosum*) se adquirieron de un supermercado de la ciudad de Culiacán Sinaloa, y se mantuvieron a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. El maíz (*Zea mays* L.) en grano utilizado fue Pioneer variedad 3015W obtenido de un centro de acopio de granos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

#### 8.3.2. Preparación de la muestra

El manto de calamar se descongeló, lavó y se le retiró la capa visceral, capa exterior, túnica exterior e interior. Posteriormente, se cortó en cubos de  $1\text{ cm}^3 \pm 0.2$  y se deshidrató por convección a  $65^{\circ}\text{C}/18\text{ h}$  (condición obtenida según estudios preliminares, datos no mostrados) en una estufa Modelo 2 ZECD NSF (Excalibur Dehydrators, Sacramento, CA, USA). El calamar deshidratado, el maíz y las hojuelas de papa fueron triturados en un molino de martillo modelo MD01 (Marca JERSA, México D.F., México) y posteriormente se realizó un molido más fino empleando un molino de mesa Modelo Mill

LM3100 (Perten Instrument, Estocolmo, Suecia) malla 40. Se prepararon las formulaciones de calamar deshidratado (C), harina papa (P) y harina maíz (M).

La relación de harinas de papa/maíz (RPM) se mantuvo constante 5:1 (p/p), y la proporción de calamar se varió 40, 60, 80 y 100%; O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> corresponden a 100% de papa y 100% de maíz, respectivamente. Cada una de las formulaciones se acondicionó con agua destilada hasta obtener una humedad del 15% antes del proceso. Las mezclas humectadas se empacaron en bolsas de polietileno y se almacenaron (4°C/8h), antes de la extrusión se atemperaron (25°C/1 h).

### **8.3.3. Elaboración de botanas expandidas por extrusión**

Para la elaboración de las botanas extrudidas expandidas (BEE) se empleó un extrusor de laboratorio de tornillo simple Modelo 20-CW-DN (Brabender Instruments, Inc., South Hackensack, NJ, USA) equipado con un tornillo de 19 mm de diámetro; longitud a diámetro 20:1; relación de compresión nominal 3:1 y dado de salida de 3 mm de diámetro (Gutiérrez-Dorado et al., 2008). El barril del extrusor está compuesto de tres zonas de calentamiento, y se ajustaron a temperatura constante 95, 110, y 130°C, respectivamente, a una velocidad de tornillo de 200 rpm. La muestra fue alimentada a un flujo de masa de 30–40 g/min. Los productos extrudidos se equilibraron a condiciones ambientales (25°C, HR=65%) y se guardaron en bolsas de polietileno hasta su uso (Valenzuela-Lagarda et al., 2016).

### **8.3.4 Análisis proximal y contenido de minerales.**

La determinación de humedad, cenizas, proteína (N x 6.25), fibra dietaria (Megazyme), lípidos y carbohidratos (por diferencia) en las muestras se realizó según las metodologías de la AOAC (1999). El contenido de minerales (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Zn<sup>++</sup>, Cu<sup>++</sup>,



Fe<sup>++</sup> y Mn<sup>++</sup>) se determinó por absorción atómica en un espectrofotómetro modelo 200 40FS (Agilent, California, USA) y el fósforo (P<sup>+++</sup>) en un espectrofotómetro UV-visible modelo 6705 UV/VIS (Jenway, Staffordshire, UK) (AOAC, 1999).

### 8.3.5 Porcentaje de digestibilidad de la proteína in vitro (PDPV)

Se pesaron 100 mg de muestra seca y desgrasada, se incubó con 20 ml de HCl 0.1 N y 1.5 mg de pepsina a 37°C/3 h. La mezcla se neutralizó con 10 ml de NaOH 0.2 N, se añadió 40 mg de pancreatina en 7.5 ml de buffer fosfato (pH = 8) y se incubó a 37°C/24 h; posteriormente, se añadió 700 ml de ácido tricloroacético 80% y se centrifugó 10 min a 3215 x g. Al sedimento se le adicionó 30 ml de H<sub>2</sub>O destilada, se filtró y deshidrató a 45°C/24h. Al residuo deshidratado y a la muestra inicial se le determinó el contenido de proteínas (micro Kjeldahl). El PDPV se calculó según ecuación 1 (Rathod & Annapure, 2016).

$$PDPV = \frac{\text{Proteína de la muestra} - \text{proteína en el residuo}}{\text{Proteína de la muestra}} * 100 \quad (1)$$

### 8.3.6. Propiedades calorimétricas

Se determinaron las propiedades térmicas de la diferente mezcla previa al proceso de extrusión (sin extrudir) y después del proceso de extrusión (extruido). Para lo cual se siguió la metodología citada por Zeng et al (2011), empleando un calorímetro de diferencial de barrido (DSC, de TA Instruments Waters, New Castle, EE.UU.), equipado con una estación de datos de análisis térmico. Una muestra seca (2.5±0.1 mg) de las diferentes harinas se cargó en una charola de aluminio capacidad 40 µl más 4 µL de agua destilada mediante; las charolas con la muestras se sellaron herméticamente. El analizador de DSC se calibró usando indio (In<sup>+3</sup>), después de haber sido utilizado con un recipiente de aluminio vacío como referencia. Las charolas con las muestras se calentaron a una velocidad de 10°C/min desde 20 a 250°C. El termograma se construyó desde la temperatura de inicio hasta alcanzar los 250°C, en el cual se determinó la temperatura de

fusión ( $T_m$ ) y la entalpía ( $\Delta H$ ) calculada sobre una base de peso seco de harina y se reportó en J/g.

### **8.3.7. Análisis estructural por FTIR**

El estudio conformacional se realizó de las mezclas previo al proceso de extrusión (sin extrudir) y después del proceso de extrusión (extruido) siguiendo la metodología propuesta por Widjanarko et al. (2010). Para el análisis, se utilizó el espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier modelo FTIR 8400 S (Shimadzu, Kioto, Japón). Las muestras (0.01 g) se homogeneizaron con 0.01 g de KBr anhidro mediante un mortero. Las mezclas se prensaron mediante vacío hidráulico (Graseby Specac) a 1.2 psi para obtener el pellet de transparencia. La luz infrarroja atravesó la muestra, de esta manera se generó una onda continuada a través de un detector conectado a la computadora, generando así el espectro de la muestra. Las muestras se analizaron en el área de absorción de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Los resultados del análisis consistieron en la estructura química, la forma de unión molecular y grupos funcionales correspondientes a la estructura de la muestra.

### **8.3.8 Análisis estadístico**

El estudio se realizó bajo un diseño completamente al azar con dos factores,  $F_1$ : % de inclusión de calamar ( $F_1 = 0_1, 0_2, 40, 60, 80, 100\%$  calamar) y  $F_2$ : muestra sin extrudir y extruida; con tres repeticiones por tratamiento. Las variables de respuesta analizadas fueron: Digestibilidad de proteína in vitro, temperatura de fusión, entalpía y cambios estructurales. Para ambos casos, cuando el análisis de varianza resultó significativo ( $p < 0.05$ ), se realizó una comparación de medias aplicando la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Se utilizó el paquete estadístico MINITAB versión 17 (Montgomery, 2009).

## 8.4. Resultados y discusión

### 8.4.1 Análisis proximal

La incorporación de calamar gigante permitió obtener botanas expandidas por extrusión con propiedades físicas aceptables ( $IE=1.9$  y  $DA=0.13$  g/cm<sup>3</sup>) con contenido de proteína de hasta 62.8% cuando se emplea mezclas con 60% de calamar, valores contrastantes con el contenido de proteína de las botanas elaboradas con papa (17.2 %) y maíz (16.5 %) (Tabla 1). El incremento en el contenido de proteína se debe al aumento del contenido de calamar, cuya composición es mayoritariamente proteína (Valenzuela-Lagarda et al., 2016). Las botanas elaboradas con papa y maíz, presentaron estadísticamente igual ( $p \geq 0.05$ ) los mayores contenidos de carbohidratos 65.8 y 66.2% respectivamente, lo cual puede atribuirse a la composición similar entre la harina de papa y harina de maíz (Sandhu et al., 2005). Valores similares fueron reportados por Onwulata et al. (2001), en botanas expandidas por extrusión elaboradas a partir de harina de papa y harina de maíz.

### 8.4.2. Digestibilidad de proteína in vitro (PDPV)

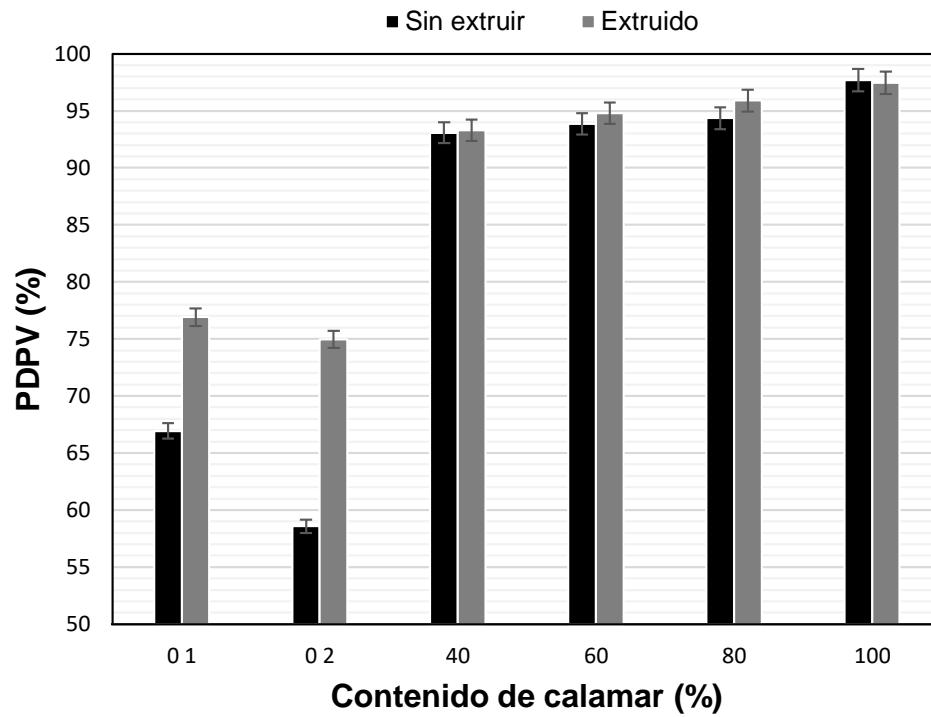
La incorporación de calamar presentó un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre PDPV tanto en las muestras sin extrudir y las extruidas (Figura 1), donde valores mayores de PDPV (97.68) pueden observarse en las mezclas con 100% de calamar, esto se debe a la mayor digestibilidad de las proteínas del calamar en comparación con la matriz proteína-carbohidrato. En la Figura 1, se observa que el proceso de extrusión incrementó significativamente ( $p > 0.05$ ) la PDPV de las muestras con 100% de papa y 100% de maíz, sin embargo, al incorporar calamar a la mezcla el incremento no fue significativo. Este comportamiento puede atribuirse a que las muestras vegetales poseen en su composición diferentes componentes antinutricionales que durante el proceso de extrusión son eliminados y se potencializa su PDPV (Colonna et al., 1989; Singh et al., 2007). En el caso de las muestras que contienen calamar, sus proteínas del tipo fibrilar no interactúan con ningún tipo de factor antinutricional, por lo que sus valores de PDPV son excelentes antes y después del proceso de extrusión.

**Tabla 1.** Contenido proximal y de minerales (% base seca) para las botanas expandidas por extrusión con diferentes niveles de inclusión de calamar.

Componente	Calamar (%)					
	0 <sub>1</sub> *	0 <sub>2</sub>	40	60	80	100
Humedad (%)	5.9 ± 0.23 <sup>a,b**</sup>	6.52 ± 0.32 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.36 <sup>c</sup>	4.82 ± 0.26 <sup>b,c</sup>	5.68 ± 0.19 <sup>b</sup>	5.27 ± 0.74 <sup>b</sup>
Proteína (%)	17.2 ± 0.72 <sup>c</sup>	16.5 ± 0.36 <sup>c</sup>	40.6 ± 1.52 <sup>d</sup>	62.8 ± 1.73 <sup>c</sup>	69.9 ± 1.07 <sup>b</sup>	85.8 ± 1.52 <sup>a</sup>
Lípidos (%)	1.34 ± 0.27 <sup>b</sup>	1.19 ± 0.38 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.40 <sup>b</sup>	2.82 ± 0.55 <sup>a</sup>	2.54 ± 0.52 <sup>a,b</sup>	2.68 ± 0.23 <sup>a</sup>
Carbohidratos (%)	65.8 ± 2.26 <sup>a</sup>	66.2 ± 2.82 <sup>a</sup>	42.3 ± 2.93 <sup>b</sup>	20.16 ± 2.14 <sup>b</sup>	10.9 ± 0.98 <sup>c</sup>	5.64 ± 0.93 <sup>d</sup>
Fibra dietaria (%)	8.29 ± 1.98 <sup>a</sup>	8.78 ± 1.76 <sup>a</sup>	7.29 ± 1.24 <sup>a,b</sup>	5.29 ± 1.85 <sup>a,b</sup>	6.72 ± 0.58 <sup>a,b</sup>	0.00
Cenizas (%)	2.89 ± 0.25 <sup>c</sup>	1.21 ± 0.35 <sup>d</sup>	3.63 ± 0.16 <sup>b</sup>	4.09 ± 0.25 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.73 ± 0.17 <sup>a,b</sup>
Fe (mg/100g)	1.78 ± 0.39 <sup>a,b</sup>	2.56 ± 0.78 <sup>a</sup>	1.66 ± 0.12 <sup>a,b</sup>	1.59 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.73 ± 0.24 <sup>a,b</sup>	1.79 ± 0.28 <sup>a,b</sup>
Mn (mg/100g)	0.46 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>b</sup>
Zn (mg/100g)	0.81 ± 0.01 <sup>d</sup>	1.38 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.15 ± 0.05 <sup>c</sup>	4.36 ± 0.15 <sup>b</sup>	5.11 ± 0.28 <sup>a</sup>	4.11 ± 0.04 <sup>c</sup>
Cu (mg/100g)	0.29 ± 0.01 <sup>b,c</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.34 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.39 ± 0.05 <sup>a,b</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.05 <sup>a</sup>
Na (mg/100g)	92.2 ± 2.5 <sup>c</sup>	92.45 ± 1.26 <sup>c</sup>	268.7 ± 10.6 <sup>a</sup>	265.9 ± 11.5 <sup>a,b</sup>	250.9 ± 3.7 <sup>b</sup>	273.7 ± 10.6 <sup>a</sup>
K (mg/100g)	1087.5 ± 23.1 <sup>a</sup>	1098.6 ± 17.4 <sup>a</sup>	1006.1 ± 46.7 <sup>b</sup>	1082.5 ± 56.3 <sup>a</sup>	1078.0 ± 24.3 <sup>a</sup>	1038.3 ± 32.9 <sup>a,b</sup>
Ca (mg/100g)	53.6 ± 10.4 <sup>a</sup>	53.8 ± 6.6 <sup>a</sup>	46.5 ± 1.3 <sup>b</sup>	46.5 ± 2.3 <sup>b</sup>	52.19 ± 0.73 <sup>a,b</sup>	42.87 ± 1.5 <sup>b</sup>
Mg (mg/100g)	98.7 ± 2.8 <sup>d</sup>	98.8 ± 1.5 <sup>d</sup>	111.7 ± 0.7 <sup>c</sup>	150.9 ± 1.4 <sup>a</sup>	107.38 ± 2.68 <sup>c</sup>	115.39 ± 0.6 <sup>b</sup>
P (mg/100g)	758.2 ± 12.9 <sup>a</sup>	662.6 ± 7.1 <sup>b</sup>	608.3 ± 4.8 <sup>d,c</sup>	623.8 ± 4.7 <sup>c</sup>	628.7 ± 26.4 <sup>b,c</sup>	616.28 ± 5.3 <sup>c</sup>

Nota: \*0<sub>1</sub> y 0<sub>2</sub>% corresponden a 100% papa y maíz, respectivamente.

\*\*Diferentes letras en cada renglón indican diferencia significativa (p<0.05).



**Figura 1.** Efecto del proceso de extrusión y el contenido de calamar sobre la digestibilidad de proteína in vitro (PDPV) de las botanas expandidas por extrusión. Las líneas indican la desviación estándar de 3 muestras.

Rathod et al. (2016), encontraron que el proceso de extrusión de lentejas favorece significativamente el PDPV de 39.4 a 88.7%, lo cual puede ser atribuido a que la combinación de altas temperatura, presión y esfuerzo mecánico producido en el alimento por efecto de la extrusión reduce algunos factores anti nutricionales como: ácido fítico, tanino, inhibidores de tripsina y los niveles de polifenoles totales, relacionados con el PDPV. De manera natural los algunos compuestos químicos conocidos como “inhibidores”, interactúan con la proteína para formar complejos de mayor grado de entrecruzamiento que afectan la solubilidad de las proteínas, formando complejos de proteínas menos susceptibles a la degradación proteolítica (Reddy et al., 1982)

#### **8.4.3 Propiedades calorimétricas**

En la Figura 2 se pueden observar que los análisis calorimétricos de las muestras extrudidas no presentaron el comportamiento de transición vítrea "glass transition" posiblemente atribuido al efecto de extrusión que causa la pérdida parcial o total de la cristalinidad provocada por los cambios estructurales en el almidón y a la interacción proteína-almidón que producen complejos de alto peso molecular. Sin embargo, se pudo apreciar (Figura 2) con claridad una transición de fase  $T_m$  temperatura de fusión "melting temperature" entre los 145 y 225°C para muestras analizadas.

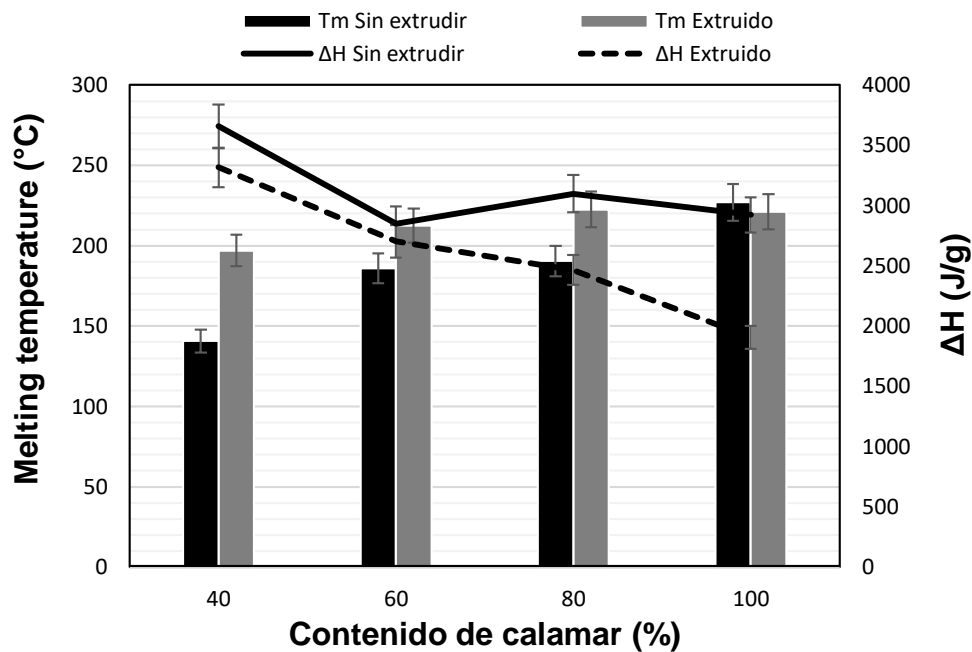
En las muestras extrudidas se puede observar que la  $T_m$  se incrementa cuando el contenido de calamar aumenta (Figura 2), esto puede ser atribuido a que las estructuras de las proteínas del molusco corresponden a estructuras fibrilares con configuración lamina  $\beta$ , cuya temperatura de fusión es mayor con respecto a las estructura del almidón presente en la papa y el maíz (Latz et al., 2015). La  $T_m$  de las muestras sin extrudir estuvieron en un rango de 140 a 227 °C para contenido de calamar de 40 y 100% respectivamente, estos valores coinciden con los reportados por Latza et al. (2015), al estudiar las propiedades termoplásticas de materiales de alto contenido de proteína obtenidos de los dientes de succión de calamar gigante, con temperaturas de fusión de 150 a 220°C.

Se observó que las temperaturas de fusión de las muestras con 40, 60 y 80% de calamar se incrementa significativamente con el proceso de extrusión, no así para las muestras con 100% de calamar (Figura 2), esto puede ser atribuido a que en las muestras que contienen

calamar-papa-maíz se propician interacciones entre las proteínas del calamar y el almidón presente en las harinas vegetales, resultando así en la generación de compuestos de estructuras más complejas y con mayor peso molecular, mismas que poseen una mayor temperatura de fusión. Este comportamiento coincide con lo reportado por Yang et al. (2015), que al elaborar productos extruidos de mezclas de almidón-emulsificantes observaron que las temperaturas de transiciones se incrementan después de la extrusión, lo cual es atribuido a las posibles interacciones entre los componentes de la matriz.

Diversos autores señalan que durante el proceso de extrusión se debilita la estructura cristalina de las partículas de almidón presentes en los alimentos, así como el desdoblamiento de la doble hélice de las proteínas (Bhatnagar y Hanna 1994; Li et al., 2014); estos cambios conformacionales dejan disponibles diversos sitios activos que propician las interacciones entre los polímeros proteína-almidón generando estructuras tridimensionales con mayor capacidad para retener el agua. (Da Rosa Zavareze & Dias 2011).

El contenido de calamar en la matriz proteína-carbohidrato mostró un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre los valores de entalpía ( $\Delta H$ ) (Figura 2). Se observó que al incrementar el contenido de calamar de 40 a 100%, los valores de  $\Delta H$  se reducen tanto para las muestras sin extrudir como en las muestras extruidas. Lo cual puede atribuirse a que, al haber menor cantidad de almidón disponible para interactuar, las interacciones proteína-almidón se ven reducidas.



**Figura 2.** Efecto del contenido de calamar y el proceso de extrusión sobre las propiedades calorimétricas de las mezclas de calamar-papa-maíz. Las líneas indican la desviación estándar de 3 muestras.

En la Figura 2 se puede observar que el proceso de extrusión reduce significativamente ( $p < 0.05$ ) los valores de  $\Delta H$ , esto puede ser atribuido a que durante el proceso la matriz es sometida a altas temperaturas, esfuerzo de corte y altas presiones. Diversos autores señalan que estas condiciones que pueden modificar las regiones cristalinas y amorfas, y la estructura helicoidal del almidón, así como el plegamiento de las estructuras tipo lamina  $\beta$  de las proteínas fibrilares (Hu et al., 2014; Luo et al., 2006); reduciendo de esta manera la cantidad de energía necesaria para llevar a cabo el cambio de fase (Pilli et al., 2011; Singh et al., 2007).

#### 8.4.4. Análisis estructural por FTIR

En la Figura 3, se puede observar que el contenido de calamar en las muestras incrementa el área bajo la curva de las bandas  $1615$  y  $1540 \text{ cm}^{-1}$  que corresponden a los grupos



funcionales amina I y amina II presentes en las proteínas de calamar. En este mismo sentido, estas bandas no se observan en las muestras que contienen 100% de papa y maíz, debido a la ausencia de proteínas del tipo fibrilar; pero se presentan bandas de  $1015\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a enlaces del tipo *o*-glucosídico que es característico de los alimentos ricos en carbohidratos (Latza et al., 2015).

En las muestras con 40, 60 y 80% de calamar (Figura 3 a,b,c) se observa que el proceso de extrusión promueve cambios en los grupos funcionales, que se reflejan en la disminución de la intensidad de las bandas 1615 y 1540, mismas que son responsables de la interacción intra e intermolecular de las estructuras de las proteínas, de tal manera que al reducir la interacción proteína-proteína, se permite que la estructura se desdoble para posiblemente interactuar con el almidón presente en la matriz. Así mismo, se observa que el proceso de extrusión en las muestras propició un aumento en el área a los  $1015\text{ cm}^{-1}$ , lo cual puede ser atribuido a que las altas presiones y temperaturas promueven la formación de enlaces del tipo *o*-glucosídico, los cuales tienen la característica de formar redes tridimensionales capaces de atrapar el vapor de agua generado durante el proceso de extrusión. Este comportamiento coincide con incrementos en los valores de expansión observado en muestras de calamar-almidón extrudidas (Valenzuela-Lagarda et al., 2016)

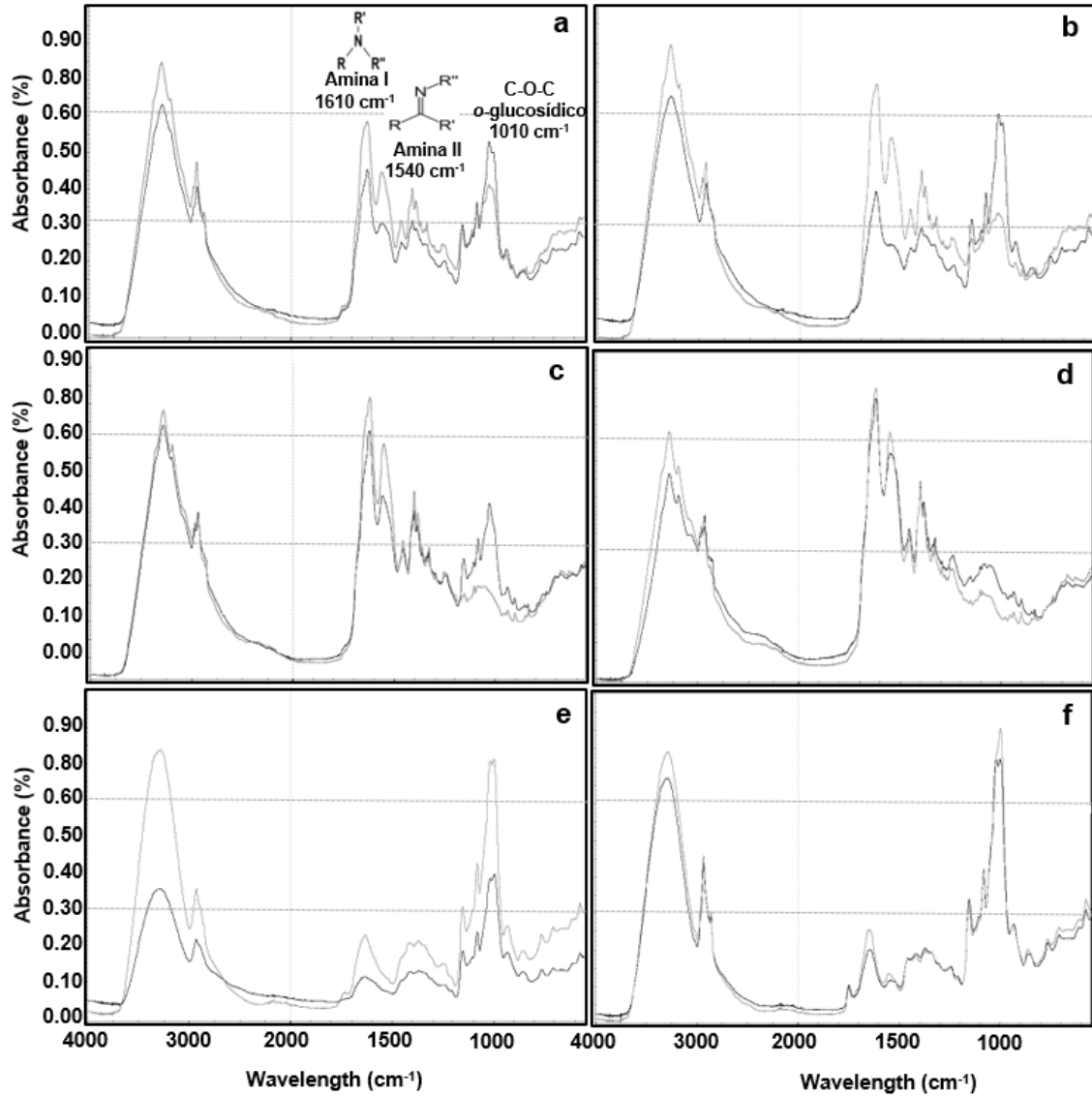
Estos resultados coinciden con lo reportado por Widjanarko et al. (2010), quienes mediante FTIR analizaron mezclas de aislados de proteína de soja, de trigo, de maíz y glucomanano de konjac (*Amorphophallus konjac*) para la elaboración de una barra alimentaria; los autores reportan bandas con desplazamientos de  $1630\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  las cuales son correspondientes al grupo amina I, valores que también son observados en nuestro estudio en la presencia de proteínas. Desplazamientos similares han sido observados para otros aislados de proteína, coincidiendo al grupo amina I (Mantsch, 1992; Martinez-Bustos, 2001).

Los resultados de FTIR son consistentes con los obtenidos por DSC en donde el contenido de calamar y el proceso de extrusión influyen significativamente en las interacciones proteína almidón.

Estudios recientes de la evaluación del efecto del contenido de calamar sobre las propiedades físicas y morfométricas de botanas expandidas por extrusión, señalan que los productos con mejores características tecnológicas: índice de expansión (2.0-1.9) y densidad aparente (0.11-0.13), se obtienen al emplear mezclas 40 y 60% de calamar (Valenzuela-Lagarda et al., 2016). Estos resultados son consistentes con lo observado en este estudio, en donde, las muestras que presentan mayor presencia de interacción proteína-almidón (40 y 60%); es por ello que es posible atribuir que este tipo de interacciones son las responsables de las propiedades fisicoquímicas y tecnológicas de las botanas expandidas por extrusión.

## 8.5 Conclusiones

Las botanas expandidas por extrusión elaboradas con calamar-papa-maíz poseen alto contenido de proteína (40-85%) y de valor biológico (DPIV>93%). Durante el proceso de extrusión se propician interacciones proteína-almidón que se ven reflejados en el incremento de entalpia y temperatura de fusión de las muestras. El proceso de extrusión de mezclas de calamar-papa-maíz ocasiona cambios en conformacionales en las estructuras de las proteínas y almidón, mismos que pudieran estar relacionadas con las características funcionales de las botanas expandidas por extrusión.



**Figura 3.** Espectros de FTIR de las diferentes muestras: a) 40% calamar, b) 60% calamar, c) 80% calamar, d) 100% calamar, e) 100% papa, f) 100% maíz. Línea gris: sin extrudir, línea negra: extruidas

## 8.6. Referencias

- Bhatnagar S., Hanna M.A. 1994. Amylose-lipid complex formation during single-screw extrusion of various corn starches. *Cereal Chemistry*.71: 582–58.
- Colonna, P., Tayeb, J. & Mercier, C. 1989. Extrusion cooking of starch and starchy products. In: *Extrusion Cooking* (edited by C. Mercier, P. Linko & J.M. Harper). Pp. 247–319. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc.
- Da Rosa Zavareze E., Dias A.R. 2011. Impact of heat moisture treatment and annealing in starches: a review. *Carbohydr. Polym.* 83:317–328.
- Hu A.J., Li L., Zheng J., Lu J., Meng X., Liu Y., Rehman R.U. 2014. Different-frequency ultrasonic effects on properties and structure of corn starch. *J. Sci. Food Agri.* 94: 2929–2934.
- Latza V., Guerette P.A., Ding D., Amini S., Kumar A., Schmidt I., Keating S., Oxman N., Weaver J.C., Fratzl P., Miserez A. & Masic A. 2015. Multi-scale thermal stability of a hard thermoplastic protein-based material. *Nat. Commun.* 6:8313:1-8.
- Li M., Hasjim J., Xie F.W., Halley P.J., Gilbert R.G. 2014. Shear degradation of molecular, crystalline, and granular structures of starch during extrusion. *Starch.* 66: 595–605.
- Luo Z.G., He X.W., Fu X., Luo F.X., Gao Q.Y. 2006. Effect of microwave radiation on the physicochemical properties of normal corn, waxy corn and amylocorn V starches. *Starch.* 58: 468–474.
- Maltais A, Remondetto GE, Subirade, M (2008). Mechanisms involved in the formation and structure of soya protein cold-set gels: A molecular and supramolecular investigation. *Food Hydrocoll.*22: 550-559.
- Mantsch HH., Jackson M. 1992. Halogenated alcohols as solvents for protein: FTIR spectroscopic study. *Biochim. Biophys. Acta.* 1118:139-143.

Martinez-Bustos F. 2001. Influence of extrusion conditions on cassava starch and soybean protein concentrate blends. *Acta Alim.* 30:2:189-203.

Singh S., Gamlath S., Wakeling L. 2007. Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International J Food Sci. Techn.* 42:916–929

Valenzuela-Lagarda J.L., Gutiérrez-Dorado R., Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sánchez M.E., Valdez-Torres J.B., Reyes-Moreno C., Mazorra-Manzano M.A. & Muy-Rangel M.D. 2016. Botanas expandidas a base de mezclas de harinas de calamar, maíz y papa: efecto de las variables del proceso sobre propiedades fisicoquímicas, *CyTA - Journal of Food*, 15:1, 118-124,

Widjanarko S.B., Nugroho A. and Estiasih, T. 2011. Functional interaction components of protein isolates and glucomannan in food bars by FTIR and SEM studies. *African J. Food Sci.* 5:1:1-21.

Widjanarko S.B., Nugroho A., Estiasih T. 2010. Functional interaction components of protein isolates and glucomannan in food bars by FTIR and SEM studies. *Afric J Food Sci.* 5:1:12 - 21,

Yang Q., Xiao Z., Zhao Y., Liu C., Xu Y., Bai J. 2015. Effect of extrusion treatment with different emulsifiers on the thermal stability and structure of corn starch. *Food Techn. Econ. Eng. Phy Prop.* 33:5:464–473.

## 9. CONCLUSIONES

Las variables del proceso de extrusión (Temperatura y velocidad de tornillo) ejercen un efecto significativo sobre las propiedades físicas y tecnológicas de las botanas, obteniendo mejores características al emplear temperaturas bajas, velocidades de tornillo altas y proporciones mayores de papa

La aplicación de condiciones de proceso adecuadas permite incorporar hasta un 60% de calamar en la mezcla papa-maíz para la elaboración de botanas expandidas por extrusión con propiedades tecnológicas y físicas deseables, generando así, una botana con alto contenido de proteína y características competitivas con las botanas existentes en el mercado.

El incremento del contenido de calamar produce cambios en la conformación de las botanas expandidas, generando estructuras más compactas, con cavidades de menor diámetro y paredes más gruesas, lo cual se refleja en menores índices de expansión y densidades mayores. Las botanas con 60 % de calamar presentan arreglos estructurales más regulares y con mayor heterogeneidad, lo que confiere una mayor resistencia al colapso estructural al aplicar una fuerza, características deseables en este tipo de alimentos.

Durante el proceso de extrusión de calamar-papa-maíz se propician las interacciones proteína-almidón, las cuales se llevan a cabo mediante los grupos funcionales amina y carboxilo de las proteínas y el almidón respectivamente, producto de estas interacciones es la generación de compuestos de mayor peso molecular.

El proceso de extrusión incrementa la digestibilidad de las proteínas presentes en las mezclas de calamar-papa-maíz, por lo que las botanas generadas, además de poseer características físicas y morfológicas adecuadas, tienen un elevado contenido de proteína de alto valor biológico.