

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

**“Optimización de la formulación de un producto tipo gel-  
emulsificado a partir del músculo de calamar gigante  
(*Dosidicus gigas*): Efecto de una fibra cítrica sobre los  
parámetros de calidad y vida de anaquel”**

POR:

**LUCINA LEDESMA LÓPEZ**

TESIS APROBADA POR LA

**COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
DE ORIGEN ANIMAL**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

HERMOSILLO, SONORA

DICIEMBRE, 2010

## CARTA DE APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de la C. Lucina Ledesma López, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias, dentro del Programa de Maestría en Ciencias del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

---

Dr. Juan Carlos Ramírez Suárez  
Director de Tesis

---

Dr. Ramón Pacheco Aguilar

---

Dr. Humberto González Ríos

---

M.C. Libertad Zamorano García

---

M. C. Guillermina García Sánchez

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

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

---

Dr. Ramón Pacheco Aguilar  
Director General  
C.I.A.D., A.C.



Hermsillo, Sonora 22 de noviembre de 2010.

Coordinacion de Tecnologia de  
Alimentos de origen animal,  
C.I.A.D.

Estimado Dr. Ramirez:

Por medio de la presente la suscrita, representante legal de la empresa "Anamar Productos Alimenticios S.A" muestra su conformidad, una vez revisado el contenido de la tesis de la alumna LUCINA LEDEZMA LOPEZ, bajo el titulo "OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE UN PRODUCTO TIPO GEL-EMULSIFICADO A PARTIR DEL MÚSCULO DE CALAMAR GIGANTE (*Dosidicus gigas*): EFECTO DE UNA FIBRA CÍTRICA SOBRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD Y VIDA DE ANAQUEL", realizada acerca del rollo de calamar desarrollado en C.I.A.D a peticion de la empresa.

Sin otro particular de momento, me reitero a sus apreciables ordenes para cualquier aclaracion o comentario.

Atentamente

Sra. Ana Maria Melchor

Rep. Legal

[Ana\\_mam@hotmail.com](mailto:Ana_mam@hotmail.com)

ALIMENTICIOS

R.F.C. APADRESCANA

Boque 1454 P.C.

Hermsillo, Sonora

Hermsillo, Sonora

## DEDICATORIA

*A mis padres, Sr. Reyes Ledesma Alcantar y Sra. Lucina López Paniagua, por su gran apoyo y confianza, sin ustedes no habría sido posible cumplir esta meta.*

*En especial a ti, mi pequeño ratón, que eres lo más importante en mi vida y que por ti y para ti, valió la pena el sufrimiento de no estar a tu lado, con todo mi cariño para ti, **Larissa**.*

## AGRADECIMIENTOS

A CONACYT, por la beca otorgada para realizar estos estudios.

Al CIAD, A.C., por darme la oportunidad de formar parte de su programa de maestría y por el apoyo brindado en la parte final de mi tesis, siempre quise estudiar aquí.

El presente estudio formó parte del proyecto “Desarrollo de nuevos productos con valor agregado a partir de especies marinas y subproductos de bajo valor comercial del Golfo de California”, financiado por el Fondo mixto CONACYT-Gobierno del Estado de Sonora.

A la empresa ANAMAR Productos Alimenticios S.A. por el apoyo otorgado, en especial a la señora Ana María Melchor representante legal.

Un sincero agradecimiento a mi director de tesis Dr. Juan Carlos Ramírez Suárez, por darme la oportunidad de trabajar bajo su dirección, por todo el tiempo dedicado, por su apoyo, paciencia, sencillez y sobre todo por los conocimientos transmitidos durante el desarrollo de este estudio y por las acertadas correcciones que siempre tuvo, MUCHAS GRACIAS.

A los miembros del comité de tesis, a cada uno de ellos GRACIAS por su valiosa e invaluable participación durante las diferentes etapas del desarrollo de esta tesis. Dr. Humberto González Ríos, MC. Libertad Zamorano García, MC. Guillermina García Sánchez, Dr. Ramón Pacheco Aguilar.

A las maestras del grupo de pesqueros, M.C. Guillermina García Sánchez, M.C. Ma. Elena Lugo Sánchez y M.C. Gisela Carvallo Ruiz, por todo su apoyo y enseñanzas, mi admiración y respeto por la gran calidad humana y profesional que tienen. A la maestra Guille le doy las gracias por su gran apoyo en las actividades del proceso del rollo, por sus enseñanzas en el laboratorio, por sus consejos para cosas personales, por su disponibilidad de apoyo siempre, muchas gracias. A la maestra

Ma. Elena, le agradezco todas sus enseñanzas en el laboratorio, su apoyo en las actividades del proceso, su apoyo en todo lo que se pudiera, y sobre todo los consejos y platicas personales que me fueron de mucha ayuda. A la maestra Gisela, quiero darle las gracias por su apoyo en todos los trámites y requisiciones realizados, por su ayuda en los días de proceso, por sus enseñanzas en el laboratorio, por su amabilidad y disponibilidad a ayudar siempre. A todas ustedes MUCHAS GRACIAS.

En especial al Ing. Germán Cumplido Barbeita, por su valiosa colaboración y aportaciones para el desarrollo del producto, por sus enseñanzas, apoyo y amistad brindados.

Muy especialmente a la Dra. Susana Scheuren, por su valiosa colaboración en la parte microbiológica de este estudio, por su amabilidad y paciencia, GRACIAS.

A la Dra. Celia Olivia García, por enseñarme a utilizar el calorímetro y por su gran disponibilidad de apoyo en las actividades realizadas. A la Dra. Tere Gollas, por su amabilidad y por animarse a probar los rollos de calamar en los preliminares.

A los compañeros de pesqueros, por su apoyo en las diferentes actividades realizadas Ana, Ary, Hugo, Carlos, Gabriel, Marcos, Gracias.

Al laboratorio de productos cárnicos, por las facilidades brindadas para trabajar en sus instalaciones. A los estudiantes de carnes, por su apoyo en las actividades del proceso de elaboración del producto, en especial a los estudiantes de la MC. Libertad, Diego y Yaneth, por su apoyo en la evaluación sensorial, y también a Thalia, Gracias.

A los panelistas de la MC. Libertad, por su colaboración en las evaluaciones sensoriales realizadas, su participación fue muy importante.

Al laboratorio de proximal, por las facilidades proporcionadas para el uso de algunos equipos.

Al laboratorio de lácteos, por las facilidades proporcionadas para trabajar en sus instalaciones.

A la Dra. Ana María Calderón, por darme la oportunidad de ingresar al programa de maestría en las circunstancias ocurridas.

Al personal de docencia, por su apoyo en todos los trámites realizados.

Al personal de biblioteca, a los guardias, por su amabilidad y buen humor de siempre.

A la familia Monge, por abrirme las puertas de su casa y por el apoyo brindado.

A mis compañeros de maestría, Rita, Judith, Javier, Priscilia, David, Cintia, Miriam, Magy, etc. a todos, en especial a Rosina, Magda, José Luis, Hugo por las experiencias compartidas y por su amistad.

Agradezco muy especialmente a mis padres, por ayudarme a cumplir mi más grande deseo de estudiar en CIAD, por apoyarme en todos los aspectos, por confiar en mí, por querer y cuidar a mi hija. A mis hermanos Adrian, Liz, Nene y Norma (en paz descansa), por su apoyo y por estar ahí siempre. A mis sobrinos, Peque, Ale, Cindy y Crispin, y a Jero, por cuidar a mi ratón.

A ti mi ratón, por el simple hecho de existir.

Muy especialmente quiero darte las gracias a ti Marcos, por tu invaluable compañía, paciencia y apoyo incondicional que siempre me has dado. Por soportar mi mal carácter, por siempre estar a mi lado, por tu disposición a ayudarme en todo, por darme ánimo de seguir en los momentos difíciles, por ser tan buena persona y por querer a mi hija. Sobre todo por el café que todos los días me dabas. GRACIAS.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XV
RESUMEN.....	XVII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Aspectos Generales del Calamar Gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ) .....	3
Biología.....	3
Pesquería, producción y comercialización .....	5
Composición química del músculo de calamar.....	7
Proteínas del músculo de calamar .....	8
Propiedades del músculo.....	10
Calidad Tecnológica-Funcional del Músculo de Calamar Gigante.....	11
Solubilidad .....	12
Gelificación térmica.....	13
Capacidad de retención de agua (CRA).....	15
Emulsificación .....	17
Productos Cárnicos Procesados .....	18
Productos embutidos .....	19
Emulsiones cárnicas .....	20
Desarrollo de Nuevos Productos.....	22
Funcionalidad Tecnológica de la Fibra Dietaria.....	25
Solubilidad .....	25
Propiedades de hidratación y de unión de grasa.....	25
Viscosidad.....	27
Capacidad gelificante.....	27
Propiedades antioxidantes .....	28
Propiedades texturizantes.....	28
Otras propiedades.....	29
Estudios Previos con Productos Pesqueros Adicionados con Fibra Dietaria.....	29
Generalidades de la Fibra Cítrica Citri-Fi®100 FG .....	33
Propiedades funcionales.....	35
III. HIPÓTESIS.....	39
IV. OBJETIVOS.....	40
V. MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
ETAPA I.....	41

Efecto de la Adición de Fibra Cítrica Sobre las Propiedades Fisicoquímicas de Geles de Músculo de Calamar Gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ) .....	41
Preparación de geles .....	43
Composición proximal .....	43
pH .....	44
Capacidad gelificante .....	44
Análisis de perfil de textura (APT) .....	44
Prueba de doblado .....	46
Capacidad de retención de agua (CRA) .....	46
Color .....	47
Perfil electroforético SDS-PAGE .....	47
Calorimetría diferencial de barrido (DSC) .....	48
Diseño experimental y análisis estadístico .....	48
ETAPA II .....	49
Optimización de la Formulación del Producto .....	49
Materia prima .....	49
Formulación .....	49
Elaboración del producto.....	49
Procedimiento .....	50
Análisis fisicoquímicos .....	50
Análisis proximal .....	50
pH .....	50
Análisis de textura .....	51
Análisis de perfil de textura (APT) .....	51
Esfuerzo al corte .....	51
Prueba de doblado .....	51
Capacidad de retención de agua (CRA) .....	52
Color .....	52
Color interno.....	52
Color externo.....	52
Actividad de agua ( $a_w$ ).....	53
Evaluación sensorial .....	53
Diseño experimental y análisis estadístico .....	54
ETAPA III .....	57
Adición de Fibra Cítrica y su Efecto sobre los Parámetros de Calidad y Vida de Anaquel de un Producto Tipo Gel-Emulsificado .....	57
Materia prima .....	58
Elaboración del producto.....	58
Procedimiento .....	58
Tratamientos experimentales .....	58
Parámetros tecnológicos.....	59
Rendimiento de cocción .....	59
Cambios dimensionales .....	59

Análisis fisicoquímicos .....	59
Color .....	60
Sustancias reactivas al ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARS).....	60
Análisis microbiológicos .....	61
Análisis sensorial .....	62
Diseño experimental y análisis estadístico .....	63
VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	64
ETAPA I.....	64
Análisis proximal .....	64
Análisis de textura.....	66
Capacidad de retención de agua (CRA).....	68
Color .....	70
Perfil electroforético .....	72
Comportamiento térmico .....	74
ETAPA II.....	78
Metodología de Superficie de Respuesta.....	78
Análisis proximal .....	78
Análisis Fisicoquímicos .....	80
CRA .....	80
pH .....	80
a <sub>w</sub> .....	82
Textura.....	82
Análisis de Color .....	83
Color interno.....	83
Color externo.....	85
Análisis sensorial .....	85
Efecto de los Factores ó Modelos Predictivos.....	88
Análisis proximal .....	88
Análisis fisicoquímicos .....	92
CRA .....	92
pH .....	95
a <sub>w</sub> .....	95
Textura.....	95
Análisis de Color .....	98
Color interno.....	99
Color externo.....	102
Análisis sensorial .....	104
Respuesta Óptima .....	107
Sabor .....	107
Textura al morder.....	107
Textura al masticar.....	108
Elasticidad.....	108

Cohesividad .....	108
ETAPA III .....	114
Parámetros tecnológicos.....	114
Rendimiento de cocción .....	114
Cambios dimensionales .....	115
Análisis fisicoquímicos .....	117
Análisis proximal .....	117
pH .....	122
Capacidad de retención de agua.....	124
Textura.....	126
Análisis de Color .....	129
Color Interno .....	129
Color Externo .....	133
Actividad de agua ( $a_w$ ).....	136
Oxidación de lípidos: TBARS .....	138
Análisis microbiológicos .....	141
Mesófilos y psicrófilos .....	141
Coliformes totales .....	145
Patógenos.....	145
VII. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES .....	157
BIBLIOGRAFÍA.....	159
ANEXOS.....	182

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Principales procesos de industrialización del calamar y productos obtenidos.....	6
Tabla 2.	Resultados analíticos de la composición de Citri-Fi® 100 FG.....	34
Tabla 3.	Comparación de la capacidad de retención de agua de varias fibras utilizadas en alimentos .....	35
Tabla 4.	Propiedades funcionales de la fibra cítrica Citri-Fi® 100 FG en diferentes productos alimenticios. ....	38
Tabla 5.	Escala de puntos utilizada en la prueba del doblado. ....	46
Tabla 6.	Corridas experimentales del Diseño Central Compuesto Rotatorio para tres factores (2 <sup>3</sup> ).....	55
Tabla 7.	Composición proximal y pH de los geles obtenidos. ....	65
Tabla 8.	Análisis de perfil de textura (APT) y prueba de doblado (PD) de los geles de músculo de calamar adicionados con diferente concentración de fibra cítrica.....	67
Tabla 9.	Calorimetría diferencial de barrido de los soles de músculo de calamar con diferente concentración de fibra cítrica. ....	75
Tabla 10.	Diseño compuesto rotacional 2 <sup>3</sup> con los datos experimentales obtenidos de la composición proximal de los rollos de calamar. ....	79
Tabla 11.	Diseño compuesto rotacional 2 <sup>3</sup> con los datos experimentales obtenidos de la evaluación fisicoquímica de los rollos de calamar. ....	81
Tabla 12.	Diseño compuesto rotacional 2 <sup>3</sup> con los datos experimentales obtenidos en la evaluación de color de los rollos de calamar.....	84
Tabla 13.	Diseño compuesto rotacional (2 <sup>3</sup> ) con los datos experimentales obtenidos en la evaluación sensorial de los rollos de calamar. ....	87
Tabla 14.	Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para la composición proximal de los rollos de calamar.....	89
Tabla 15.	Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para las características fisicoquímicas de los rollos de calamar. ....	93
Tabla 16.	Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para los parámetros de color.....	100
Tabla 17.	Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para la evaluación sensorial de los rollos de calamar.....	105
Tabla 18.	Valores óptimos para cada factor y respuestas predichas. ....	111
Tabla 19.	Pérdida de peso ** (%) por purga durante 34 días de almacenamiento en refrigeración de los rollos de calamar. ....	116
Tabla 20.	Composición proximal del músculo y rollos de calamar. ....	118
Tabla 21.	Cambios en la textura del rollo de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). ....	127
Tabla 22.	Cambios en el color interno de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración.....	131

Tabla 23.	Cambios en el color externo de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	134
Tabla 24.	Microorganismos patógenos evaluados en el rollo de calamar gigante a los 0 y 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	147
Tabla 25.	Conteo de bacterias ácido lácticas en el rollo de calamar gigante al día 30 de almacenamiento. ....	150

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ). .....	4
Figura 2.	Diagrama de flujo del esquema experimental de la Etapa I. ....	42
Figura 3.	Curva típica de un análisis de perfil de textura (APT). ....	45
Figura 4.	Capacidad de retención de agua (gramos de agua retenida/ gramos de proteína) de geles de músculo de calamar gigante con diferente concentración de fibra cítrica. ....	69
Figura 5.	Parámetros de color de geles de músculo de calamar gigante con diferente concentración de fibra cítrica. (a) L*; (b) a*; (c) b* y (d) índice de blancura. ....	71
Figura 6.	Perfil electroforético del músculo y de los geles de calamar gigante adicionados con diferente concentración de fibra cítrica. Carril 0: Estándar; 1: músculo de calamar; 2: control; 3: gel conc. 1 fibra; 4: gel conc. 2 fibra; 5: gel conc. 3 fibra; 6: gel conc. 4 fibra. MHC: cadena pesada de miosina; HMM: meromiosina pesada; PM: paramiosina; LMM: meromiosina ligera; AC: actina. ....	73
Figura 7.	Gráficas de superficie de respuesta en tercera dimensión para las variables del análisis proximal de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y almidón sobre la humedad; (b) efecto del aceite y fibra sobre la grasa. ....	90
Figura 8.	Gráficas de superficie de respuesta para las variables del análisis fisicoquímico de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y de la fibra sobre la CRA; (b) efecto del aceite y de la fibra sobre el pH. ....	94
Figura 9.	Gráficas de superficie de respuesta para las variables del análisis de perfil de textura (APT) de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y almidón sobre la cohesividad; (b) efecto de la fibra y del almidón sobre la elasticidad. ....	97
Figura 10.	Gráficas de superficie de respuesta para los parámetros de color interno de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro a*; (b) efecto de la fibra y del aceite sobre el ángulo de matiz. ....	101
Figura 11.	Gráficas tridimensionales de respuesta para los parámetros de color externo de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro a*; (b) efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro b*; (c) efecto del aceite y almidón sobre el ángulo de matiz. ....	103
Figura 12.	Gráficas de superficie de respuesta para las propiedades sensoriales de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y de la fibra sobre el sabor; (b) efecto del aceite y almidón sobre textura al morder y (c) sobre textura al masticar. ....	106
Figura 13.	Perfiles de predicción de respuesta óptima para los niveles de aceite, almidón y fibra en los rollos de calamar de acuerdo a los valores óptimos de las variables de respuesta sabor, textura al morder, textura al masticar, elasticidad y Cohesividad. Las líneas verticales en rojo indican la solución óptima para los factores aceite, almidón y fibra (valor señalado en rojo por	

	debajo de las figuras); las condiciones óptimas para las variables de respuesta se indican con las líneas horizontales en rojo (valor señalado en rojo lateral a las figuras). .....	110
Figura 14.	Cambios en el contenido de humedad de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media $\pm$ error estándar de $n = 2$ . Promedios con diferente literal indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ). Diferente literal mayúscula para cada tratamiento indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). .....	121
Figura 15.	Cambios en el pH de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media $\pm$ error estándar de $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). .....	123
Figura 16.	Cambios en la capacidad de retención de agua (g agua retenida/ g proteína) de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar de $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). .....	125
Figura 17.	Cambios en la actividad de agua de los rollos de calamar durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar de $n = 2$ . Promedios con diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto del almacenamiento. Diferente literal mayúscula para cada tratamiento indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). .....	137
Figura 18.	Desarrollo de TBA durante 34 días de almacenamiento en refrigeración de los rollos de calamar. Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar de $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto de la interacción de los factores. ....	140
Figura 19.	Evaluación de bacterias aerobias mesofílicas en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	143
Figura 20.	Evaluación de bacterias aerobias psicrófilas en rollo de calamar gigante durante almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	144
Figura 21.	Evaluación de coliformes totales en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	146
Figura 22.	Evaluación de coliformes fecales en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C). .....	148
Figura 23.	Resultados sensoriales de la prueba de diferencias contra el control durante el periodo de almacenamiento. (a) tratamiento control; (b) tratamiento adicionado con fibra cítrica. ....	153

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la adición de la fibra cítrica comercial (Citri-Fi® 100 FG) sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de un producto tipo gel-emulsificado a partir del músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

El presente estudio se llevó a cabo en tres etapas: la primera tuvo como objetivo evaluar el efecto de la fibra cítrica adicionada a 4 concentraciones sobre las propiedades fisicoquímicas de geles de músculo de calamar gigante. A los geles obtenidos se les evaluó la composición proximal, pH, análisis de perfil de textura (APT: dureza, fracturabilidad, cohesividad y elasticidad), prueba de doblado, capacidad de retención de agua (CRA), color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , índice de blancura (IB), electroforesis en gel de Poliacrilamida con Sodio Dodecil Sulfato (SDS-PAGE) y se monitoreó el comportamiento térmico de los mismos. Los resultados obtenidos de esta parte del estudio mostraron la viabilidad de utilizar la fibra cítrica comercial para mejorar algunas propiedades fisicoquímicas de los geles de músculo de calamar gigante.

La segunda etapa consistió en la optimización del producto tipo gel-emulsificado (rollo de calamar) mediante la utilización de la metodología de superficie de respuesta (MSR). Los factores de estudio fueron almidón, aceite y fibra cítrica. Las variables a optimizar fueron las consideradas de mayor influencia sobre la aceptabilidad de un producto tipo gel-emulsificado; éstas fueron las propiedades sensoriales y de textura. Se encontró que la forma lineal de  $X_1$  (aceite) fue el efecto que más contribuyó en el sabor de los productos. La interacción  $X_{13}$  (aceite  $\times$  fibra) tuvo mayor impacto sobre la respuesta de textura (evaluación sensorial), ya sea al morder ó al masticar. Por otro lado, sobre las variables cohesividad y elasticidad, la forma lineal de  $X_3$  (fibra) presentó mayor influencia sobre la respuesta. En base a los resultados encontrados por la técnica de MSR y algunos criterios tecnológicos, se estableció como condiciones óptimas, los puntos centrales de cada factor, debido a

que estos valores se encontraron muy cerca de la región óptima sugerida por el modelo, sin afectar las otras variables evaluadas.

La tercera etapa consistió en la evaluación de la vida de anaquel del producto optimizado en la etapa anterior y de un control (sin fibra) mediante la utilización de parámetros fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos. El producto fue empacado al vacío y almacenado a 2-4°C durante 34 días, realizándole los análisis fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos correspondientes a los 0, 5, 10, 14, 18, 21, 26, 30 y 34 días. Desde el punto de vista fisicoquímico, el rollo de calamar se mantuvo estable durante el período de almacenamiento evaluado. El parámetro determinante del término de la vida de anaquel del producto fue el crecimiento de bacterias ácido lácticas a partir del día 30 de almacenamiento, trayendo consigo una disminución del pH del producto, así como un cambio sensorial en su sabor, detectándose una acidificación de los productos al día 34.

Respecto al conteo de bacterias mesófilas y psicrófilas, así como de coliformes totales y fecales, nunca superó los límites máximos permisibles según especificaciones sanitarias nacionales e internacionales durante todo el período de almacenamiento. No se observó la presencia de microorganismos patógenos (*Salmonella ssp.*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*) durante todo el almacenamiento.

Los resultados del presente estudio sugieren que de acuerdo a las condiciones de buenas prácticas de procesamiento y adecuado almacenamiento en refrigeración (2-4°C) utilizadas, el rollo de calamar se considera como un producto microbiológicamente apto para consumo humano y comercial hasta el día 30 de almacenamiento.

## I. INTRODUCCIÓN

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco cefalópodo encontrado en abundancia en las costas del Pacífico este, concentrándose en nuestro país, en el área del Golfo de California. Su pesquería es considerada una de las más importantes para el País. En el 2008, contribuyó con un 4.84% de la producción nacional, representando un ingreso de 127,660 mil pesos (CONAPESCA 2008). El atractivo comercial del calamar gigante radica en su abundancia, así como en la calidad y contenido nutritivo de su carne. A pesar de estas propiedades, el calamar es una especie sub-valorada en México, con bajo valor comercial y con poca aceptación de los consumidores en el mercado nacional. Del total de su captura, cerca del 89% se destina a la exportación, principalmente a mercados asiáticos, y es exportado como materia prima intermedia con bajo o nulo valor agregado, y a bajo precio (Salinas-Zavala *et al.*, 2005).

Por lo antes expuesto, surge la necesidad de buscar alternativas que permitan dar un aprovechamiento integral y difusión del calamar gigante en México, por la relevancia económica y nutricional que representa. Una alternativa atractiva sería utilizar su manto para la elaboración de nuevos productos, ya que este representa alrededor del 50% de la porción comestible (Salabyj, 1981). Sin embargo, al músculo de calamar se le ha descrito con poca funcionalidad, señalándose que presenta poca capacidad gelificante y que los geles obtenidos de él son débiles y quebradizos, con poca capacidad de retención de agua (Pérez-Mateos *et al.*, 2002). Lo anterior no impide la utilización del calamar como materia prima, sólo significa que es necesario el uso de ingredientes alimentarios que permitan potenciar la funcionalidad del sistema proteico y generar productos de calidad, con las características sensoriales deseadas.

Uno de los ingredientes frecuentemente utilizado con estos fines es la fibra dietaria. En este sentido, recientemente se ha desarrollado, con metodología patentada, la fibra cítrica comercial Citri-Fi. Esta fibra es obtenida a partir de la pulpa

de naranja, completamente natural y con un alto rendimiento funcional. La fibra ha sido utilizada con éxito para mejorar tanto la calidad como el contenido nutricional de una amplia variedad de productos, y lo más importante, sin modificar su sabor ni textura (Lundberg, 2005). Sin embargo, es necesario realizar más estudios sobre la aplicación de esta fibra en nuevas áreas, como es el área de productos pesqueros.

Con la finalidad de obtener un producto enriquecido con fibra, con valor agregado y de calidad aceptable para el consumidor, en el presente estudio se evaluó el efecto de la adición de fibra cítrica (Citri-Fi® 100 FG) en un producto tipo gel-emulsificado a base de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Para determinar las concentraciones óptimas de fibra, así como de aceite y almidón en la formulación del producto, se empleó la metodología de superficie de respuesta (MSR). El producto optimizado, fue evaluado para ver el efecto de la optimización sobre los parámetros de calidad fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

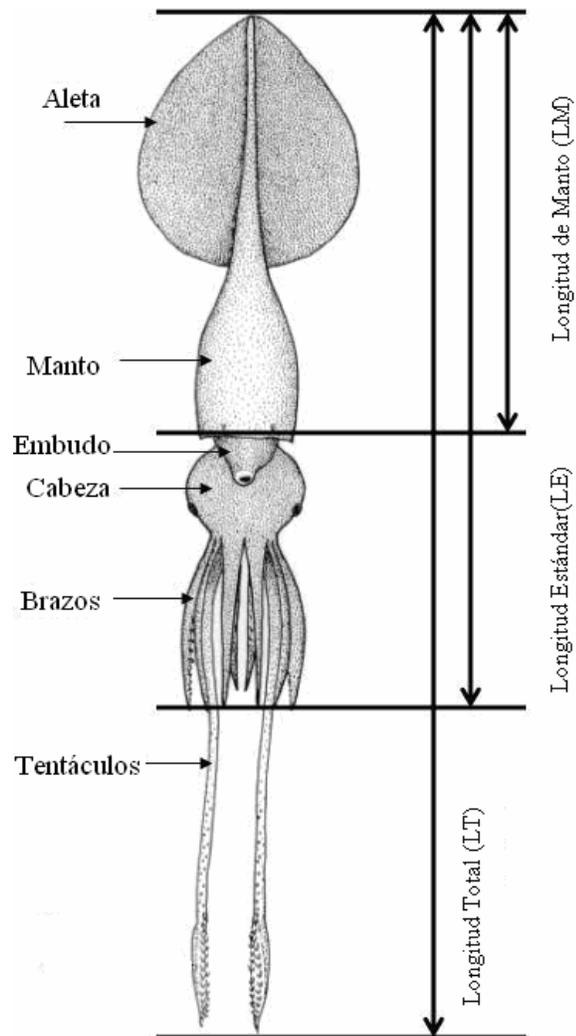
### Aspectos Generales del Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

#### **Biología**

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco que pertenece a la clase Cephalopoda, orden Theuthida, familia Ommastrephidae (Nigmatullin *et al.*, 2001). Es considerado como el invertebrado más grande y veloz que existe en el océano. Presenta un ciclo de vida muy corto, máximo de 2 años, considerándose un organismo de crecimiento rápido que se refleja en un metabolismo acelerado y que se traduce en una intensa actividad enzimática especialmente de tipo proteolítica (Ayensa *et al.*, 2002). Su tamaño es variable, puede alcanzar hasta de 50 kg de masa y una longitud de manto de 1.2 m (Gilly, 2006). Es una especie monocíclica, es decir, presenta un solo período reproductivo durante su ciclo de vida. Su potencial de fecundación es elevado, pudiendo producir hasta 32 millones de huevecillos (Nigmatullin *et al.*, 2001).

Anatómicamente está provisto de dos aletas terminales en forma de rombo (Figura 1), una cabeza ancha en donde se encuentran la boca y los ojos, un sifón ubicado debajo de la cabeza por donde expulsa agua para desplazarse, ocho brazos que en sus extremos distales tienen entre 100 y 200 diminutas ventosas agrupadas, además de dos tentáculos de mayor longitud los cuales utiliza para moverse y capturar a sus presas (FAO, 1995). Su cuerpo tiene forma cilíndrica con 2 branquias, cada una con un corazón además del corazón sistémico, presentando además un sistema nervioso complejo y un sistema visual bien desarrollado.

El calamar gigante es una especie pelágica oceánica que realiza migraciones hacia la costa, mayormente relacionadas con procesos de alimentación y reproducción. Tiene una amplia distribución en el Océano Pacífico Oriental, desde las costas de Oregon en USA hasta las costas de Chile, encontrándose en mayor concentración en el Golfo de California así como en las costas de Perú (ITAM, 2008).



**Figura 1.** Calamar gigante (*Dosidicus gigas*).  
Fuente: Nevarez-Martínez, 2000.

El calamar es un depredador activo y carnívoro oportunista. Se alimenta principalmente de presas vivas, crustáceos, peces pequeños, así como de otros cefalópodos. Cuando la dieta es escasa, puede llegar a practicar el canibalismo, una conducta común dentro de los cefalópodos (Markaida y Sosa, 2003).

### **Pesquería, producción y comercialización**

La pesquería del calamar gigante en el Golfo de California empezó en 1974 a nivel artesanal, las capturas eran reducidas y se destinaban al consumo local (Ehrhardt *et al.*, 1982). La pesca del calamar se concentra en diferentes áreas según la época del año. Desde 1994 ha seguido un patrón estacional definido, esto es, durante los meses de verano (mayo-octubre) se localiza en la región de Santa Rosalía B.C.S., y durante los meses de invierno (noviembre-mayo) en la región de Guaymas Sonora (Markaida y Sosa, 2001).

En la serie histórica de capturas de calamar se ha observado una gran variabilidad, sin conocer a la fecha las causas de ello; sin embargo algunos autores sugieren que puede deberse a cambios en las condiciones ambientales u oceanográficas (Bazzino *et al.*, 2007). En el año de 1998, la captura de calamar fue de 26,611 toneladas, lo que representó una disminución significativa a las 120,877 reportadas para el año anterior, variación negativa atribuida al fenómeno del niño. Por otra parte, de 1999 al 2002 la captura se incrementó en un 100% al pasar de 57,985 a 115,896 toneladas, respectivamente. Es por esto que el Instituto Nacional de Pesca ha considerado la captura de calamar como una pesquería con potencial de desarrollo (CONAPESCA, 2000, 2001, 2003).

En el 2008, la pesquería de calamar se ubicó en el quinto lugar de la escala nacional (después de la sardina industrial, sardina, camarón y atún), contribuyendo con un 4.84% de la producción nacional. En ese año, el volumen y valor de la producción de calamar para consumo humano directo fue de 68,115 ton (peso desembarcado) y 127,669 mil pesos, respectivamente. El 99.93% del volumen de la

producción pesquera nacional de calamar corresponde a entidades del litoral del Pacífico, de las cuales destacan principalmente Baja California Sur (37,151 ton), Sonora (24,149 ton), Baja California (5,378 ton) y Sinaloa (1,039 ton) (CONAPESCA, 2008).

Durante los últimos 9 años, la explotación comercial del calamar gigante en el Golfo de California ha contribuido de manera importante en la economía de la región, teniendo efectos positivos dentro de la industria pesquera, manifestándose en la generación de empleos (Luna-Raya *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de que México es uno de los principales productores de calamar gigante en la escala mundial, la explotación de este recurso presenta un rezago tecnológico desde su captura, debido principalmente a un manejo deficiente del producto desde el barco hasta su procesamiento, presentándose grandes desperdicios, aunado a lo anterior, existe la ausencia de una industria que permita aprovechar al máximo este recurso.

En la actualidad, la industria calamarera aplica al recurso cuatro procesos principales, a partir de los cuales se obtienen los productos mostrados en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Principales procesos de industrialización del calamar y productos obtenidos.

PROCESO	PRODUCTO
Cocido y congelado	• Daruma (manto cocido-sazonado-congelado)
Congelación	• Congelados (manto, cabeza/tentáculos y aleta)
Cocido y secado	• Calamar seco (manto cocido-sazonado-secado)
Reducción	• Harina (desechos de calamar o calamar entero)

*Fuente:* Salinas-Zavala *et al.*, 2005.

La industrialización del recurso está sujeta a la demanda tanto del mercado nacional como internacional. En México, el calamar gigante es una especie poco valorada y con poca aceptación. De la producción total, aproximadamente el 11% se destina al consumo nacional y gran parte de los desechos se utilizan para la

elaboración de dietas para animales de cultivo, aprovechándose solo un mínimo para la alimentación humana directa, mientras que el 89% restante es destinada a la exportación (Salinas-Zavala, 2003). Cabe resaltar que los productos que se exportan son materias primas intermedias dirigidas a otras industrias. Los principales mercados internacionales de calamar mexicano son: Corea del Norte, Japón, Corea del Sur, Hong Kong, Estados Unidos, Chile y España. En estos mercados, las exigencias de normatividad sanitaria para materias primas alimenticias como es el caso de los productos de calamar elaborados en México en general son pocas (Salinas-Zavala *et al.*, 2005).

### **Composición química del músculo de calamar**

La composición química del músculo de calamar puede ser considerada similar a la de los pescados magros; sin embargo presenta variaciones importantes en sus componentes mayoritarios. De esta manera, su humedad varía de 75 a 88%, la proteína cruda de 11 a 15%, los lípidos de 0.1 a 2% y los minerales de 0.9 a 1.9%. Cabe mencionar que del total de proteína cruda, alrededor del 37% lo representan los compuestos nitrogenados no proteicos y que los lípidos del manto están compuestos principalmente por fosfolípidos, conteniendo alrededor de 4% de colesterol (Sikorski y Koodziejska, 1986). Estas variaciones pueden deberse a varios factores como son: el sexo, estado de desarrollo, temporada de captura, sitio de pesca, si fue capturado antes o después de haber desovado, entre otros (Potter, 1978). En estudios realizados por Ezquerro-Brauer *et al.* (2002), se encontró que el manto de calamar capturado en primavera (abril) presentó un mayor contenido de proteína cruda y de cenizas, y un menor contenido de humedad que el calamar capturado en otoño (noviembre).

## Proteínas del músculo de calamar

Después del agua, las proteínas son los principales componentes del músculo de calamar. Las fracciones proteicas presentes en el tejido muscular de calamar se clasifican en función de su localización y solubilidad en: sarcoplásmicas, miofibrilares, e insolubles o del estroma (Cassens, 1994; Pérez *et al.*, 2000). De éstas, las proteínas miofibrilares son las más abundantes constituyendo alrededor del 75-85% del contenido proteico total; éstas son las responsables de la contracción muscular y son solubles en disoluciones de alta fuerza iónica pero insolubles en agua. La fracción miofibrilar está compuesta principalmente por miosina, actina y paramiosina, siendo la miosina la proteína más importante de este grupo, representando alrededor del 50-55% (Pomeranz, 1991) en músculo de pescado.

La molécula de miosina tiene un peso molecular de 521 kDa (Mattil, 1974), posee una estructura  $\alpha$ -helicoidal (Badui, 2006) y está compuesta por 6 cadenas (Balmaceda *et al.*, 1984): dos cadenas pesadas (CPM) idénticas enrolladas entre sí, de 200 a 220 kDa cada una y 4 cadenas livianas (CLM) de aproximadamente 20 kDa cada una (De Moor y Huyghebaert, 1983). En un extremo, cada cadena pesada de miosina presenta una región globular o cabeza, uniéndose dos CLM a cada cabeza. Debido a la funcionalidad que la miosina presenta, es una proteína de gran interés para el área de ciencia y tecnología de alimentos.

La actina representa la segunda proteína miofibrilar de importancia, constituyendo alrededor del 22% de la proteína total del músculo de pescado (Mattil, 1974). Se localiza en los filamentos delgados del sarcómero presentado dos fracciones: la G actina ó actina globular y la F actina ó actina fibrosa; la primera es una proteína de forma esférica con un peso molecular de 45 kDa, la cual consta de 450 aminoácidos aproximadamente; la F actina se produce por la polimerización de la G actina en presencia de  $Mg^{2+}$ , combinándose con la miosina para formar la actomiosina.

Por otra parte, la paramiosina es una proteína característica del músculo de invertebrados constituida por dos cadenas helicoidales con un peso molecular entre 95 y 125 kDa. La concentración de esta proteína es variable dependiendo de la especie, por ejemplo en ostras representa el 3% de la fracción miofibrilar mientras que en calamar representa alrededor del 14% (Ehara *et al.*, 2004). La paramiosina tiene una función estructural estabilizando la orientación de la miosina; se encuentra en los centros de los filamentos gruesos (del sarcómero) de los músculos de invertebrados. Debido a la presencia de esta proteína, los geles de invertebrados son más elásticos y cohesivos que los geles obtenidos a partir de pescado (Kantha *et al.*, 1990). Por otro lado, se ha demostrado que esta proteína está involucrada en la disminución de la tasa de desnaturalización de las proteínas de calamar durante el almacenamiento en congelación (Iguchi *et al.*, 1981).

Las proteínas sarcoplásmicas constituyen alrededor del 10 al 15% del total proteico. Una característica importante de estas proteínas es que presentan actividad proteolítica. En este sentido, se ha evidenciado la presencia de proteasas acidas en el manto de calamar (Sakai y Matsumoto, 1981), así como también, se ha demostrado que enzimas proteinasas provocan la degradación de las moléculas de miosina del músculo de calamar durante el calentamiento a 100°C, sugiriendo que esto puede afectar la calidad de la textura de la carne cocida de calamar (Rodger *et al.*, 1984; Kolodziejaska *et al.*, 1987). Konno *et al.* (2003), determinaron que las enzimas proteolíticas involucradas en la autólisis de calamar (*Dosidicus gigas*) son metaloproteasas. Por su parte, Konno y Fukazawa (1993) exponen que el músculo del manto del calamar común (*Todaroes pacificus*) contiene al menos dos tipos de enzimas proteolíticas: una que rompe la molécula de miosina en meromiosina pesada (MMP) y meromiosina ligera (MML), y otra que rompe la miosina en el subfragmento-1 (S-1) y el tallo.

La fracción estromal incluye a las proteínas del tejido conectivo, fracción constituida principalmente por colágeno y elastina. Estas proteínas tienen la característica de ser insolubles en agua y soluciones acidas o alcalinas de 0.01-0.1M

y en soluciones salinas neutras (Suzuki, 1981). El colágeno es el componente principal de esta fracción proteica variando su proporción dependiendo de la especie y de la parte del cuerpo que se obtenga; así, se ha reportado un contenido de colágeno del 16% para tentáculos del calamar *Illex*, mientras que para el manto de calamar de las especies *Illex* y *Loligo* un 11.1 y 3%, respectivamente (Sikorski y Kolodziejaska, 1986). En general los organismos marinos contienen alrededor de una décima parte del colágeno que contienen los mamíferos y aves (Montero y Borderías, 1999).

### **Propiedades del músculo**

Dentro del grupo de alimentos de origen marino, el calamar destaca por la calidad de su carne. Es una especie de la cual se puede aprovechar hasta un 75%, después de quitarle las vísceras, para consumo humano. Como alimento, el músculo de calamar gigante presenta un alto valor nutritivo, siendo una excelente fuente de proteínas de calidad y de fácil digestión como es la albumina terrestre (Córdova-Murueta y García-Carreño, 2002). Posee un bajo contenido de grasas, además de vitaminas del complejo B y minerales como el fósforo (ITAM, 2008).

Por otra parte, el calamar gigante puede presentar una serie de ventajas tecnológicas con respecto al de pescado, como es su alto rendimiento post proceso, consistencia y sabor suave, además de una carne muy blanca (Klett, 1996). La textura del manto de calamar se ha considerado como un atributo de calidad que influye en la demanda de este recurso. Considerando las propiedades antes mencionadas y sumando el hecho de que el calamar se encuentra en gran abundancia en los litorales mexicanos, este recurso representa una alternativa atractiva para ser utilizado como materia prima para la elaboración de productos con presentaciones acordes con la demanda internacional (Salinas-Zavala *et al.*, 2005).

## Calidad Tecnológica-Funcional del Músculo de Calamar Gigante

Las propiedades funcionales se definen como los atributos presentados por los componentes propios del alimento o añadidos, que en proporciones y condiciones adecuadas confieren al alimento características sensoriales y reológicas deseables. En este sentido, las proteínas son los principales componentes funcionales de la carne cruda, procesada y de los productos cárnicos (Kijowski, 2001). Por otro lado Pour-Ei, 1981 define la funcionalidad de una proteína como cualquier propiedad no nutricional que condiciona su utilidad en un alimento.

Es de importancia mencionar que las proteínas manifiestan su funcionalidad al interactuar con otros componentes alimenticios como lípidos, azúcares, polisacáridos, diversos componentes minoritarios, iones y solventes. La funcionalidad de una proteína depende de sus propiedades físicas y químicas como son: el tamaño, forma, composición y secuencia de aminoácidos, carga neta y distribución de cargas, estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, hidrofobicidad e hidrofiliidad y grado de flexibilidad-rigidez. Por otro lado, la funcionalidad de un sistema proteico dependerá también del alimento elaborado y de las características fisicoquímicas deseadas (Fenemma, 1996). De acuerdo con Borderías y Montero (1988), las propiedades funcionales de las proteínas se pueden agrupar en tres categorías de acuerdo al tipo de interacciones que prevalezcan. Por una parte están las propiedades de hidratación, en las que predominan las interacciones proteína-agua (solubilidad y capacidad de retención de agua). Por otro lado están las propiedades reológicas, en las que predominan las interacciones proteína-proteína (capacidad gelificante). Por último, están las propiedades tensoactivas o de superficie (capacidad emulsificante y espumante).

A continuación se describen las propiedades funcionales consideradas de mayor importancia para el presente trabajo.

## Solubilidad

Entre las propiedades funcionales de las proteínas, la solubilidad es de primordial importancia por su influencia sobre otras propiedades tal como en la formación de emulsión, espuma y en la gelificación (Halling, 1981; Vodjani, 1996). La solubilidad de las proteínas se define como el porcentaje de proteína contenida en un alimento, que puede ser extraída con agua o con solución salina en condiciones específicas (Sikorski, 2001). Dicha solubilidad está controlada por el balance entre las fuerzas intermoleculares repulsivas y atractivas. Las proteínas son solubles en agua cuando las fuerzas repulsivas electrostáticas son mayores que las interacciones hidrofóbicas atractivas (Boye *et al.*, 1997). Esto es, las interacciones hidrofóbicas promueven la asociación proteína-proteína disminuyendo la solubilidad, mientras que las iónicas promueven las interacciones proteína-agua aumentando la solubilidad. Ésta se ve influenciada por propiedades físico-químicas tanto intrínsecas como extrínsecas, tales como pH, fuerza iónica, temperatura, así como por la presencia de disolventes orgánicos (Fenemma, 1996).

Las variaciones de pH modifican la ionización y la carga neta de la molécula proteica, alterando las fuerzas atractivas y repulsivas entre las proteínas y la aptitud de éstas a asociarse con el agua (Borderías y Montero 1988). En el punto isoeléctrico (pI), la solubilidad de las proteínas disminuye, debido a que las cargas negativas y positivas se igualan, lo que provoca su asociación mediante enlaces iónicos e interacciones hidrofóbicas. A pH por encima o por debajo al pI, las proteínas adquieren un incremento en su carga neta negativa o positiva (dependiendo del pH al que se lleve), generando nuevos sitios de unión para el agua y provocando una repulsión entre las moléculas proteicas; todo esto incrementa su superficie de hidratación y por lo tanto su solubilidad (Lin y Chao, 1998).

La solubilidad de las proteínas también es afectada por el tipo y concentración de iones presentes en el medio. Las proteínas miofibrilares muestran un aumento en la solubilidad (salting-in) a concentraciones de iones bajas (0.5 a 1M), ya que los

iones reaccionan con las cargas de las proteínas reduciendo la atracción electrostática entre las cargas opuestas de grupos vecinos. Si la concentración de las sales es superior a 1M, la solubilidad de las proteínas disminuye hasta llegar a la precipitación (salting-out), ya que se establece una competencia entre la proteína y los iones salinos por las moléculas de agua necesarias para su solubilización (Borderías y Montero, 1988). Por otra parte, la temperatura también tiene un efecto sobre la solubilidad de las proteínas. A temperaturas elevadas, las moléculas proteicas se desnaturalizan, promoviendo la interacción de los grupos hidrofóbicos entre las proteínas y disminuyendo los grupos polares capaces de interactuar con el agua y los enlaces de hidrógeno, provocando una disminución de solubilidad y por ende su precipitación (Borderías y Montero, 1988).

En músculo de pescado, la capacidad de solubilización de las proteínas es compleja debido a su interacción con otros componentes del tejido muscular (Shen, 1981). De acuerdo a Matsumoto (1958), en músculo de calamar, la cantidad de proteínas solubles en agua cambia con la proporción de agua/músculo, y de la repetición de la extracción. Sugiere además que no existe una cantidad definida de fracción soluble en agua en el músculo, sino que esta cantidad cambia dependiendo de las condiciones de extracción.

### **Gelificación térmica**

Se entiende por gelificación a la agregación de moléculas desnaturalizadas para formar una red proteica tridimensional ordenada. Un gel se define como un sistema semisólido de alta viscosidad que se forma como consecuencia de la asociación de cadenas de polímeros dispersos en solución, dando lugar a una red tridimensional que inmoviliza el agua del sistema, impidiendo su flujo cuando se aplica una fuerza externa (Flores y Bermell, 1986 ).

Un gel proteico es el resultado del equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y proteína-solvente además de las fuerzas de atracción y repulsión de las cadenas polipeptídicas próximas entre sí (Clark y Lee, 1986). Entre las fuerzas de atracción se encuentran fundamentalmente las interacciones hidrofóbicas (maximizadas a temperaturas elevadas), electrostáticas (puentes  $\text{Ca}^{++}$  y otros iones disolventes), puentes de hidrógeno (maximizados por las temperaturas de refrigeración) y los puentes disulfuro. El grado de contribución de estas fuerzas varía dependiendo de la naturaleza de la proteína, del medio y de las diversas etapas del proceso de gelificación. Las repulsiones electrostáticas y las interacciones agua-proteína tienden a separar las cadenas polipeptídicas, siendo esta la principal razón que a valores de pH alejados del punto isoeléctrico se forman geles débiles, debido a que la carga neta elevada ocasiona que las moléculas se repelan impidiendo la formación de un gel ordenado. Por otro lado, las interacciones proteína-proteína tienden a mantener la malla que determina el gel, por lo que a mayor concentración de proteína se favorece la formación del gel (Borderías y Montero, 1988).

El proceso de gelificación comprende dos etapas sucesivas. La primera consiste en la desnaturalización parcial de las cadenas proteicas, donde los grupos funcionales son expuestos. La segunda consiste en la agregación gradual de los polipéptidos para formar la red o matriz tridimensional responsable de la estructura del gel (Kinsella, 1984). Cuando la etapa de agregación es lenta en relación a la de desnaturalización, se favorece la formación de un gel homogéneo y resistente (Schmidt, 1981).

La capacidad gelificante de las proteínas miofibrilares es una propiedad de gran importancia en la elaboración de productos cárnicos. De las proteínas miofibrilares, la miosina juega un papel esencial en la gelificación, siendo la cadena pesada de miosina la principal responsable de dicho proceso (Montero y Gómez-Guillén, 1996). La longitud de la molécula proteica es un factor importante en la formación del gel. Cuando la longitud de la miosina se reduce mediante la actividad de proteinasas, la capacidad de gelificación se ve disminuida. Otras proteínas miofibrilares como la

actina, proteínas reguladoras y proteínas citoesqueléticas, no tienen la propiedad de formar geles; sin embargo, estas influyen en las propiedades viscoelásticas de los geles de miosina (Ramírez *et al.*, 2000).

Algunos autores exponen que las proteínas del músculo de calamar presentan poca capacidad gelificante. Hecho que atribuyen a la degradación proteolítica de la miosina durante el intervalo de la captura y congelación, así como durante su cocción (Gómez-Guillén *et al.*, 1996, 1997; Gómez-Guillén y Montero, 1997). En contraparte con estos autores, Ramírez-Suárez *et al.* (2008), demostraron que con un adecuado manejo post-captura en las diferentes etapas de comercialización (evisceración, refrigeración y transporte) se mantiene la integridad y funcionalidad de las proteínas del músculo de calamar hasta por 15 días de enhielado. Concluyendo, que con un manejo adecuado, el músculo de calamar gigante puede ser utilizado como una buena materia prima para la elaboración de productos gelificados con valor agregado. Estos últimos autores sugieren que la textura débil de los geles de calamar se puede deber al bajo contenido de proteína en el músculo.

### **Capacidad de retención de agua (CRA)**

La capacidad de retención de agua es un parámetro físico-químico importante por su contribución a la calidad de la carne (Wierbicki *et al.*, 1957; Hamm, 1960) y la de sus productos derivados. Las propiedades reológicas de los alimentos dependen en gran medida del contenido de agua en el medio y de la capacidad de las proteínas de interactuar con ella. En general, las proteínas no son funcionales en ausencia de agua. Existen dos conceptos relacionados con la propiedad de retención de agua: la absorción de agua o humectabilidad y la capacidad de ligar agua. El primero de ellos se define como la propiedad que permite apreciar el poder de absorción del agua por polvos proteicos. El segundo, se refiere al agua retenida por una proteína después de filtrarla y aplicarle una presión o fuerza centrifuga, y es en relación con

este segundo concepto al que normalmente se refiere la capacidad de retención de agua (Borderías y Montero, 1988).

Los cambios que se presentan en la capacidad de retención de agua afectan al agua que se denomina “inmovilizada”, no teniendo ninguna relación con el agua constitucional (fuertemente ligada a grupos específicos de la molécula o ubicada en regiones intersticiales) así como tampoco con el agua de interface (Hamm, 1960,1986). Cabe aclarar que el término “agua ligada” incluye tanto el agua constitucional como el agua de interface próxima a las proteínas, mientras que el resto de las fracciones se consideran agua inmovilizada (Flores y Bermell, 1984).

La capacidad de retención de agua es causada por la inmovilización de agua de los tejidos en el sistema miofibrilar (Hamm, 1981). En el músculo, aproximadamente el 70% de agua se encuentra retenida ya sea dentro o entre las miofibrillas, un 20% en el sarcolema y un 10% entre grupos de células musculares. Los cambios que se presentan en la capacidad de retención de agua de carnes durante su almacenamiento y procesamiento, dependen del grado de inmovilización del agua no ligada (alrededor del 95%) dentro de la microestructura del tejido (Flores y Bermell, 1984). Por lo tanto, la cantidad de agua retenida depende del arreglo molecular espacial de las proteínas miofibrilares (miosina y actina) (Pomeranz, 1991). Por otra parte, cambios en la CRA son un indicador muy sensible de los cambios en la estructura de las proteínas miofibrilares, por lo que se cree que la desnaturalización de las proteínas disminuye la CRA (Hamm, 1972; Honikel *et al.*, 1986).

La CRA de las proteínas está relacionada con la textura, ternura y color de la carne cruda, así como con la jugosidad y firmeza de la carne cocinada. Esta propiedad funcional varía dependiendo del tipo de proteína y su concentración, del pH, temperatura, fuerza iónica y de la presencia de carbohidratos, lípidos y sales, que intervienen en las interacciones proteína-agua, así como también de las condiciones previas al proceso, como el calor, tratamiento con álcalis, etc. (Borderías y Montero, 1988; Sikorski, 2001).

La CRA de las proteínas cárnicas es muy baja a pH 5 (alrededor del punto isoeléctrico). Para elevar la CRA de las carnes se acostumbra añadir fosfatos, sal, picar y emulsionar. La finalidad de esto es, aumentar el espacio que ocupan las proteínas miofibrilares para que liguen más agua. La adición de cloruro de sodio en concentraciones de 3-4% mejora esta propiedad a un pH por encima del punto isoeléctrico, aunque disminuye por debajo de éste. La capacidad de retención de agua se ve favorecida por los puentes de hidrógeno que se forman entre grupos polares no ionizados y el agua (Borderías y Montero, 1988).

## **Emulsificación**

La capacidad emulsificante es considerada como una propiedad funcional de superficie. Esta propiedad está relacionada con la capacidad que tienen las proteínas para disminuir la tensión superficial entre las fases hidrofílica e hidrofóbica de un alimento, debido a su naturaleza anfifílica, migrando espontáneamente a la interface agua-aire o agua-aceite (Borderías y Montero, 1988).

Una emulsión es una dispersión de dos líquidos inmiscibles, uno en forma de pequeñas gotas dispersas en el otro (fase continua ó dispersante). La función de las proteínas en las emulsiones es la de formar una película entre la fase acuosa (polar) y grasa (apolar). La capacidad de interconectar estas dos fases es determinante para la formación y estabilización de la emulsión. Para que esto ocurra, la proteína se desdobla, tendiendo a establecer un nuevo equilibrio termodinámico, orientando sus grupos apolares a la fase grasa y los polares a la acuosa (Borderías y Montero, 1988). La solubilidad de las proteínas es importante para la formación de las capas entre las fases, ya que se necesita una migración rápida a la interface así como de una adsorción rápida entre ellas (fases). Una emulsión es intrínsecamente inestable de modo que con el tiempo, las gotas de la fase dispersa tienden a atraerse hasta que poco a poco pueden romper la emulsión provocando una separación de las fases (Hill, 1996). La inestabilidad de las emulsiones depende principalmente de 3

fenómenos: de la gravedad, de la floculación de las partículas de la fase dispersa y de su coalescencia (Borderías y Montero, 1988).

Las emulsiones en alimentos pueden ser de agua en aceite, como las margarinas; o de aceite en agua, como la leche (Badui, 2006). Para que una emulsión alimentaria sea estable, es importante que las proteínas confieran una alta viscosidad a la interface, ya que esto determina la velocidad con que los glóbulos adyacentes se pueden aproximar. Asimismo, factores estéricos (de espacio) y electrostáticos, retardan la aproximación de unos glóbulos a otros. La capacidad emulsificante de las proteínas está influenciada por el pH; así, cerca del punto isoeléctrico de las mismas, su solubilidad disminuye considerablemente, lo cual provoca que la proteína se repliegue y no tenga suficiente elasticidad para favorecer la emulsión. Otro factor que influye en la formación de emulsiones es la fuerza iónica, ya que los aniones mejoran la capacidad de emulsión debido a que favorecen el desdoblamiento de las moléculas, incrementándose de esta forma el área efectiva que interaccionará en interface (Borderías y Montero, 1988). Además de estos factores, existen otros que tienen un papel decisivo en el poder emulsificante, como son la temperatura, volumen de aceite, presencia de oxígeno etc.; sin embargo no se profundizará sobre ellos.

### Productos Cárnicos Procesados

El procesado de la carne tuvo origen en los tiempos prehistóricos. Siendo el salado y el ahumado unas de las prácticas más antiguas realizadas con el objetivo de preservar la carne mediante la inhibición de microorganismos. Al avanzar las tecnologías de conservación, como la refrigeración y el envasado, los procesadores de carne experimentaron otras formas de conservación utilizando niveles bajos de sal, nuevos condimentos y combinaciones de ingredientes cárnicos, obteniendo así una gran variedad de nuevos productos procesados.

Se definen como productos cárnicos procesados aquellos en los que las propiedades de la carne fresca son modificadas mediante el uso de uno o más procedimientos, como son el picado, la adición de condimentos, modificación del color o tratamiento térmico (Forrest *et al.*, 1978). Dentro de este tipo de productos están los embutidos ya sea crudos o cocidos, como salchichas, jamones, tocinos, productos reestructurados, productos enlatados, etc. (Claus *et al.*, 1994).

### **Productos embutidos**

Los embutidos son productos elaborados a partir de carne picada y condimentada, introducida a presión en tripas naturales o artificiales dándole normalmente una forma simétrica. Las características como sabor, textura, forma e incluso el nombre de muchos de los productos embutidos que hoy conocemos han sido impuestas conforme a su lugar de procedencia (Rust, 1994). Los embutidos difieren sobre todo en la presentación, condimentación y en los métodos de procesamiento utilizados para su elaboración. El sistema de clasificación del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés) clasifica a los embutidos basándose en seis características que incluyen si el producto está fresco, curado, cocido, ahumado, fermentado y seco.

De la clasificación de embutidos antes mencionada, son de particular interés para este estudio los embutidos cocidos, los cuales son definidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-122-SSA1-1994 como productos cárnicos curados, emulsionados y cocidos, elaborados con carne de una o más especies, vísceras y otros subproductos comestibles de los animales autorizados, los que además pueden ser sazonados, ahumados o no. Los productos genéricos correspondientes son: salchichas, pasteles, mortadelas, salchichones, bolognas, patés, galantinas y otros productos sujetos al mismo proceso.

Para la elaboración de estos productos pueden utilizarse diferentes fuentes cárnicas como res, puerco, cordero, pollo, pavo y/o pescado. En la industria pesquera existe el reto de lograr un aprovechamiento integral de especies marinas y de agua dulce con bajo valor comercial y poca aceptación en el mercado (Martín y González, 1984). No obstante, estas especies, como el calamar, pueden constituir una excelente fuente de proteína animal para ser utilizada en la elaboración de productos embutidos. Cabe mencionar que los primeros embutidos de pescado procesados a nivel industrial fueron la salchicha y el jamón. En general, los embutidos emulsificados de pescado presentan textura blanda y un alto contenido de humedad (Tanikawa, 1985). En tiempos pasados, la elaboración de embutidos se consideraba un arte, hoy en día tiene bases científicas generando día a día nuevos conocimientos (Rust, 1994).

### **Emulsiones cárnicas**

El término “emulsión” se utiliza para describir a los productos cárnicos en los que la grasa está finamente dispersa dentro de una matriz de proteína cárnica.

Los productos cárnicos finamente picados (emulsionados) se describen como una mezcla compleja de tejido muscular, partículas de grasa, agua, especias y proteínas solubilizadas que se mantienen juntas por diversas fuerzas de atracción. Las proteínas miofibrilares solubles en NaCl, miosina y actinmiosina, son de gran importancia como componentes estructurales mayoritarios en los embutidos tipo emulsión. Éstas forman una película proteica interfacial alrededor de los glóbulos de grasa, donde los grupos hidrofílicos se orientan hacia el agua y los hidrofóbicos hacia la fase grasa (Varnam y Sotherland, 1998). Una vez que las partículas de grasa se envuelven de proteína se forma la emulsión.

Para que una emulsión cárnica sea estable se requiere entre otros factores, reducir el tamaño de partícula de la grasa y de la carne, extraer y dispersar las proteínas miofibrilares de las estructuras celulares, y reducir al mínimo el grado de

desnaturalización de las proteínas miofibrilares durante el picado para asegurar la emulsificación de los glóbulos de grasa antes de la cocción. Estos tres requerimientos principales dependen directamente del proceso de picado y tienen un impacto sobre el rendimiento y la calidad final del producto (Allais *et al.*, 2004; Jones y Mandigo 1982). Otros factores importantes del proceso de picado son el tiempo y la temperatura. La duración del picado puede ser entre 2 y 10 min siempre y cuando la temperatura se mantenga baja. La emulsión puede prepararse a temperaturas de -4 a +26°C sin provocar grandes variaciones en la estabilidad de la emulsión final, esto, si la mezcla se enfría a menos de 3°C antes de agregar la grasa.

Algunos factores que afectan la estabilidad de las emulsiones cárnicas son: la capacidad de retención de agua de la carne, el pH, la fuerza iónica, el tratamiento mecánico incluyendo el orden de adición de los ingredientes, el tratamiento térmico, el punto de fusión y la integridad de la membrana celular de los lípidos, el contenido de proteína, y las interacciones proteína-proteína, proteína-agua y proteína-lípidos (Schut, 1976). Si la emulsión es inestable, durante la cocción habrá una mayor separación de agua y de grasa, lo cual, reducirá tanto el rendimiento como la calidad del producto final provocando pérdidas económicas y rechazo de los consumidores.

Por lo anterior, los sistemas emulsificados deben ser estabilizados para evitar la separación de la grasa y el agua durante la cocción. La teoría de la emulsión propone que en los productos no cocidos, las proteínas miofibrilares son atraídas y concentradas en la superficie de los glóbulos grasos, formando una membrana estabilizante. Se cree que como resultado de las fuerzas de fricción producidas durante el picado se forma una capa delgada de grasa fundida en la superficie del glóbulo graso donde se adsorbe la miosina desnaturalizada. En productos cárnicos cocidos basados en una emulsión, los glóbulos de grasa son rodeados por una capa de proteína interfacial, la cual participa en la estabilización durante la cocción. Esta película proteica sufre cambios considerables durante la cocción formando pequeños poros por donde exuda la grasa, permitiendo así su expansión térmica, manteniendo durante todo este proceso su integridad (Varnam y Sotherland, 1998).

Para la elaboración de emulsiones cárnicas se utilizan proteínas de origen animal (cárnicas) y proteínas no cárnicas. El cerdo, es la carne mas habitualmente utilizada. Sin embargo, en los últimos años se han utilizado otras fuentes cárnicas alternativas como la de res, ave, cordero y pescado (Mittal, 2005). La carne mecánicamente recuperada también es utilizada en algunas formulaciones, especialmente en las que contienen carne de ave. En productos cárnicos emulsionados, es común el uso fosfatos, sales como el citrato sódico y el lactato, con el fin de mejorar la ligazón; sin embargo en algunos países su uso está restringido. Por otro lado, la leche en polvo y las proteínas del suero pueden ser utilizadas con este mismo propósito. Para que las salchichas al ser cocinadas tengan ese color rosado característico se utiliza el nitrato sódico, el cual también es utilizado como conservador; en algunos países se permite el uso de antioxidantes para este mismo fin (Varnam y Sotherland, 1998).

Los parámetros de funcionalidad en estos productos están directamente relacionados con las características de las moléculas proteicas como son el tamaño, configuración y composición de aminoácidos. Las proteínas miofibrilares son las principales responsables de conferir propiedades funcionales en las emulsiones cárnicas, considerada la miosina como el principal agente emulsificante. Por otra parte, las proteínas sarcoplásmicas y estromales desempeñan un papel importante en la estabilidad de la emulsión y textura del producto terminado (Mittal, 2005).

### Desarrollo de Nuevos Productos

La dieta que prevalece en los países industrializados se caracteriza por tener un exceso de alimentos energéticos, ricos en grasas y azúcares, pero deficiente en carbohidratos complejos que forman la mayor parte de la fibra dietética (Aleson-Carbonell *et al.*, 2005). Se ha encontrado una relación entre el consumo de dietas con alto valor calórico y la aparición de una serie de enfermedades crónicas, como el

cáncer de colon, obesidad, enfermedades cardiovasculares y otros trastornos (Kaefenstein y Clugston, 1995).

Hoy en día, los consumidores están cada vez más interesados en consumir alimentos que mejoren su calidad de vida y aunque la dieta no es el único factor que determina la salud y el bienestar, pero es sin duda el más importante. Así, existe una creciente demanda de alimentos seguros y saludables (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2003). Esta tendencia ha traído consigo el concepto de alimentos funcionales, los cuales son diseñados con el propósito de promover la salud física y mental, así como para reducir el riesgo de enfermedades crónicas (Fernández-Ginés *et al.*, 2005). En el desarrollo de este tipo de alimentos, es común la incorporación de ingredientes que contengan grupos funcionales, los cuales según Goldberg (1994) incluyen: fibra dietaria, oligosacáridos, azúcares, aminoácidos, péptidos y proteínas, glucósidos, alcoholes, lípidos isoprenoides y vitaminas, colinas, bacterias ácido lácticas, minerales, ácidos grasos insaturados y otros productos como los antioxidantes (Borderías *et al.*, 2005).

La fibra dietaria es uno de los ingredientes frecuentemente utilizados en el diseño de alimentos nutricionales y funcionales (Puupponen-Pimä *et al.*, 2002). Según la American Association of Cereal Chemists (AACC), la fibra dietaria se define como la fracción comestible de las plantas y los carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietaria incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias vegetales asociadas. Históricamente, la fibra ha sido clasificada en base a su solubilidad en agua como soluble e insoluble. La fibra insoluble está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Ejemplos de ésta son la fibra de avena y la de trigo. La fibra soluble consiste principalmente de gomas, polifruktosa, pectinas y mucilagos, teniendo como ejemplo la fibra de frutas y el salvado de avena. Una manera más subjetiva de clasificar a la fibra, lo es según el nivel de procesamiento o extracción a

la que fue sometida respecto al sustrato original, clasificándose en nativa o refinada (Bodner y Sieg, 2009).

Desde mediados de la década de 1970, el interés en la función de la fibra dietaria en la salud y en la nutrición, ha promovido una amplia gama de investigaciones (Abdul-Hamid y Luan, 2000). Varios reportes publicados indican que el incremento de la ingesta de fibra está relacionado con numerosos beneficios a la salud, incluyendo la disminución del riesgo de enfermedades coronarias, diabetes, obesidad, y algunas formas de cáncer (Mann y Cummings, 2009). La incorporación de fibra dietaria en alimentos conlleva a la reducción de su contenido calórico, al disminuir el contenido de colesterol y grasas en los mismos; aunado a esto, la incorporación de fibra en alimentos de consumo frecuente (por ejemplo productos cárnicos, lácteos y de panadería) podría ayudar a superar el déficit de fibra (Borderías *et al.*, 2005). De acuerdo con las recomendaciones actuales del Consejo de Alimentación y Nutrición de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos (FNB por sus siglas en inglés), la ingesta diaria de fibra recomendada para mujeres menores y mayores de 50 años es de 25 y 21 g, respectivamente; mientras que para hombres menores y mayores de 50 años es de 38 y 30 g, respectivamente. La mayoría de los nutriólogos recomiendan que del 20 al 30% de la ingesta diaria de fibra, debe provenir de fibras solubles (Elleuch *et al.*, 2010).

Algunas fibras solubles como el salvado de avena y el salvado de cebada han demostrado tener la habilidad para disminuir los niveles de lípidos en sangre. Sin embargo, el salvado de trigo, al igual que otras fibras insolubles, han sido relacionados con propiedades laxantes (ADA, 2008). En este sentido, es importante mencionar que las fibras cítricas son de mejor calidad que otras fibras dietarias, debido a la presencia de compuestos bioactivos (flavonoides, polifenoles, carotenos, etc.) asociados con propiedades antioxidantes, los cuales tienen un mayor efecto sobre la salud que la fibra dietaria por sí sola (Nagy y Attaway, 1992; Marín *et al.*, 2002).

## Funcionalidad Tecnológica de la Fibra Dietaria

La fibra dietaria, como ingrediente alimentario, además de poseer propiedades nutricionales y funcionalidad fisiológica, también presenta funcionalidad tecnológica. Ésta dependerá de la cantidad y la naturaleza de la fibra utilizada. La incorporación de fibra dietaria a productos alimenticios (por ejemplo productos cárnicos, lácteos, de panadería, mermeladas, sopas) puede modificar sus propiedades de textura, evitar la sinéresis (separación de agua de un gel causada por contracción), estabilizar emulsiones y/o productos altos en grasa, así como mejorar la vida de anaquel de los mismos, entre otras cosas (Elleuch *et al.*, 2010).

Dentro de las principales propiedades funcionales de algunas fibras se encuentran las siguientes:

### **Solubilidad**

La naturaleza soluble e insoluble de la fibra dietaria implica diferencias en la funcionalidad tecnológica de la misma (Jiménez-Escrig y Sánchez-Muñiz, 2000). Así, la fibra soluble en comparación con la fibra insoluble, proporciona mayor viscosidad, presenta capacidad gelificante y emulsificante, no afecta el sabor ni la textura y es más fácil de incorporar en bebidas y en alimentos procesados. Las algas marinas y los subproductos de frutas, son las fuentes mayores de fibra soluble seguidas de frutas, hortalizas y cereales (Elleuch *et al.*, 2010).

### **Propiedades de hidratación y de unión de grasa**

Dentro de las propiedades de hidratación de la fibra dietaria se incluyen: la absorción de agua, la capacidad de retención de agua y la hinchazón. Dichas propiedades se encuentran relacionadas con la estructura química de los polisacáridos componentes de la fibra, además de otros factores tales como la porosidad, el tamaño de partícula, la fuerza iónica, el pH, la temperatura y el tipo de

iones en solución. Las fibras provenientes de algas (p. ejem., *Laminaria digitata*) presentan mayor afinidad por el agua y por el aceite que las fibras de productos derivados de la obtención de jugo de frutas, siendo las derivadas de cereales las que presentan la menor afinidad. Las propiedades de hidratación de la fibra aumentan con la temperatura. De acuerdo con Fleury y Lahaye (1991), éste incremento probablemente esté relacionado con el aumento de la solubilidad de la fibra. Las variaciones en la fuerza iónica modifican la afinidad de la fibra por el agua, esto es, la pérdida de cargas disminuye la repulsión electrostática entre polisacáridos dando como consecuencia una menor afinidad de la fibra por el agua y disminuyendo la presencia de polisacáridos con carga (Bertin *et al.*, 1998).

Desde el punto de vista tecnológico, la capacidad de retención de agua es la más importante (Borderías *et al.*, 2005). Las fibras con alta capacidad de retención de agua pueden ser utilizadas como ingredientes funcionales para evitar la sinéresis y modificar la viscosidad y textura de algunos alimentos formulados (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999).

Aunado a las propiedades de hidratación, algunas fibras poseen la capacidad de absorber aceite. Esta propiedad puede definirse como la cantidad de aceite retenido por la fibra después de someterse a operaciones como el mezclado y centrifugación. La capacidad de absorción de aceite de algunos derivados de cereales, por ejemplo el salvado de trigo, está relacionada principalmente a las propiedades de superficie de las partículas del salvado (Caprez *et al.*, 1986); no obstante, puede estar limitada a la densidad de cargas y la naturaleza hidrofílica de los constituyentes (por ejemplo el alginato y fucano de algas) (Feury y Lahaye, 1991). Tecnológicamente, las fibras que presentan alta capacidad de absorción de aceite pueden ser utilizadas para la estabilización de emulsiones y de productos altos en grasa (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999).

## Viscosidad

La viscosidad, o resistencia al flujo, es definida como la relación entre el esfuerzo cortante ( $T$ ) y la tasa de corte ( $\dot{\gamma}$ ). La mayoría de los polisacáridos en solución presentan flujo no-Newtoniano, esto es que al incrementar la tasa de corte la viscosidad puede aumentar o disminuir (Sanderson, 1981). Las fibras solubles en agua son los principales componentes que pueden incrementar la viscosidad de una solución (Abdul-Hamid y Luan, 2000; Olson *et al.*, 1987). Abdul-Hamid y Luan (2000), demostraron que la baja viscosidad del salvado de arroz desgrasado se debe a que solo contiene un 9% de fibra soluble. La viscosidad incrementa a medida que incrementa la concentración de fibra. En este sentido, Elleuch *et al.* (2008) observaron un aumento en la viscosidad de suspensiones de fibra dietaria de dátil al incrementar la concentración de fibra. Algunos autores han reportado que suspensiones de fibras de durazno y de dátil presentan un comportamiento pseudoplástico, es decir, que su viscosidad aparente disminuye instantáneamente al incrementar la tasa de corte (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Elleuch *et al.*, 2008).

Las fibras como la pectina, las gomas,  $\beta$ -glucanos y polisacáridos extraídos de algas, forman soluciones altamente viscosas. Así, cabe señalar que las gomas son las sustancias más utilizadas como agentes espesantes en alimentos (Gallaher y Schneeman, 2003).

## Capacidad gelificante

Varias fibras solubles como la carragenina (iota: *i*-carragenina y kappa: *k*-carragenina) y pectinas, entre otras, poseen la capacidad de formar geles. La capacidad gelificante de una fibra y las características del gel formado dependen de varios factores incluyendo la concentración, temperatura, presencia de cierto tipo de iones y del pH. En un estudio realizado por Pérez-Mateos *et al.* (2001) observaron

que la k-carragenina presentó un efecto sinérgico al ser administrada junto con otros hidrocoloides, mejorando la capacidad gelificante de geles de pescado.

### **Propiedades antioxidantes**

En general, los polisacáridos no-amiláceos poseen propiedades antioxidantes. Varias fracciones de polisacáridos del salvado de arroz ofrecen protección contra el radical superóxido, radicales libres hidroxilos, peroxidación lipídica, además de presentar potencial quelante sobre iones ferrosos (Zha *et al.*, 2009). Así, Nair *et al.* (1987) encontraron que las pectinas tienen la capacidad de combinarse *in vitro* con iones bivalentes como el hierro, calcio, cobre y zinc. Mientras que fibras como la inulina y la oligofructosa no presentan esta capacidad quelante (Gallaher y Schneeman, 2003). Por lo antes mencionado, la utilización de fibras con alta actividad antioxidante, como ingredientes alimentarios, puede permitir la estabilización de productos alimenticios grasos, mejorando su estabilidad oxidativa y prolongando con ello su vida útil. Estos productos adicionados con fibra presentan numerosas propiedades como: capacidad de retención de agua, capacidad de unión de grasa, viscosidad y propiedades antioxidantes.

### **Propiedades texturizantes**

La incorporación de ciertas fibras ofrece una alternativa para modificar o estabilizar la textura de ciertos productos alimenticios, como son productos cárnicos, lácteos, de panadería, mermeladas, sopas, entre otros. Los mejores resultados se han obtenido con fibras constituidas principalmente de celulosa, como la de papa, trigo, avena, o las de cítricos. A diferencia de estas fibras, la inulina no presenta capacidad texturizante, debido a la corta dimensión de sus cadenas moleculares (Bodner y Sieg, 2009).

## Otras propiedades

Entre estas, se tiene la capacidad de la fibra a ser fermentada en diferentes grados, dependiendo del tipo de fibra. Por ejemplo, la celulosa es fermentada muy poco, al contrario de la pectina, la cual es totalmente fermentable (Gallaher y Schneeman, 2003).

Otras propiedades importantes que la fibra presenta son la capacidad de modificar el sabor, controlar la cristalización de azúcares y estabilizar productos congelados. Además posee la capacidad de prevenir la deformación y el encogimiento de productos reestructurados durante el cocinado (Borderías *et al.*, 2005).

### Estudios Previos con Productos Pesqueros Adicionados con Fibra Dietaria

Los pescados y mariscos, además de poseer un alto valor nutricional se consideran alimentos tecnológicamente funcionales. El interés de la fibra dietaria en productos pesqueros no solo se centra en razones nutritivas sino también en la función tecnológica que algunos tipos de fibra puedan proporcionar (Borderías *et al.*, 2005).

Existe información limitada sobre la utilización de fibra dietaria en productos pesqueros, ya que la mayoría de los trabajos han sido realizados en productos cárnicos.

La mayoría de las fibras utilizadas en previas investigaciones tecnológicas con productos pesqueros son altamente solubles y provienen de algas como las carrageninas (Borderías *et al.*, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1996) o de semillas como el garrofin, xantano, guar y otras (Montero *et al.*, 2000). Estas fibras han sido seleccionadas por sus propiedades funcionales, tales como una elevada capacidad de retención de agua, capacidad emulsificante y gelificante, etc. En este sentido, la í-

carragenina ha sido utilizada en la elaboración de geles, ya que mejora las propiedades de textura (dureza, elasticidad y cohesividad) de los mismos. Ésta actúa formando redes finas que conectan estructuras adyacentes dentro del gel, teniendo una función de apoyo a la estructura principal del gel, formada por las proteínas musculares (Montero y Gómez-Guillén, 1996).

En estudios realizados por Llanto *et al.* (1990), encontraron una mayor capacidad gelificante en surimi de Alaska pollack con la adición de  $\lambda$ -carragenina, hecho que atribuyeron a la interacción de los grupos sulfato de la carragenina con las proteínas miofibrilares. Sin embargo, las fibras solubles pueden llegar a provocar una pérdida de rigidez y elasticidad en geles de proteínas musculares debido a su alta capacidad para retener agua (Borderías *et al.*, 2005). Razón por la cual su utilización en este tipo de productos deberá de ser estudiada.

El uso de fibras insolubles (como las de cereales) en carnes y productos pesqueros, es limitado, debido a que estas fibras presentan pocos atributos funcionales, además de que pueden modificar el sabor y el color de las materias primas utilizadas, lo cual no es aceptable en ciertos productos cárnicos. Asimismo, estas fibras pueden impartir una textura más arenosa debido al tamaño de partícula generalmente grande que se encuentra en el mercado (Bodner y Sieg, 2009). Sánchez-Alonso *et al.* (2007), estudiaron el efecto tecnológico de la adición de fibra de trigo al 3 y 6% (con dos diferentes tamaños de partícula cada una) en surimi elaborado a partir de calamar gigante. Estos autores encontraron que al incrementar el contenido de fibra se redujo el contenido de proteína, lo cual se asoció con la modificación de la estructura de la matriz proteica debido a la posición de las partículas de fibra en la red del gel. No obstante, los geles adicionados con esta fibra presentaron características físicas similares independientemente del tamaño de partícula, obteniéndose un surimi más suave y deformable, disminuyendo la textura gomosa.

Con la finalidad de desarrollar una salchicha de pescado baja en grasa, adicionada con fibra dietaria, Cardoso *et al.* (2008), realizaron 3 cambios fundamentales en la formulación de una salchicha de cerdo: incorporación del 4% de una fibra dietaria comercial obtenida a partir de guisantes, distintos niveles de sustitución de carne de cerdo (0, 50 y 100%) por carne de merluza y la combinación de varias cantidades de una fibra comercial obtenida a partir de la raíz de achicoria y músculo molido de merluza como substitutos de grasa de puerco. Estos autores encontraron que la adición de fibra de guisantes favoreció una mayor fuerza de gel y dureza de las salchichas de cerdo. Por el contrario, al incrementar el nivel de sustitución de carne de cerdo por merluza, la fuerza de gel y la dureza de las salchichas se vieron disminuidas. Las salchichas con alto nivel de fibra de achicoria fueron menos cohesivas y masticables que las salchichas control (100% de cerdo, sin fibra); sin embargo, presentaron mayor fuerza de gel. No obstante, las salchichas bajas en fibra de achicoria presentaron propiedades de textura similares que el control, con excepción de la dureza y la gomosidad. Estos autores concluyeron que con respecto a algunos parámetros de textura fundamentales, es posible producir salchichas de pescado bajas en grasa similares a las salchichas de cerdo.

Por otra parte, las fibras de frutas han sido poco estudiadas en la adición a productos pesqueros procesados, por lo cual las pocas referencias bibliográficas existentes, solo se refieren a su utilización en productos cárnicos. En general, las fibras de frutas son subproductos de la industria agrícola, obtenidas de las cáscaras de frutas. Las fibras cítricas, así como la de durazno, han sido utilizadas en productos cárnicos proporcionando buenos resultados (Grigelmo *et al.*, 1997; Fernández-Ginés *et al.*, 2003). Borderías *et al.* (2005), señalan que las fibras de frutas como la de mango, uva y naranja, presentan un adecuado balance entre las fracciones soluble e insoluble de la fibra, además de presentar ciertas propiedades antioxidantes. Debido a la elevada instauración de la grasa de pescado, esta es altamente susceptible a la oxidación, por lo cual el uso de estas fibras como aditivos en productos pesqueros podría ser de gran utilidad para retardar los cambios

oxidativos que pudiesen ocurrir en estos durante su procesamiento o almacenamiento.

Sánchez-Alonso y Borderías (2008), estudiaron el efecto tecnológico de la adición de fibra dietaria de uva roja (al 0, 2 y 4%) en el músculo picado de macarela (*Trachurus trachurus*) almacenado en congelación (-20°C) durante 6 meses. Estos autores observaron que la cantidad de agua retenida en las muestras después de ser descongeladas y cocinadas, fue proporcional a la cantidad de fibra de uva utilizada. De igual manera se observó que la suavidad y la disminución de cohesividad de las muestras estuvieron en función de la concentración de fibra utilizada. Los resultados de oxidación de lípidos mostraron una disminución durante el almacenamiento en congelación cuando se añadió fibra dietaria. Estos autores concluyeron que de acuerdo con los análisis fisicoquímicos y sensoriales, la fibra dietaria de uva roja es un ingrediente tecnológico de gran actividad en el músculo oscuro picado de pescado congelado.

Existen algunos estudios sobre el uso de quitosano en productos cárnicos, así como en productos derivados de pescado como hamburguesas y salchichas (López-Caballero *et al.*, 2005). El quitosano es una fibra de origen animal, encontrado principalmente en el exoesqueleto de crustáceos, moluscos, insectos y en algunos hongos. Benjakul *et al.* (2003), encontraron que la adición de quitosano a surimi de pescado mejoró sus propiedades reológicas según el tipo y concentración del quitosano empleado.

## Generalidades de la Fibra Cítrica Citri-Fi®100 FG

Existen varios tipos de fibras funcionales, incluyendo las fibras cítricas que han sido aplicadas a diferentes productos con fines tecnológicos y de enriquecimiento nutricional. En este sentido, se ha desarrollado recientemente con metodología patentada, la fibra cítrica Citri-Fi®, una fibra obtenida a partir de la pulpa de la naranja, completamente natural y con un alto rendimiento funcional. Esta fibra, de reciente introducción al mercado, ha demostrado ser muy eficaz en la absorción y retención de grandes cantidades de agua, en el control de la humedad y como sustituto de grasa en una amplia variedad de productos, mejorando con ello tanto su calidad como el contenido nutricional de los mismos; todo esto sin modificar el sabor y la textura del producto (Lundberg, 2005). Cabe mencionar que esta fibra fue reconocida por la FIE (Food Ingredients Europe) en 2007 como el ingrediente alimentario más innovador (Fiberstar, 2010).

La fibra cítrica Citri-Fi® está compuesta de aproximadamente 70% de fibra dietaria total, de la cual el 50% es soluble y el otro 50% insoluble. Tiene un bajo contenido en grasas (aproximadamente 1%), sin presencia de ácidos grasos trans. La composición típica de esta fibra se muestra en la Tabla 2. Citri-Fi® es un ingrediente alimentario reconocido como GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA, no proviene de organismos genéticamente modificados, no presenta ningún riesgo alergénico para los consumidores, es neutra en términos de sabor, olor y color. Otra característica importante de esta fibra es que debido a la forma en que es procesada, no necesita ser hidratada para abrir su estructura celular antes de ser incorporada con otros ingredientes; esto es, que por ser un ingrediente hidrofílico, la fibra se expande e hidrata por sí misma una vez expuesta al agua durante el procesamiento del producto (Lundberg, 2005).



**Tabla 2.** Resultados analíticos de la composición de Citri-Fi® 100 FG

COMPONENTE	RESULTADOS	UNIDADES
Calorías (GABA*)	226	Calorías/100 g
Grasa total	1.05	%
Grasa saturada	0.31	%
Grasa Trans	0.00	%
Grasa mono-insaturada	0.35	%
Grasa poli-insaturada	0.39	%
Carbohidratos totales	80.73	%
Fibra dietaria total	68.2	%
Fibra soluble	33.3	%
Fibra insoluble	34.9	%
Azúcares	7.36	%
Proteínas (por Dumas)	8.15	%
Sodio	21.1	mg/100g
Humedad	7.42	%
Cenizas	2.65	%
Recuento de mesófilos	< 10000	CFU/g
E. coli	< 10	CFU/g
Listeria monocytogenes	Negativo por 25 g	
Salmonella	Negativo por 25 g	

\*GABA: Guías alimentarias basadas en alimentos FAO/OMS.

Fuente: Lundberg (2005).

## Propiedades funcionales

En comparación con otras fibras alimentarias comunes, la fibra cítrica Citri-Fi® presenta una capacidad de retención de agua, como viscosidad considerablemente mayor al resto de las fibras. Lo anterior es atribuido a que durante su extracción, la fibra se expande aumentando el área de superficie. La capacidad de retención de agua de la fibra Citri-Fi® es de 9.95 mL agua/ g de fibra. Esto representa casi 5 veces más que otras fibras usadas comúnmente en alimentos, como las de celulosa y avena, las cuales poseen una CRA de 2.78 y 2.32 mL de agua/g de fibra respectivamente. En la Tabla 3 se muestra una comparación de la CRA de la fibra Citri-Fi® 100 FG contra otras fibras de uso común.

**Tabla 3.** Comparación de la capacidad de retención de agua entre varias fibras utilizadas en alimentos.

FIBRA	CRA (mL/g)
Citri-Fi 100*	9.95
Fibra de zanahoria	6.56
Fibra de naranja	5.02
Fibra de trigo	4.86
Fibra de bambú	3.31
Fibra de semillas de algodón	3.13
Fibra de tomate	2.98
Celulosa, 30 micrones	2.78
Fibra de remolacha	2.68
Fibra de soya	2.48
Fibra de avena	2.32

La CRA se midió según el método estándar #56-30 AACC.  
Fuente: Lundberg (2005).

La alta capacidad de retener agua de la fibra Citri-Fi® se debe a que mantiene fuertemente ligada el agua a la misma. Esta propiedad le confiere dos beneficios funcionales muy importantes. El primero, una menor pérdida de humedad de los alimentos durante el horneado o freído, y segundo, mantiene el nivel de actividad de agua estable. Además, debido a la fuerte unión del agua con la fibra, la humedad del producto se mantiene de manera uniforme durante un periodo prolongado, incluso en alimentos congelados (Lundberg, 2005). Cuando esta fibra es puesta en agua, se genera una alta viscosidad debido al elevado número de puentes de hidrógeno formados con el agua. Esta viscosidad generada puede ser utilizada para espesar bebidas u otro tipo de formulaciones en los cuales el agua forma una parte importante del producto. La fibra Citri-Fi® presenta una curva de comportamiento reológico pseudoplástico, lo cual significa que puede volverse menos viscosa conforme se le aplica una deformación constante, lo que provoca una buena sensación en la boca, incluso al ser utilizada en altas concentraciones.

Citri-Fi® presenta la propiedad de controlar la sinéresis en diversos productos, reduciendo su contenido de agua y aceite libre. Con la adición de esta fibra cítrica se obtienen productos menos grasos y de mayor volumen, todo esto sin provocar cambios en su consistencia. Debido a que Citri-Fi® tiene una gran área de superficie presenta varios sitios de unión para el aceite, lo cual le confiere propiedades emulsificantes muy favorables. Al mejorar la emulsificación, hay una menor separación de agua y aceite de los productos durante su procesado, lo cual incrementa el rendimiento de procesamiento (Lundberg, 2005).

Por otra parte, la fibra cítrica Citri-Fi® tiene la propiedad de actuar como sustituto de grasa sin impartir efectos negativos sobre el sabor, color, volumen y textura, generalmente asociados con los productos bajos en grasa. El nivel de sustitución de grasa de Citri-Fi® es de hasta un 50%, reduciendo considerablemente el costo de las formulaciones así como el contenido de grasa total. En este sentido Citri-Fi® ha sido utilizada con éxito como sustituto de grasa en productos de

panificación (Lundberg, 2005). En la Tabla 4 se muestran algunas de las propiedades funcionales de la fibra cítrica Citri-Fi® 100 FG en diferentes productos alimenticios.

A pesar de que la fibra cítrica Citri-Fi® ha sido utilizada para mejorar una amplia variedad de alimentos en términos de valor nutricional, calidad y funcionalidad, todo esto sin afectar su sabor, textura,  $a_w$  y los costos de formulación, es necesario realizar más investigación sobre la aplicación de esta fibra en nuevas áreas, como en el área de formulación de productos pesqueros.

**Tabla 4.** Propiedades funcionales de la fibra cítrica Citri-Fi® 100 FG en diferentes productos alimenticios.

FUNCIONALIDAD	APLICACIONES
Mejora el rendimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Queso tipo Ricotta</li> <li>• Paté de carne</li> <li>• Salchicha italiana</li> </ul>
Reduce costos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pan Holandes</li> <li>• Salchicha italiana</li> <li>• Albondiga italiana</li> </ul>
Reduce el rompimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Galletas y bocadillos.</li> </ul>
Fortalece	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cereal, galletas y bocadillos.</li> </ul>
Estabiliza	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pays/pasteles/biscochos.</li> </ul>
Migración de humedad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glaseados/relleno cremoso.</li> </ul>
Retiene la humedad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pan, panecillos y rollos</li> <li>• Rellenos de fruta.</li> </ul>
Mejora textura	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pastel de carne.</li> </ul>
Reducción de grasa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pasteles Glaseados</li> <li>• Mantequilla, mantequilla con ajo.</li> <li>• Salchicha italiana.</li> <li>• Curado bratwurst.</li> </ul>
Control de sinéresis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Queso fresco.</li> <li>• Helados (smothies).</li> <li>• Pasta de pollo.</li> <li>• Ensaladas.</li> <li>• Vegetales IQF.</li> </ul>

*Fuente: Fiberstar, 2010.*

### III. HIPÓTESIS

La fibra cítrica (Citri-Fi®100 FG) adicionada a un producto tipo gel-emulsificado de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), actúa mejorando su funcionalidad y características sensoriales.

## IV. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Optimización de la formulación de un producto tipo gel-emulsificado a base de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) evaluando el efecto de la adición de una fibra cítrica sobre los parámetros de calidad y vida de anaquel del producto terminado.

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el efecto de la adición de fibra cítrica sobre las propiedades fisicoquímicas de geles de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).
2. Optimizar la formulación del producto utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR).
3. Evaluar las características de calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial durante la vida de anaquel del producto elaborado bajo condiciones optimizadas.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en tres etapas. La etapa I consistió en la realización de un experimento preliminar para evaluar el efecto de la fibra cítrica comercial (Citri-Fi®100 FG) adicionada en 4 concentraciones sobre las propiedades fisicoquímicas de geles elaborados a partir de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). La etapa II consistió en la optimización del producto (rollo de calamar) mediante la utilización de la metodología de superficie de respuesta (MSR). Los factores de estudio fueron almidón, aceite y fibra. Las variables a optimizar fueron las concernientes al análisis proximal (humedad, proteínas, lípidos, cenizas), al análisis fisicoquímico (capacidad de retención de agua (CRA), pH, actividad de agua ( $a_w$ ), textura (análisis de perfil de textura (APT), esfuerzo al corte, prueba de doblado), color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y ángulo de matiz) y al análisis sensorial (sabor, color, apariencia total, textura al morder y textura al masticar). La etapa III, consistió en la evaluación de la vida de anaquel del producto optimizado mediante la utilización de parámetros fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos.

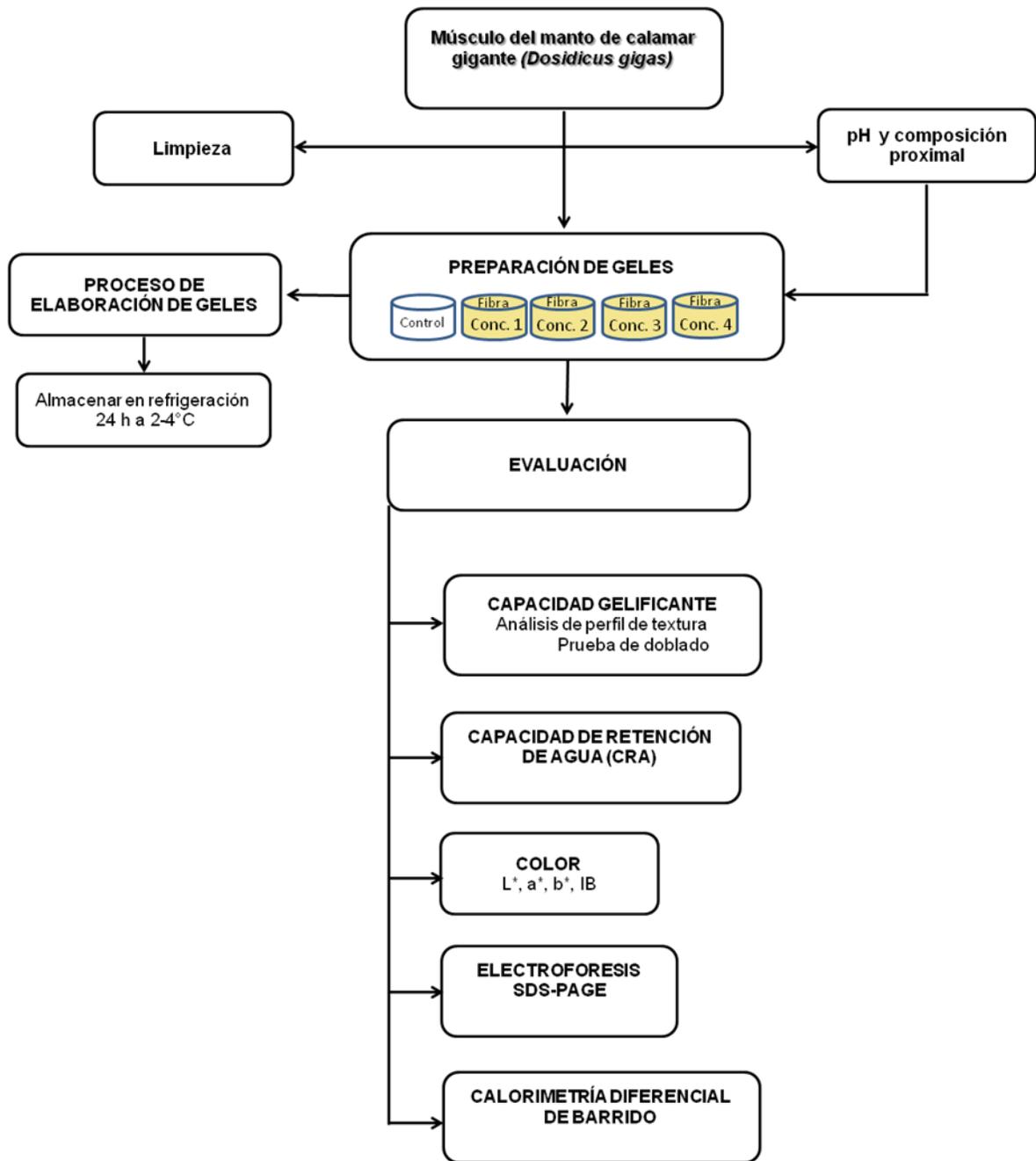
### ETAPA I

---

#### Efecto de la Adición de Fibra Cítrica Sobre las Propiedades Fisicoquímicas de Geles de Músculo de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

**Nota aclaratoria: Debido a la confidencialidad pactada con el usuario del proyecto (ANAMAR Productos Alimenticios, S.A.), se omiten los detalles de la formulación, del proceso, los porcentajes de inclusión de los ingredientes y las características del producto en todas sus etapas.**

Esta etapa del trabajo consistió en evaluar el efecto de la fibra cítrica comercial (Citri-Fi®100 FG) adicionada en 4 concentraciones, sobre las propiedades fisicoquímicas de geles elaborados a partir de músculo de calamar gigante. En la Figura 2 se muestra el diagrama de flujo del esquema experimental de la Etapa I.



**Figura 2.** Diagrama de flujo del esquema experimental de la Etapa I.

A los geles producidos se les evaluó la composición proximal (humedad, proteína, nitrógeno no proteico (NNP), grasa, cenizas), pH, análisis de perfil de textura (APT) (dureza, cohesividad y elasticidad), prueba de doblado (FT por sus siglas en inglés), capacidad de retención de agua (CRA), color, SDS-PAGE electroforesis y se estudió el comportamiento térmico de los soles obtenidos.

## **Preparación de geles**

Se utilizó como materia prima músculo de calamar gigante congelado, el cual se obtuvo en un establecimiento comercial (pescadería) localizado en la ciudad de Hermosillo siendo proporcionado por la empresa ANAMAR Productos Alimenticios, S.A. El músculo se preparó removiendo manualmente la piel interna y externa, cortándolo en trozos.

Se elaboraron geles utilizando fibra cítrica añadida en 4 concentraciones y un control (sin fibra) (Figura 2). Los geles producidos fueron almacenados en refrigeración a 2-4°C por 24 horas antes de su evaluación.

## **Análisis fisicoquímicos**

### Composición proximal

El análisis proximal (humedad, cenizas, proteínas, NNP y lípidos) realizado tanto en los geles como al músculo de calamar, se efectuó por triplicado para cada tratamiento. La evaluación de humedad, cenizas y lípidos se realizó de acuerdo a los procedimientos recomendados por la AOAC (2000). El contenido de humedad (g agua/100 g muestra) se determinó secando 5 g de muestra en una estufa a 100°C hasta llevarla a peso constante calculando la diferencia de peso (método 950.46). Para la determinación de cenizas (g ceniza/100 g muestra) se colocaron 3 g de muestra en una mufla a 550°C durante 8 horas, calculándose las cenizas por diferencia de peso (método 938.08). La determinación de proteína y nitrógeno no

proteico (NNP) se realizó por el método de Micro-Kjeldahl siguiendo la metodología reportada por Woyewoda *et al.* (1986) utilizando un factor de conversión de nitrógeno a proteína cruda de 6.25. El contenido de grasa (g grasa/100 g muestra) se obtuvo con el método de extracción de grasa Gold Fish utilizando como solvente éter de petróleo, calculándose su contenido por la pérdida de peso (método 920.39).

## pH

El pH se midió a 25°C utilizando un potenciómetro digital Corning Modelo 240 (Acton, MA, USA) a un homogenizado de 2 g de muestra con 18 mL de agua destilada, tal como lo recomienda Martin (1992). Esta medición se realizó por triplicado / tratamiento.

## Capacidad gelificante

La capacidad gelificante fue evaluada en términos del análisis de perfil de textura (APT) y de la prueba de doblado (FT).

### Análisis de perfil de textura (APT)

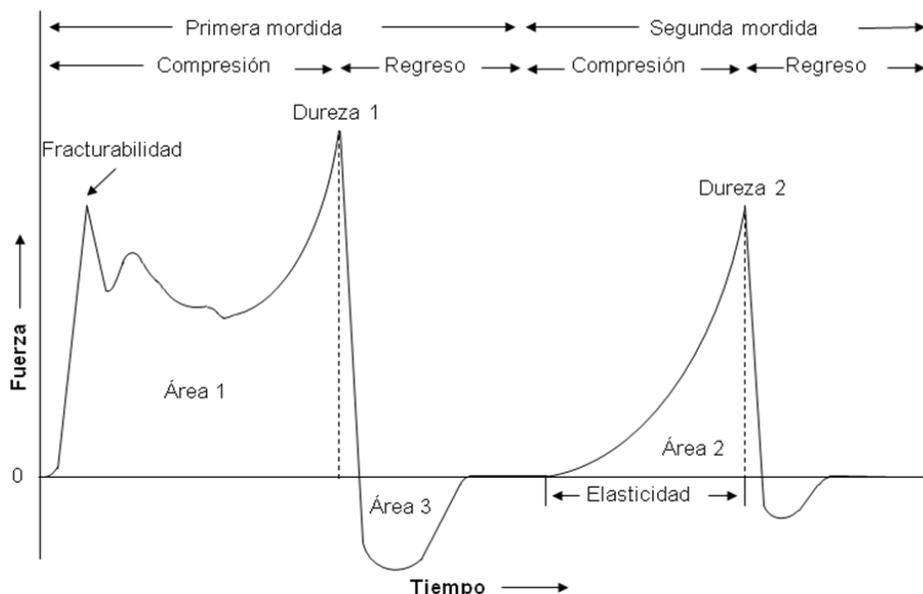
El APT se realizó utilizando un texturómetro Texture Analyzer TAXT2 (Stable Micro Systems, Ltd, Godalming, Surrey UK) siguiendo la metodología descrita por Bourne (2002). De cada gel se tomaron muestras de forma cilíndrica de dimensiones uniformes (1 cm de diámetro × 1 cm de altura), utilizando un cortador tubular. Antes de su evaluación, las muestras se temperaron durante 1 hora dentro de una bolsa de polietileno a temperatura ambiente. Para el análisis se utilizó un dispositivo de 3 cm de diámetro unido a una celda de carga de 100 N, aplicando una doble compresión al 75% de deformación con una velocidad de cabezal de 1 mm/s, con tiempo de espera de 5 segundos entre compresiones, generando una curva de fuerza vs. tiempo (Figura 3) para cada muestra analizada. Los atributos de textura evaluados fueron:

*Dureza*: definida como la fuerza máxima de la primera compresión de la muestra (pico 1), la cual representa la fuerza de la primera mordida (Bourne, 2002).

*Elasticidad*: definida como la altura que recupera la muestra entre el final de la primera compresión y el inicio de la segunda. Ésta se obtiene calculando el cociente de la distancia 2 (inicio de la 2da compresión hasta el pico 2) entre la distancia 1 (inicio de la 1ra compresión hasta el pico 1), siendo adimensional.

*Cohesividad*: definida por Bourne (2002), como el cociente de las áreas positivas entre la primera y segunda compresión (área 2/área 1). Es decir, representa el punto límite hasta el cual la muestra se deforma antes de romperse.

Los resultados obtenidos del APT fueron analizados en el programa Texture Expert para Windows.



**Figura 3.** Curva típica de un análisis de perfil de textura (APT).  
Cohesividad = (área 2/área 1).

## Prueba de doblado

La prueba del doblado se llevó a cabo tomando una rebanada de gel de 2-3 mm de espesor por 3 cm de diámetro, entre los dedos índice y pulgar, sometiéndola a los doblados descritos por la metodología de Kudo *et al.* (1973). Una vez realizado lo anterior se clasificó asignándole un número y grado de acuerdo a la escala descrita en la Tabla 5. La prueba se realizó aplicando el procedimiento a 6 rebanadas de gel.

**Tabla 5.** Escala de puntos utilizada en la prueba del doblado.

<i>Escala Numérica</i>	<i>Grado Nishiya's</i>	<i>Resultado del doblado</i>
5	AA	No se rompe al doblarlo en cuadrantes.
4	A	No se rompe al doblarlo por la mitad, se rompe al doblarlo en cuadrantes.
3	B	Se quiebra al doblarlo por la mitad.
2	C	Se rompe en partes al doblarlo por la mitad.
1	D	Se fragmenta al solo tocarlo con los dedos.

*Fuente: Kudo et al. (1973).*

## Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA se evaluó de acuerdo a la metodología descrita por Jiang *et al.* (1985). Se pesaron 5 g de muestra (molida manualmente) en tubos de centrifuga para posteriormente centrifugarse a 3,000 × g por 20 min a una temperatura de 4°C, utilizando una centrifuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), con un rotor JA-20. Una vez realizado el centrifugado, el agua desprendida de la muestra se drenó del tubo. La CRA fue calculada por diferencia de peso y se expresó como gramos de agua retenida (AR) por gramos de proteína (g AR/g proteína).

## Color

El color de los geles se midió directamente sobre las placas petri selladas al vacío, empleando el sistema de medición de colorimetría de triestímulo, utilizando un colorímetro Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc. Tokio, Japón). Se obtuvieron los parámetros de luminosidad “L\*”, matiz rojo/verde “a\*” y matiz amarillo/azul “b\*”. A partir de estos valores se calculó el índice de blancura (IB) como:

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

## Perfil electroforético SDS-PAGE

La preparación de los extractos proteicos de los geles se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Cortés-Ruiz (2008). Se empleó un sistema de extracción con urea 8M, 0.1mM de fenilmetil-sulfonilfluoruro (PMSF), 10mM de ácido etilendiaminotetracético (EDTA), azida de sodio al 0.01% y 0.6M de KCl. La extracción de proteínas se realizó mezclando 1 g de muestra con 10 mL de solución de urea, homogeneizándola durante 2 minutos. Se registró el volumen y se calculó la concentración de proteína (mg/mL). Se tomó 1 mL de cada extracto y se mezcló con 3 mL de buffer para condiciones desnaturalizantes y reductoras el cual contenía: 25% Tris-HCl pH 6.8, 20% glicerol, 40% SDS al 10%, 10% de β-mercaptoetanol, 5% agua deionizada, 0.03% de azul de bromofenol. Las mezclas con buffer fueron calentadas en agua a ebullición durante 8 minutos y posteriormente se realizó el análisis electroforético.

La electroforesis (SDS-PAGE) fue realizada de acuerdo a la técnica de Laemmli (1970) con algunas modificaciones (Wang y Xiong, 1998). Se prepararon geles discontinuos de 0.75 mm de grosor, con tamaños de poro del 10 y 4% para el gel de separación e inyección respectivamente para proceder a inyectarse 30 µg de proteína contra 5 µg de estándar de amplio rango (Bio-Rad-161-0317). Las corridas

se realizaron utilizando un equipo de Bio-Rad (cámara y fuente de poder Bio-Rad Power Pac 3000, Bio-Rad Laboratories, Hercules Ca), utilizando un buffer cámara Tris-Glicina (Tris pH 8.3 0.192 M, Glicina 0.1% SDS) a 15 mA por gel, hasta 1 cm antes que el frente de línea alcanzara el final del gel. Los geles fueron teñidos y desteñidos con azul de comassie, utilizando una solución de metanol: ácido acético al 40:10%.

### Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría se realizó siguiendo la metodología descrita por Yongsawatdigul y Park (2004) con algunas modificaciones, empleando un calorímetro diferencial de barrido Perkin Elmer modelo DSC7 (Perkin Elmer de México, S.A., Monterrey, México). Aproximadamente 50 mg de muestra se introdujeron en portamuestras de acero inoxidable, sellándose herméticamente. Como referencia se utilizó un portamuestras vacío. Las muestras fueron escaneadas a 5°C/min en un rango de 20 a 90°C. De los termogramas se obtuvieron parámetros termodinámicos tales como las temperaturas de desnaturalización, así como la entalpia (área de los picos).

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Se utilizó un diseño completamente al azar y los datos fueron analizados mediante un ANOVA de una vía tomando como único factor variable la concentración de fibra cítrica (con 5 niveles: 0, 1, 2, 3 y 4) y 3 unidades experimentales por tratamiento. Cuando se encontró efecto significativo del factor, se realizó la comparación de medias por la prueba de rangos múltiples de Tukey-Kramer, mientras que la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se utilizó para las variables que no presentaron normalidad. Todas las significancias se estimaron a un nivel de probabilidad de 0.05 en el error tipo I. Lo anterior se realizó en el programa estadístico NCSS (2001). Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento.

## ETAPA II

---

### Optimización de la Formulación del Producto

#### **Materia prima**

Se utilizó como materia prima músculo de calamar gigante congelado, el cual se obtuvo en un establecimiento comercial (pescadería) localizado en la ciudad de Hermosillo siendo proporcionado por la empresa ANAMAR Productos Alimenticios, S.A. El músculo fue preparado previo a su procesamiento.

#### **Formulación**

Para el desarrollo de la formulación del producto, se tomo como referencia un producto gelificado de calamar elaborado previamente por el Laboratorio de Bioquímica y Calidad de Productos Pesqueros de CIAD. A esta referencia se le realizaron las modificaciones pertinentes y se le añadió, entre otros ingredientes, la fibra cítrica. Para la optimización de la fórmula se utilizaron 5 niveles de inclusión de aceite, almidón y fibra cítrica (los cuales fueron determinados por el diseño experimental empleado), teniendo un total de 18 formulaciones diferentes.

#### **Elaboración del producto**

Las formulaciones para elaborar los rollos de calamar se realizaron en un período de 3 días, seleccionando aleatoriamente 6 tratamientos por día, procesándose 3 kg por lote.

## Procedimiento

La preparación de la pasta o emulsión inició con el cortado del músculo de calamar en una cortadora modelo cutter Kilia Vacu Autoc 30 (Kilia Co. Kiel, Alemania) con atmosfera de vacío realizándose de la manera tradicional.

Posteriormente la pasta fue embutida en fundas utilizando una embutidora manual de pistón Smith Modelo RS-2050 (Smith Equipment Co. Clifton, NJ) realizándose el amarre del producto. Se registró el peso del lote antes de ser sometido a un procesamiento térmico de horneado en un horno marca Enviro-Pack serie Mp1000. Posteriormente, el producto cocido fue manejado bajo condiciones de refrigeración para su posterior análisis.

## **Análisis fisicoquímicos**

Los análisis fisicoquímicos que se realizaron al rollo de calamar fueron: Análisis proximal, pH, análisis de textura (Análisis de Perfil de Textura, esfuerzo al corte y prueba del doblado), capacidad de retención de agua (CRA), color y actividad de agua ( $a_w$ ).

### Análisis proximal

El análisis proximal se realizó de manera similar a la realizada en la primera etapa del trabajo, exceptuando el contenido de NNP, ya que éste no fue determinado en esta etapa. Esta medición se realizó por triplicado/tratamiento.

### pH

El pH se midió de acuerdo a la técnica descrita por Woyewoda *et al.* (1986). Se homogenizaron 20 g de muestra con 40 mL de agua destilada, dejándose reposar

durante 1 min para luego tomarse la lectura utilizando un potenciómetro digital Corning Modelo 240 (Acton, MA, USA) a una temperatura de 25°C.

### Análisis de textura

La textura del producto se evaluó mediante la prueba del APT (doble compresión al 75%), la prueba del esfuerzo al corte, así como la prueba del doblado.

#### Análisis de perfil de textura (APT)

El APT se realizó bajo las condiciones descritas en la primera etapa, con modificaciones en las dimensiones de la muestra (rodajas de aproximadamente 3 cm de diámetro y 1 cm de altura) y en la celda utilizada (de 500 N).

#### Esfuerzo al corte

La prueba de esfuerzo al corte se realizó utilizando un texturómetro Texture Analyzer TAXT2 con una navaja Warner–Bratzler como aditamento. Las muestras se prepararon cortando transversalmente segmentos del producto de aproximadamente 3 cm de largo y 1.5 cm de altura, dejándolas reposar durante 1 hora a temperatura ambiente dentro de una bolsa de polietileno antes de ser evaluadas. Se utilizó una celda de carga de 500N con una velocidad de cabezal de 2 mm/s. El esfuerzo al corte fue interpretado como el resultado del pico máximo (fuerza máxima Kgf) registrado. Para el análisis se evaluaron 8 muestras por tratamiento.

#### Prueba de doblado

La prueba de doblado se realizó bajo las condiciones descritas en la etapa I.

### Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA se evaluó de acuerdo a la metodología descrita por Cheng *et al.* (1979). Se pesaron en tubos de centrífuga 5 g de muestra (molida manualmente) y se centrifugaron a  $28,500 \times g$  durante 30 min a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ , utilizando una centrifuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), con un rotor JA-20. Una vez realizado el centrifugado, el agua desprendida de la muestra se drenó del tubo. La CRA fue calculada por diferencia de peso y se expresó como porcentaje (agua retenida/total de agua).

### Color

Los parámetros de color fueron evaluados mediante el sistema de colorimetría de triestímulo utilizando un colorímetro portátil Konica Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Japón). Se obtuvieron los valores de “L\*” (luminosidad), “a\*” (+/- matiz rojo-verde) y “b\*” (+/- matiz amarillo-azul). Para hacer un integración y mejor interpretación de los parámetros a\* y b\* se calculó el ángulo de matiz ( $\Theta$ ) mediante la siguiente fórmula:

$$\Theta = \text{Arctang}(b^*/a^*)$$

### Color interno

La medición de color interno se llevó a cabo en rodajas de rollo de aproximadamente 1 cm de grosor, realizándose la lectura en la parte interna de las mismas.

### Color externo

El color externo se midió a trozos de 3-4 cm de largo, que a su vez fueron cortados transversalmente por la mitad, tomándose la lectura por la parte exterior de la salchicha (corteza) sin funda.

### Actividad de agua ( $a_w$ )

La  $a_w$  se midió utilizando un aparato Aqualab CX-2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA) previamente calibrado siguiendo las especificaciones del proveedor. La muestra fue molida manualmente y distribuida de manera uniforme cubriendo la superficie del recipiente plástico que utiliza el aparato. Esta evaluación se realizó a una temperatura de 25 °C y se realizó por triplicado/tratamiento.

### **Evaluación sensorial**

El análisis sensorial se llevó a cabo contando con un grupo de 8 panelistas entrenados utilizando un método de análisis descriptivo, evaluándose atributos como color, apariencia total, sabor, textura al morder y textura al masticar, siguiendo las recomendaciones de Pedrero y Pangborn, (1989). Para los atributos de color, apariencia total y sabor, se utilizó una escala de 0 (me disgusta) a 10 cm (me gusta mucho). Para la evaluación de textura (al morder y al masticar) se utilizó una escala de 0 a 10 puntos, donde la puntuación de 5 representó el valor óptimo, valores menores de 5 fueron asignados a productos considerados con textura dura y valores mayores a 5 a productos con textura blanda (ver anexo A para formulario utilizado). Para ello se utilizó como referencia un producto comercial el cual se había establecido previamente como ideal de textura. Las muestras se prepararon cortando segmentos del producto de aproximadamente 2 cm (sin funda), los cuales fueron colocados en platos de corcho y servidas a los panelistas. Las muestras fueron servidas en el mismo orden en que fueron procesadas, así que fueron evaluadas 6 muestras por sesión. Los panelistas evaluaron las muestras de forma individual bajo luz blanca y a temperatura ambiente.

## Diseño experimental y análisis estadístico

Para estudiar el efecto de 3 variables (factores) composicionales, se utilizó la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR). Las condiciones experimentales fueron establecidas en base a un diseño Central Compuesto Rotatorio para 3 factores y dos niveles ( $2^3$ ) con cuatro puntos centrales (Montgomery, 1991). Los factores de estudio fueron aceite ( $X_1$ ), almidón ( $X_2$ ) y fibra cítrica ( $X_3$ ), para los cuales se definieron los límites mínimos y máximos, codificándose en 5 niveles (-1.682, +1.682, -1, +1 y 0) para su optimización. El valor  $\pm 1.682$  representa los puntos axiales del diseño, los niveles  $\pm 1$  los puntos factoriales y el 0 indica el punto central. Los puntos axiales fueron adicionados al diseño factorial para proporcionar una estimación de la curvatura del modelo (hacerlo rotatorio). Se utilizaron 4 puntos centrales para estimar la suma de cuadrados del error puro. El diseño consistió en 18 corridas experimentales las cuales se muestran en la Tabla 6. Las corridas 1-8 corresponden a los puntos factoriales, las corridas 9-12 a los puntos centrales y de la 13-18 a los puntos axiales. Cabe mencionar que los valores naturales de los factores de estudio no son mostrados debido a que son datos confidenciales.

La selección del nivel de aceite se basó en un trabajo previo desarrollado en Laboratorio de Calidad de Productos Pesqueros de CIAD; para el caso del almidón, se realizaron experimentos preliminares utilizando los porcentajes máximos permitidos por la NOM-122-SSA1-1994, descartándose las fórmulas que proporcionaron texturas y sabores inadecuados, la selección del nivel de fibra se realizó de acuerdo a los resultados obtenidos en la etapa I. Las variables de respuesta evaluadas fueron las correspondientes a los análisis proximal, fisicoquímico y sensorial realizados al producto.

**Tabla 6.** Corridas experimentales del Diseño Central Compuesto Rotatorio para tres factores ( $2^3$ ).

Formulación	FACTORES		
	Nivel de variable codificada		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	-1.682	0	0
14	1.682	0	0
15	0	-1.682	0
16	0	1.682	0
17	0	0	-1.682
18	0	0	1.682

$X_1$  = Aceite;  $X_2$  = Almidón;  $X_3$  = Fibra

Para llevar a cabo el análisis estadístico de los datos, se ajustó un modelo de regresión para cada variable de respuesta evaluada aplicando el procedimiento de metodología de superficie de respuesta (MSR), el cual estima el análisis de varianza de la regresión por el método de cuadrados mínimos (Montgomery, 1991). El modelaje estadístico de los datos y la representación gráfica se realizaron utilizando el procedimiento de regresión de superficie de respuesta en el programa estadístico JMP del SAS (versión 4.0.4). El modelo completo ajustado, consistió en una ecuación polinomial de segundo orden que incluyó términos lineales, cuadráticos y cruzados, como a continuación se muestra:

$$\hat{Y}_i = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{33}X_3^2 + B_{12}X_{12} + B_{13}X_{13} + B_{23}X_{23}$$

Donde:

$B_0$  = Intercepto (valor de la respuesta en el punto central del diseño)

$B_1X_1$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_1$

$B_2X_2$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_2$

$B_3X_3$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_3$

$B_{11}X_1^2$  = Coeficiente de regresión para  $X_1$  con efecto cuadrático

$B_{22}X_2^2$  = Coeficiente de regresión para  $X_2$  con efecto cuadrático

$B_{33}X_3^2$  = Coeficiente de regresión para  $X_3$  con efecto cuadrático

$B_{12}X_{12}$  = Coeficiente de regresión para los productos cruzados de  $X_1$  y  $X_2$

$B_{13}X_{13}$  = Coeficiente de regresión para los productos cruzados de  $X_1$  y  $X_3$

$B_{23}X_{23}$  = Coeficiente de regresión para los productos cruzados de  $X_2$  y  $X_3$

Para cada factor evaluado la varianza fue dividida en componentes lineales, cuadráticos y cruzados (interacción), con la finalidad de evaluar la idoneidad del modelo de segundo orden y la importancia relativa de cada factor. Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se buscó la adecuación del modelo completo para

determinar efectos significativos en las variables evaluadas. Para cada variable de respuesta, el modelo completo fue ajustado con base a la significancia de los términos, a la prueba de falta de ajuste y al análisis del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), seleccionándose así el mejor modelo de predicción. Se consideraron significativos los términos del modelo con valores de probabilidad ( $p$ ) menores de 0.05. La falta de ajuste mide la incapacidad del modelo para representar los datos en el dominio experimental. La  $R^2$  indica que tanto de la variación de las respuestas es explicada por el modelo, por lo que se esperan valores altos de  $R^2$ . Algunos de los modelos completos obtenidos inicialmente, no representaban adecuadamente los datos, por lo cual fue necesario reducirlos mediante la eliminación de los términos que menos contribuían en la respuesta. La reducción de modelos se realizó quitando el término que presentara mayor probabilidad ( $p > 0.05$ ) (de uno por uno) y volviendo a correr el modelo hasta llegar al modelo reducido.

Una vez obtenidos los modelos de predicción, se estimaron las condiciones óptimas de las variables mencionadas, así como los niveles de los factores de estudio. Se realizaron graficas de superficie de respuesta en tercera dimensión solo para las variables en las que se observó significancia de los factores de estudio.

### ETAPA III

---

#### Adición de Fibra Cítrica y su Efecto sobre los Parámetros de Calidad y Vida de Anaquel de un Producto Tipo Gel-Emulsificado

Para evaluar la vida de anaquel del producto, y observar los cambios a través del tiempo, se realizaron tanto análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales a los 0, 5, 10, 14, 18, 21, 26, 30 y 34 días de almacenamiento a 2-4°C.

## **Materia prima**

Como materia prima se utilizó músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) congelado, obtenido en un establecimiento comercial (pescadería) localizado en la ciudad de Hermosillo. El músculo fue preparado previo a su procesamiento, bajo las mismas condiciones de la etapa II.

Se realizaron procedimientos estándar de limpieza y sanitización del área de trabajo antes de elaborar los productos. Todas las operaciones del proceso fueron realizadas a una temperatura de 10-12°C.

## **Elaboración del producto**

El procedimiento general fue el mismo que se utilizó para la segunda etapa del trabajo. En esta tercera etapa se procesaron 2 lotes/tratamiento.

### Procedimiento

Básicamente se siguió el mismo procedimiento descrito en la etapa anterior, empacándose el producto al vacío.

### Tratamientos experimentales

Se evaluó el efecto de la adición de fibra en dos tratamientos; 1) Control, formulación de referencia sin fibra, 2) Tratamiento con fibra, formulación del producto conteniendo los niveles establecidos como óptimos en la etapa II del presente estudio.

## **Parámetros tecnológicos**

### Rendimiento de cocción

Para calcular el rendimiento de cocción/tratamiento, las muestras fueron pesadas antes y después de su cocimiento, dividiéndose el peso del producto cocido entre el peso del producto crudo. Las pérdidas por cocción se reportaron como % de pérdida de peso.

### Cambios dimensionales

Para estimar los cambios dimensionales (encogimiento) del producto se midió el diámetro (en 6 puntos distintos) y la longitud de 3 rollos por tratamiento, antes y después de su cocimiento. Los cambios dimensionales se calcularon de acuerdo a la ecuación de Adams (1994):

$$\text{Encogimiento (\%)} = \frac{[(\text{longitud crudo} - \text{longitud cocido}) + (\text{diámetro crudo} - \text{diámetro cocido})]}{(\text{longitud crudo} - \text{diámetro crudo})} \times 100$$

## **Análisis fisicoquímicos**

Para esta etapa los análisis fisicoquímicos realizados al rollo de calamar fueron análisis proximal, pH, CRA (expresada como gramos de agua retinada por gramos de proteína presente en el producto), textura (análisis de perfil de textura (APT), esfuerzo al corte y prueba del doblado), color, actividad de agua ( $a_w$ ) y las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbiturico (TBARS). Todas las determinaciones fueron realizadas de manera similar a la descrita en la etapa II de este estudio a excepción de color y del TBARS que no había sido analizado anteriormente, por lo que ambos se describen a continuación.

## Color

La evaluación de los parámetros de color interno/externo ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y ángulo de matiz) se realizó de manera similar a lo descrito en la segunda etapa del trabajo. Para observar el efecto del almacenamiento sobre las características del color del rollo de calamar, se obtuvo la diferencia total de color ( $\Delta E$ ) mediante la siguiente fórmula tomando como referencia los valores obtenidos al día 0 de almacenamiento:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

## Sustancias reactivas al ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARS)

Para evaluar el efecto de la adición de fibra cítrica sobre la oxidación de lípidos en el producto almacenado, se evaluó el cambio en las sustancias reactivas al ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARS por sus siglas en inglés) según el método establecido por Woyewoda *et al.* (1986).

Para lograr este objetivo se pesaron 10 g de muestra y se homogenizaron con 35 mL de agua destilada por 2 min en una licuadora Osterizer Modelo 65-43M (Osterizer Mexicana, S.A.). La muestra homogenizada fue transferida a un matraz de fondo redondo de 250 mL conteniendo 100 mg de propil galato y 100 mg de EDTA, además de algunas perlas de vidrio. Posteriormente se agregaron 60 mL de agua destilada y 95 mL de HCl 4 N. La mezcla fue calentada y destilada hasta recolectar 50 mL de destilado.

Para el desarrollo del color se agregaron en un tubo de ensayo 5 mL del destilado recolectado junto con 5 mL del reactivo TBARS, mezclándose en un Vortex VWR (VWR Internacional, West Chester, PA, USA) por 5 segundos. Enseguida, la mezcla fue calentada por 45 min en un baño de agua hirviendo, para posteriormente

enfriarse con agua corriente durante 5 minutos, dejándose reposar por media hora. Después de este tiempo se les midió la absorbancia en un espectrofotómetro Cary 50Bio (Varian, Palo Alto, CA, USA) a una longitud de onda de 538 nm, teniendo el blanco reactivo dentro de la celda de referencia. La curva estándar se preparó utilizando 0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6, y 2.0 mL de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) al  $1 \times 10^{-5}$  M. Los tubos se aforaron a un volumen de 5 mL con agua destilada, con el mismo procedimiento utilizado para las muestras. Esta concentración equivalió a 0.004, 0.008, 0.01, 0.012, 0.016 y 0.02  $\mu$  moles de TEP respectivamente. El contenido de TBA fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$TBA = \frac{T \times V_1 \times 1000}{V_2 \times W}$$

Donde:

TBA = TBA o TBARS en  $\mu$ mol/kg de muestra

$T$  =  $\mu$ mol de malonaldehído determinado de la curva estándar

$V_1$  = mL del destilado recolectado

$V_2$  = mL del destilado retirado para el análisis

$W$  = Peso de la muestra (10 g)

## **Análisis microbiológicos**

Para determinar la calidad microbiológica del rollo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C) se utilizaron las técnicas descritas en Normas Oficiales Mexicanas (NOM) y el Bacteriological Analytical Manual (BAM) (1998). Los protocolos a seguir fueron los siguientes: Cuenta estándar de bacterias aerobias (mesófilicos y psicrófilicos) en placa (BAM, Capítulo 3 y NOM-092-SSA1-1994), Coliformes totales y fecales (NOM-112-SSA1-1994 y BAM, Capítulo 4), *Salmonella* spp (NOM-114SSA1-1994), *Staphylococcus aureus* (NOM-115-SSA1-1994), *Vibrio cholerae* (NOM-031-SSA1-1993 y BAM,

Capítulo 9) y *Listeria monocytogenes* (NOM-143-SSA1-1995 y BAM, Capítulo 10). Las muestras fueron procesadas por duplicado en 2 repeticiones. De la misma manera fue evaluada la microbiología de la pasta de calamar previo a su procesamiento.

### **Análisis sensorial**

Con el fin de conocer la vida de anaquel sensorial del producto elaborado, determinando los cambios sensoriales durante su almacenamiento, se realizó una prueba de diferencias contra el control (Meilgaard *et al.*, 1987). Mediante esta prueba se detectan las diferencias existentes del producto durante su almacenamiento, con respecto a una muestra control. Cabe señalar que se tomó como control, producto correspondiente al día 0, el cual se mantuvo almacenado en una cámara de refrigeración a 0°C, mientras que las muestras se mantuvieron a 4°C. La evaluación sensorial fue llevada a cabo por un grupo de 8 panelistas entrenados trabajadores del CIAD, los cuales recibieron sesiones de entrenamiento para realizar esta evaluación.

Las muestras para su evaluación sensorial fueron preparadas cortando aproximadamente 2 cm de rollo y colocadas en vasos de corcho con tapadera plástica, para su identificación se les asignó un número (al azar) de 2 dígitos. En cada sesión se sirvió a los panelistas la referencia (control) y la muestra correspondiente al día de almacenamiento evaluado, las cuales habían sido previamente rotuladas. Las evaluaciones fueron realizadas en paneles individuales proporcionándose en cada sesión agua natural y galletas sin sal a los panelistas, para la neutralización de sabores entre muestras. Para determinar las diferencias de los atributos sensoriales, se utilizó una escala no estructurada de 7 cm, donde el 0 = nada (sin diferencia) y el 7 = extremadamente diferentes. Los panelistas evaluaron diferentes atributos como: color, apariencia, olor, sabor, textura al morder y textura al

masticar (ver anexo B). Las diferencias se calcularon promediando los valores obtenidos para cada atributo/día.

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Se llevó a cabo primero un ANOVA de una vía para determinar diferencias en la composición proximal de los productos del tratamiento control y tratamiento con fibra, mientras que para evaluar el efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento se utilizó un diseño factorial tomando como factores a la inclusión de fibra cítrica y el tiempo de almacenamiento. Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer con un nivel de significancia del 5%. Se utilizó el programa estadístico NCSS (2001). Se realizaron 2 repeticiones por tratamiento.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### ETAPA I

---

#### Efecto de la Adición de Fibra Cítrica sobre las Propiedades Fisicoquímicas de Geles de Músculo de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)

##### **Análisis proximal**

Los resultados de la composición proximal de los geles de músculo de calamar adicionados con fibra y el control se muestran en la Tabla 7. De ella podemos observar que la adición de fibra cítrica favoreció la retención de agua ( $p \leq 0.05$ ; hasta en 1%) de las proteínas del músculo de calamar durante la cocción comparadas con el control; hay que recordar que los soles fueron ajustados al 80% de humedad. Lo anterior muestra la ventaja tecnológica de la utilización de fibra cítrica en geles producidos con músculo de calamar, ya que la no utilización de la misma traería pérdida de peso en el producto y por consecuencia pérdidas económicas. En cuanto al contenido de proteína se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en los geles a las concentraciones 3 y 4 de fibra con respecto al control (10.6 %, 10.6%, 11.5% respectivamente). Estas diferencias pueden ser explicadas por la diferente cantidad de fibra cítrica adicionada, siendo los tratamientos con mayor concentración de fibra (3 y 4) los que presentaron el contenido más bajo de proteína. Para el resto de los parámetros de la composición proximal no se encontró diferencia ( $p > 0.05$ ) respecto al control.

La adición de fibra cítrica afectó el parámetro de pH (Tabla 7) de los geles producidos, mostrando un comportamiento inverso, esto es, disminuyendo su valor conforme fue aumentando el contenido de fibra. Sin embargo, solo los geles adicionados con la concentración 3 y 4 de fibra mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al resto de los geles. Este efecto (disminución del pH) se entiende por la naturaleza de la fibra, la cual es proveniente de la pulpa de la naranja. Por otra parte, se realizó un análisis de pH a la fibra pura en agua dando un pH de 4.3.

**Tabla 7.** Composición proximal y pH de los geles obtenidos.

Variable	Tratamientos					EEM
	Control	Conc. 1	Conc. 2	Conc. 3	Conc. 4	
Humedad	79.0 <sup>a</sup>	79.8 <sup>b</sup>	79.5 <sup>ab</sup>	80.0 <sup>b</sup>	80.0 <sup>b</sup>	0.34
Proteína	11.5 <sup>a</sup>	10.9 <sup>ab</sup>	11.0 <sup>ab</sup>	10.6 <sup>b</sup>	10.6 <sup>b</sup>	0.19
Cenizas	3.1 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	0.07
Grasa	0.46 <sup>a</sup>	0.47 <sup>a</sup>	0.42 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	0.03
NNP	0.72 <sup>a</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	0.01
pH	6.40 <sup>a</sup>	6.36 <sup>a</sup>	6.35 <sup>a</sup>	6.20 <sup>b</sup>	6.10 <sup>c</sup>	0.02

Los datos corresponden a la media de n = 3. Diferente literal dentro de hilera indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). EEM: Error estándar de la media.

## Análisis de textura

En la Tabla 8 se muestran los resultados del análisis de perfil de textura y de la prueba de doblado de los geles adicionados con diferente concentración de fibra cítrica. Aunque no se encontraron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) en la dureza y fracturabilidad de las muestras, se observó que los geles adicionados con fibra cítrica a cualquier concentración presentaron valores mayores en ambos parámetros que el control (sin fibra).

Por el contrario, la adición de fibra cítrica afectó el parámetro de cohesividad (Tabla 8) de los geles producidos, observándose en general valores menores en los tratamientos con fibra con respecto al control, además de una tendencia a disminuir conforme se incrementó la concentración de fibra. Sin embargo, solo el tratamiento adicionado con la concentración 4 de fibra mostró diferencia ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al control. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Sánchez-Alonso *et al.* (2007), quienes al utilizar una fibra insoluble de trigo, observaron una disminución de la cohesividad de geles de surimi de calamar gigante al incrementar la concentración de fibra de trigo; sin embargo estos autores también encontraron que la dureza del gel disminuía con la adición de fibra dietaria, contrario a lo que se encontró en el presente estudio. Esta diferencia parece venir del tipo de fibra utilizada, insoluble *versus* 50% soluble (fibra cítrica). Así mismo, esta solubilidad parece auxiliar a la estructura del gel formado, manteniendo con ello su dureza.

Por otro lado, el parámetro de elasticidad se vio afectado ( $p \leq 0.05$ ) por la presencia de fibra en las concentraciones 2, 3 y 4, presentando geles menos elásticos que el control (Tabla 8). Al igual que en el parámetro de cohesividad, para elasticidad se observó la tendencia a disminuir conforme el incremento de fibra. Independientemente de la concentración utilizada de fibra, no se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) en la prueba de doblado, obteniéndose geles de ligeramente elásticos a moderadamente elásticos, con valores de 3.5 a 4. Aunque no hubo diferencias estadísticas, se observó una tendencia a disminuir la calidad de gel

**Tabla 8.** Análisis de perfil de textura (APT) y prueba de doblado (PD) de los geles de músculo de calamar adicionados con diferente concentración de fibra cítrica.

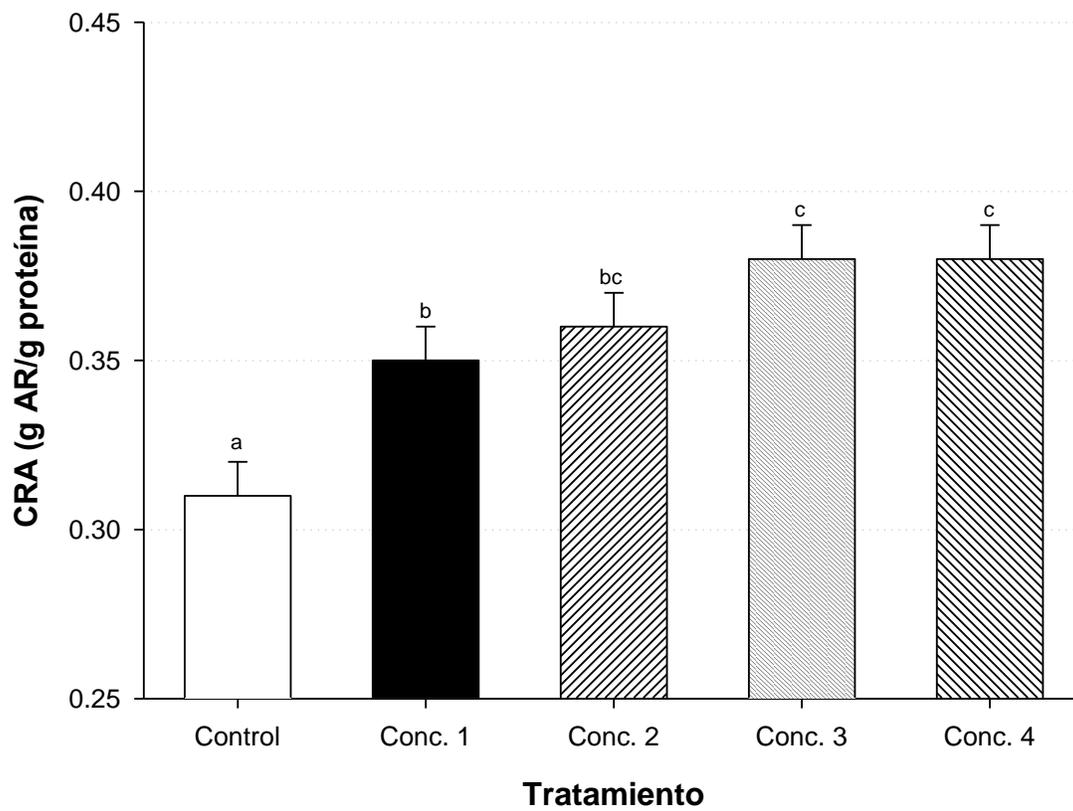
Variable	Tratamientos					EEM
	Control	Conc. 1	Conc. 2	Conc. 3	Conc. 4	
Dureza (gf)	295.6 <sup>a</sup>	319.5 <sup>a</sup>	328.1 <sup>a</sup>	348.7 <sup>a</sup>	362.3 <sup>a</sup>	18.03
Fractura (gf)	226.5 <sup>a</sup>	230.8 <sup>a</sup>	249.8 <sup>a</sup>	277.3 <sup>a</sup>	304.5 <sup>a</sup>	24.65
Cohesividad (%)	35.2 <sup>a</sup>	34.1 <sup>a</sup>	32.4 <sup>ab</sup>	30.7 <sup>ab</sup>	27.9 <sup>b</sup>	1.25
Elasticidad (%)	49.5 <sup>a</sup>	47.2 <sup>ab</sup>	43.6 <sup>b</sup>	43.5 <sup>b</sup>	42.4 <sup>b</sup>	1.24
PD	3.8 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>	0.14

Los valores corresponden a la media de n = 3. Diferente literal dentro de hilera indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). EEM: error estándar de la media.

conforme se aumentó la concentración de fibra, con excepción del tratamiento con la concentración 3 de fibra, sugiriendo que a esta concentración se haya dado un punto de equilibrio entre los componentes del gel, dando una red tridimensional más ordenada.

### **Capacidad de retención de agua (CRA)**

En la Figura 4 se muestra la capacidad de retención de agua de los geles de músculo de calamar adicionados con diferente concentración de fibra cítrica. Se encontraron marcadas diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en la CRA de los geles adicionados con fibra respecto al control (sin fibra) presentando este último la menor CRA con 0.31 gramos de agua retenida (AR) por gramo de proteína. Se observó un incremento en la CRA de los geles por la adición de la fibra, y ésta a su vez, se vio favorecida ( $p \leq 0.05$ ) a partir de la concentración 2 en adelante de fibra. Los geles con las concentraciones 3 y 4 de fibra cítrica, aunque presentaron menor contenido de proteína ( $p \leq 0.05$ ), mostraron la mayor CRA (ambos 0.38 g AR/g proteína), presentando un aumento del 22.58% en la CRA con respecto al control, lo cual denota claramente el efecto positivo de la hidratación y de la retención de esta agua de la fibra utilizada. Estos resultados difieren completamente con lo observado por Sánchez-Alonso *et al.* (2007), quienes reportaron una CRA menor (que el control sin fibra) en geles de surimi de calamar adicionados con fibra de trigo (insoluble), atribuyendo este efecto al menor contenido de proteína que presentaron los geles adicionados con fibra. Sin embargo, este efecto no se observó en el presente estudio.



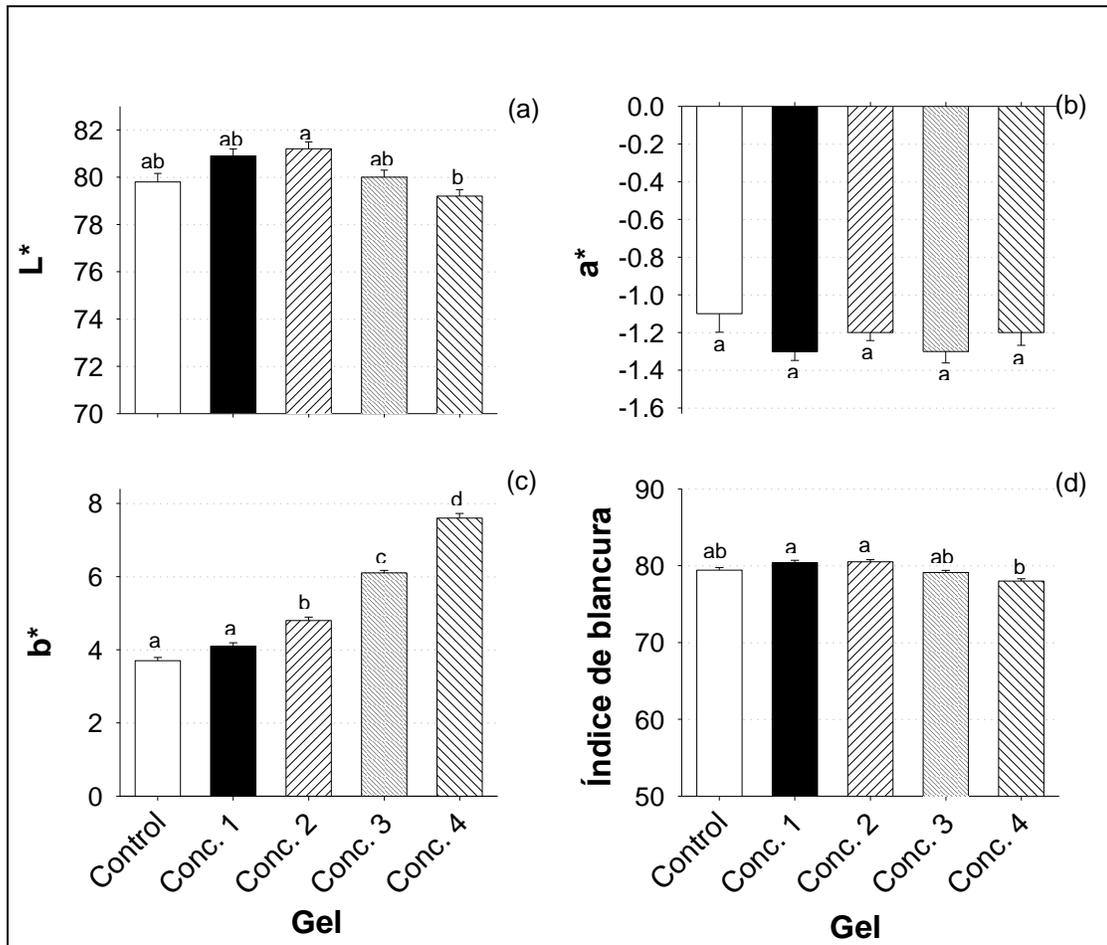
**Figura 4.** Capacidad de retención de agua (gramos de agua retenida/ gramos de proteína) de geles de músculo de calamar gigante con diferente concentración de fibra cítrica. Los valores son la media  $\pm$  error estándar de  $n = 3$ . Barras con diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

## Color

En la Figura 5 se muestran los parámetros de color de los geles de músculo de calamar con diferente concentración de fibra cítrica añadida. Se observaron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en todos los parámetros de color de los geles excepto por el parámetro  $a^*$  que mostró un valor promedio de -1.22 para todos los tratamientos. Con respecto a la luminosidad ( $L^*$ ) solo se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en el gel con la concentración 2 de fibra con respecto al gel con la concentración 4, presentando éste último el valor menor de  $L^*$ . Este efecto puede estar relacionado con el pH, ya que en los geles con mayor concentración de fibra se observó una disminución del pH. Algunos autores (Hunt *et al.*, 1991; Fernández-López *et al.*, 2002) han reportado que la luminosidad depende del efecto del pH sobre la estructura de las proteínas, de tal manera que cambios de pH provocan la desnaturalización de proteínas afectando sus propiedades de refracción de luz.

Por otro lado, el parámetro  $b^*$  fue el que se vio mayormente afectado ( $p \leq 0.05$ ) por la adición de fibra cítrica, observándose un aumento conforme se incrementó la concentración de fibra a partir de la concentración 2. Lo anterior concuerda con la observación visual de los geles, los cuales presentaron una coloración amarilla, incrementándose el color conforme el aumento de fibra.

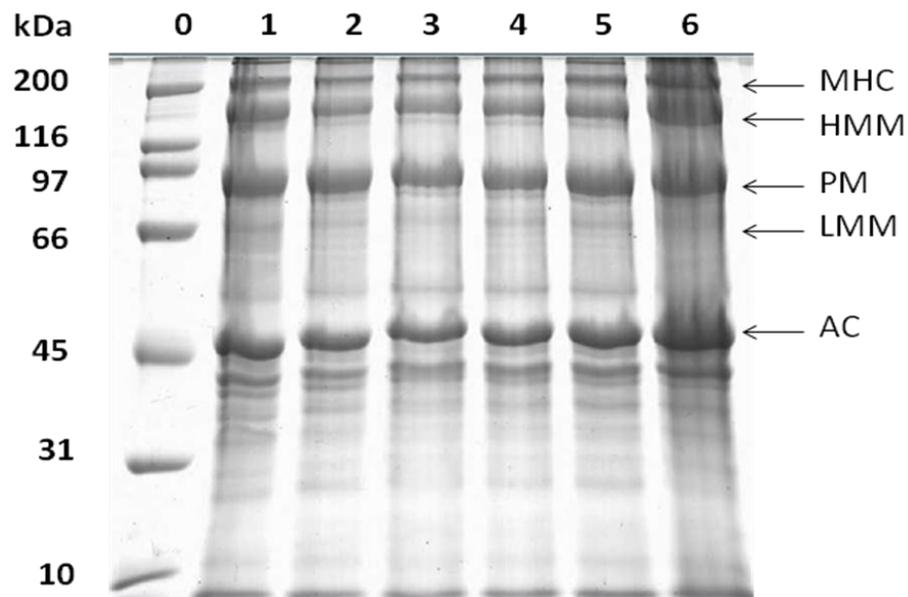
Respecto al índice de blancura (IB), en general se obtuvieron valores similares para todos los geles, encontrándose diferencias ( $p \leq 0.05$ ) solo entre los geles con las concentraciones 1 y 2 de fibra con respecto al gel con la concentración 4 de fibra, obteniendo el menor valor a la mayor concentración. Los valores obtenidos en el presente estudio coinciden con lo reportado por Cortés-Ruiz (2008) para geles de músculo de calamar gigante (IB = 79.8). El índice de blancura es considerado como un indicador muy útil para la evaluación de color del surimi y geles de surimi. El surimi con un IB de 75 o más, es considerado de excelente calidad (Huntin y Kelleher, 1999). El hecho de que la fibra cítrica no afectó el IB de los geles obtenidos con respecto al control, hace atractiva su utilización en este tipo de muestra.



**Figura 5.** Parámetros de color de geles de músculo de calamar gigante con diferente concentración de fibra cítrica. (a) L\*; (b) a\*; (c) b\* y (d) índice de blancura. Los valores son la media  $\pm$  error estándar de  $n = 3$ . Barras con diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

## Perfil electroforético

En la Figura 6 se muestra el perfil electroforético del músculo y geles de calamar adicionados con diferente concentración de fibra cítrica. En general, no se observaron diferencias entre el perfil electroforético del músculo y de los geles producidos con/sin fibra, mostrando un patrón similar de 4 bandas principales. Los principales componentes visibles fueron la cadena pesada de miosina (MHC, por sus siglas en inglés) con un peso molecular aproximado de 200 kDa, actina (AC) de 45 kDa, además de una proteína que supone ser paramiosina (PM) alrededor de los 95 kDa. Cabe mencionar que la MHC fue obtenida en menor proporción que un músculo fresco de acuerdo con Ramírez-Suárez *et al.* (2008). Debido a que en el presente estudio se utilizó músculo de calamar congelado sin conocer las condiciones de manejo del mismo, la menor cantidad de MHC obtenida hace suponer la presencia de posibles productos de la autólisis de la misma, como son la meromiosina pesada (HMM, por sus siglas en inglés) con un peso molecular de aproximadamente 150 kDa, así como de meromiosina ligera (LMM, por sus siglas en inglés) de aproximadamente 75 kDa (Cortés-Ruiz *et al.*, 2008; Kijowski, 2001). Es conocido que el músculo de calamar contiene enzimas proteolíticas que degradan las moléculas de miosina en fragmentos más cortos, las cuales han sido reportadas por otros autores (Konno *et al.*, 2003; Sánchez-Alonso *et al.*, 2007 y Cortés-Ruiz *et al.*, 2008).



**Figura 6.** Perfil electroforético del músculo y de los geles de calamar gigante adicionados con diferente concentración de fibra cítrica. Carril 0: Estándar; 1: músculo de calamar; 2: control; 3: gel conc. 1 fibra; 4: gel conc. 2 fibra; 5: gel conc. 3 fibra; 6: gel conc. 4 fibra. MHC: cadena pesada de miosina; HMM: meromiosina pesada; PM: paramiosina; LMM: meromiosina ligera; AC: actina.

## Comportamiento térmico

En un sistema cárnico, el proceso inducido por calor de mayor importancia es la desnaturalización térmica de las proteínas musculares. La estabilidad térmica de las proteínas influye sobre sus propiedades funcionales como la gelificación (Montejano *et al.*, 1984). La calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) ha sido reconocida como un método útil para estudiar las propiedades térmicas de proteínas *in situ*, de proteínas aisladas (Wright *et al.*, 1977; Stabursvik y Martens, 1980), y de las interacciones de proteínas con otros componentes.

Los resultados obtenidos en este estudio se muestran en la Tabla 9. En todos los tratamientos se presentaron 3 picos de transición, los cuales se vieron poco afectados por la presencia de fibra, aunque de manera significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto al control. El primer y segundo pico de transición (alrededor de los 42 y 59°C, respectivamente) podrían atribuirse a la desnaturalización de la miosina (cabeza o meromiosina pesada para el primer pico y cola o meromiosina ligera, proteínas sarcoplásmicas y tejido conectivo para el segundo pico) (Stabursvik y Martens, 1980) ya que las temperaturas de transición reportadas para miosina abarcan un rango de 43 a 61°C (Poterkhin *et al.*, 1979). El tercer pico se observó alrededor de 67-68 °C, el cual podría relacionarse con la desnaturalización de actina (Tseng *et al.*, 2003). La adición de fibra tuvo un efecto inverso ( $p \leq 0.05$ ) sobre la temperatura de desnaturalización de la cabeza de la miosina (pico uno) y actina (pico tres), disminuyendo ésta conforme aumentó el contenido de fibra. La adición de fibra cítrica en la concentración 4 disminuyó alrededor de un grado la temperatura de desnaturalización del primer y tercer pico endotérmico con respecto al control.

Este comportamiento hace suponer que tanto los hidroxilos, provenientes de la fibra soluble (hemicelulosa y pectina), así como el grupo funcional carboxilo, proveniente del ácido galacturónico de la pectina, interaccionaron de alguna manera con estas proteínas, desestabilizándolas y facilitando con ello su desnaturalización, corroborándose lo anterior con la disminución ( $p \leq 0.05$ , en todos los casos) en el

**Tabla 9.** Calorimetría diferencial de barrido de los soles de músculo de calamar con diferente concentración de fibra cítrica.

	Tratamientos					EEM
	Control	Conc. 1	Conc. 2	Conc. 3	Conc. 4	
<b>Transición 1</b>						
T <sub>D</sub> (°C)	42.7 <sup>a</sup>	42.2 <sup>b</sup>	42.1 <sup>b</sup>	42.0 <sup>b</sup>	41.7 <sup>c</sup>	0.01
ΔH <sub>D</sub> (J/g)	0.045 <sup>a</sup>	0.043 <sup>a</sup>	0.016 <sup>b</sup>	0.018 <sup>c</sup>	0.031 <sup>d</sup>	0.00
<b>Transición 2</b>						
T <sub>D</sub> (°C)	58.9 <sup>ab</sup>	58.9 <sup>ab</sup>	58.9 <sup>ab</sup>	59.2 <sup>a</sup>	58.8 <sup>b</sup>	0.01
ΔH <sub>D</sub> (J/g)	0.017 <sup>a</sup>	0.014 <sup>bc</sup>	0.013 <sup>b</sup>	0.015 <sup>c</sup>	0.006 <sup>d</sup>	0.00
<b>Transición 3</b>						
T <sub>D</sub> (°C)	68.8 <sup>a</sup>	68.0 <sup>b</sup>	67.8 <sup>bc</sup>	67.5 <sup>c</sup>	67.6 <sup>bc</sup>	0.03
ΔH <sub>D</sub> (J/g)	0.106 <sup>a</sup>	0.085 <sup>b</sup>	0.097 <sup>c</sup>	0.075 <sup>d</sup>	0.087 <sup>b</sup>	0.00

Diferente literal dentro de la misma hilera indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). T<sub>D</sub>, temperatura de desnaturalización; ΔH<sub>D</sub>, entalpia de desnaturalización. EEM: error estándar de la media.

requerimiento de energía de desnaturalización ( $\Delta H_D$ ). Otra posible causa de este comportamiento, es el efecto causado por el cambio de pH producido en el gel al adicionarse la fibra. Se sabe que la concentración de proteína, además de otros parámetros como el pH, la fuerza iónica, la estructura terciaria y cuaternaria de la proteína influyen en su estabilidad conformacional (Hermansson, 1978).

## CONCLUSIONES PARCIALES

La adición de fibra cítrica mejoró la retención de agua durante la cocción de los geles de músculo de calamar, lo cual a su vez podría significar un mayor rendimiento de producción. A este respecto, los mejores resultados fueron observados a las concentraciones 2, 3 y 4 de fibra añadida; sin embargo, la utilización de fibra cítrica entre la concentración 2 y 3 parece ser el punto medio para la mayoría de los parámetros tecnológicos como rendimiento de cocción y capacidad de retención de agua. Por lo cual, con base en estos resultados, se sugiere utilizar la fibra cítrica a la concentración 2 ó 3 para el resto del estudio.

Este estudio mostró la viabilidad de utilizar la fibra cítrica comercial Citri-Fi® 100 FG para mejorar propiedades fisicoquímicas de geles de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

## ETAPA II

---

### Metodología de Superficie de Respuesta

**Nota Aclaratoria:** En esta sección debido a la naturaleza del análisis, solo se mencionarán los datos experimentales obtenidos para cada parámetro evaluado, mientras que en la siguiente sección se discutirá el efecto de los factores de estudio.

#### **Análisis proximal**

El análisis proximal de las diferentes formulaciones obtenidas por el diseño compuesto rotacional  $2^3$ , el cual modifica las concentraciones de tres de sus ingredientes, se muestran en la Tabla 10. Como puede observarse, se obtuvieron valores de contenido de humedad del producto dentro de un rango de 72.3 a 79.5%. Se puede observar que los resultados estuvieron por encima del límite establecido en la norma no oficial NMX-F-065-1984 (70%); sin embargo, el tratar de ajustar el valor lo más cercano al 70%, afectó las cualidades sensoriales del producto. En cuanto al contenido de proteína se obtuvieron valores en el rango de 9.3 a 12.2%, resultando estos valores (a excepción del tratamiento 13) por encima del límite inferior establecido por la anterior norma no oficial (9.5%). El contenido más bajo de proteína fue observado en los tratamientos 13, 15 y 18 (9.3, 9.8 y 9.8%) respectivamente. De éstos, los tratamientos 13 y 15 corresponden al nivel medio de fibra, mientras que el 18 al más alto. Respecto al contenido de grasa, sus valores anduvieron dentro de un rango de 0.8 a 5.5%, todos dentro del límite máximo permitido (25%) por la norma no oficial anteriormente mencionada. Para cenizas, los productos mostraron valores dentro de un rango de 2.4-2.6%.

**Tabla 10.** Diseño compuesto rotacional  $2^3$  con los datos experimentales obtenidos de la composición proximal de los rollos de calamar.

Formulación	Variable independiente			Valores promedio de las variables de respuesta			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)
1	-1	-1	-1	77.0	11.6	1.7	2.6
2	1	-1	-1	75.2	11.4	4.8	2.6
3	-1	1	-1	75.7	11.9	1.6	2.5
4	1	1	-1	74.0	11.2	4.7	2.5
5	-1	-1	1	75.5	11.5	1.7	2.6
6	1	-1	1	73.3	11.4	4.2	2.6
7	-1	1	1	73.8	12.0	1.5	2.6
8	1	1	1	72.3	11.5	4.3	2.4
9	0	0	0	75.7	10.6	3.1	2.4
10	0	0	0	74.9	11.3	3.0	2.5
11	0	0	0	72.3	12.2	3.0	2.4
12	0	0	0	73.6	12.2	2.7	2.6
13	-1.682	0	0	79.5	9.3	0.8	2.4
14	1.682	0	0	72.7	11.6	5.5	2.5
15	0	-1.682	0	77.9	9.8	2.8	2.5
16	0	1.682	0	73.3	11.2	2.8	2.6
17	0	0	-1.682	75.9	11.2	3.3	2.5
18	0	0	1.682	75.1	9.8	2.9	2.5

X<sub>1</sub> = Aceite; X<sub>2</sub> = Almidón; X<sub>3</sub> = Fibra

## **Análisis Físicoquímicos**

En la Tabla 11 se muestran los resultados experimentales obtenidos de la evaluación físicoquímica de las diferentes formulaciones elaboradas para el rollo de calamar mediante el diseño compuesto rotacional  $2^3$ .

### CRA

Los valores obtenidos de CRA para cada una de las formulaciones oscilaron en un rango de 84 a 100%, correspondiendo el valor más bajo al tratamiento 1 seguido del tratamiento 13 (84.3%), ambos con diferentes niveles de ingredientes analizados. La CRA más elevada se encontró en los tratamientos 6, 10 y 14 (100, 99.9 y 100% respectivamente) los cuales correspondieron en su mayoría a los niveles medios de almidón ( $X_2$ ) y fibra ( $X_3$ ) con la variación en el nivel de aceite ( $X_1$ ). Lo anterior puede explicarse en términos del contenido de humedad, siendo 2 de ellos de los más bajos, y proteína, por arriba de la media de 11.2.

### pH

El pH de los 18 tratamientos osciló entre 5.95 a 6.44. La adición de diferentes ingredientes al producto tuvo un efecto en el pH del mismo, ya que la formulación con los menores niveles de ingredientes adicionados presentó un pH similar al músculo de calamar (6.3), mientras que la formulación con la mayor cantidad de fibra resultó con el pH más bajo, lo cual concuerda con los resultados de la primera etapa de este estudio. La mayoría de los resultados se encontraron dentro del rango de pH reportado para productos embutidos, el cual oscila entre 6.21-6.67 (Koniecko, 1979).

**Tabla 11.** Diseño compuesto rotacional  $2^3$  con los datos experimentales obtenidos de la evaluación fisicoquímica de los rollos de calamar.

Formulación	Variable independiente			Valores promedio de las variables de respuesta							
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	CRA (%)	pH	$a_w$	Dureza (kgf/g)	Cohesividad (%)	Elasticidad (%)	E Corte (kgf)	PD
1	-1	-1	-1	84.0	6.44	0.95	1.27	43.8	83.8	0.76	3.4
2	1	-1	-1	92.4	6.37	0.95	1.16	42.6	83.0	0.78	3.2
3	-1	1	-1	93.4	6.42	0.96	1.26	42.1	83.5	0.84	3.1
4	1	1	-1	97.5	6.42	0.97	1.26	37.7	83.4	0.82	3.1
5	-1	-1	1	94.5	6.12	0.96	1.47	33.2	71.8	0.85	3.0
6	1	-1	1	100.0	6.14	0.93	1.37	33.3	76.1	1.07	3.0
7	-1	1	1	98.2	6.19	0.98	1.79	32.0	63.4	1.06	3.1
8	1	1	1	97.7	6.09	0.92	1.38	29.4	55.6	0.87	3.0
9	0	0	0	95.1	6.19	0.96	1.08	33.0	81.0	0.66	3.0
10	0	0	0	99.9	6.06	0.95	1.43	33.2	75.8	0.92	3.3
11	0	0	0	92.7	6.20	0.91	1.35	33.1	83.1	0.74	3.1
12	0	0	0	91.2	6.32	0.95	1.90	45.8	76.8	1.18	4.0
13	-1.682	0	0	84.3	6.25	0.91	1.06	35.5	85.9	0.56	3.6
14	1.682	0	0	100.0	6.26	0.98	1.86	38.3	74.5	0.96	3.2
15	0	-1.682	0	85.9	6.29	0.92	1.07	40.2	86.2	0.73	4.2
16	0	1.682	0	97.0	6.26	0.96	1.78	42.0	76.7	0.87	3.3
17	0	0	-1.682	90.5	6.36	0.98	1.18	39.9	81.0	0.84	3.3
18	0	0	1.682	98.4	5.95	0.94	1.21	29.1	51.2	1.00	3.0

$X_1$ =Aceite; $X_2$ =Almidón; $X_3$ =Fibra

## $a_w$

Los valores de  $a_w$  obtenidos se encontraron entre 0.91 a 0.98. Los tratamientos 11 y 13 presentaron el valor más bajo (0.91), mientras los tratamientos 7, 14 y 17 obtuvieron el valor más alto (0.98).

## Textura

Los parámetros obtenidos del análisis de perfil de textura (APT) han sido utilizados por diversos autores para evaluar la textura de diferentes productos cárnicos. Así, las mediciones del APT pueden definir la calidad del producto terminado y contribuir en la selección de la mejor combinación de ingredientes utilizados (Herrero *et al.*, 2007).

Para el parámetro de dureza, se obtuvieron valores en un rango de 1.06 a 1.9 kgf/g (Tabla 11). El tratamiento 13 presentó el valor más bajo en la dureza (1.06), lo cual puede explicarse debido a que éste mismo tuvo el contenido de humedad más alto, correspondiendo al nivel bajo de aceite y al nivel medio tanto de almidón como de fibra. Por otro lado, el tratamiento 12 obtuvo el promedio más elevado (1.9 kgf/g) correspondiendo a los niveles medios de cada factor.

Respecto al parámetro de cohesividad se puede observar que el tratamiento 18 obtuvo el valor más bajo (29.1%) mientras que el porcentaje más alto correspondió al tratamiento 12 (45.8%). Ambos tratamientos tuvieron el mismo nivel de almidón y de aceite, con variación en el nivel de fibra. Respecto a la elasticidad, de acuerdo a los resultados (Tabla 11) el tratamiento 18 fue el menos elástico (51.2%) y el 15 presentó el valor más alto (86.2%). En cuanto a la fracturabilidad, es importante mencionar que solo el tratamiento 8 presentó fractura homogénea de todas las muestras evaluadas (1.24 kgf/g) por lo que este parámetro no es mostrado dentro de la Tabla 11.

Por otra parte, los valores obtenidos en la prueba de esfuerzo al corte (Tabla 11) oscilaron en un rango de 0.56 a 1.18 kgf, correspondiendo el resultado más bajo al tratamiento 13 y el promedio más alto al tratamiento 12. Estos resultados coinciden con lo obtenido en el parámetro de dureza. Referente a la prueba de doblado, los valores obtenidos fueron muy similares, a excepción de los tratamientos 15 y 12, los cuales obtuvieron geles de mayor calidad presentando una puntuación más alta (4.2 y 4.0) respectivamente. Es importante mencionar que la calidad de gel de los demás productos es considerada de buena a aceptable mediante la utilización de esta prueba.

### Análisis de Color

#### Color interno

El color es el primer atributo y uno de los criterios más utilizados por el consumidor para elegir un alimento, ya que refleja su calidad, de ahí deriva la importancia de su medición (Xiong *et al.*, 1999). En la Tabla 12 se muestran los resultados experimentales de los parámetros de color interno de los 18 tratamientos estudiados. Los valores de L\* (luminosidad) obtenidos oscilaron en un rango de 65.92 a 77.32, correspondiendo el valor mínimo al tratamiento 13 (nivel mínimo de aceite y mayor contenido de humedad) y el más alto al tratamiento 14 (nivel máximo de aceite y uno de los de más baja humedad). Algunos autores exponen que al reducir el contenido de grasa en productos emulsificados, generalmente hay un incremento en el contenido de agua, lo cual puede alterar la naturaleza del sistema, teniendo efectos sobre el color y la textura, entre otros (Claus y Hunt, 1991; Cavestany *et al.*, 1994). Para el parámetro a\* (+/-, rojo/verde) se obtuvieron valores en un rango de 3.63 a 7.62 (escala positiva del rojo). Respecto al parámetro b\* (+/-, amarillo/azul), se obtuvieron valores en un rango de 13.66 a 25.36, correspondiendo el valor más bajo al tratamiento 13 y el valor más alto al tratamiento 6. En general, se observó una tendencia similar a lo obtenido para el valor a\*.

**Tabla 12.** Diseño compuesto rotacional  $2^3$  con los datos experimentales obtenidos en la evaluación de color de los rollos de calamar.

Fórmula	Variable independiente			Color interno				Color externo			
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	L*	a*	b*	Ángulo de Matiz	L*	a*	b*	Ángulo de matiz
1	-1	-1	-1	75.65	4.52	17.81	75.78	77.03	4.63	19.80	76.85
2	1	-1	-1	76.65	7.62	23.34	71.92	76.97	8.03	24.88	72.10
3	-1	1	-1	74.05	5.40	20.37	75.16	75.24	5.51	20.89	75.23
4	1	1	-1	76.59	6.91	23.94	73.93	77.30	7.17	25.87	74.48
5	-1	-1	1	74.36	6.28	21.88	73.98	76.39	6.13	21.94	74.36
6	1	-1	1	76.49	7.61	25.36	73.32	76.35	8.13	25.89	72.57
7	-1	1	1	75.38	4.42	21.83	78.55	75.65	4.78	20.71	77.00
8	1	1	1	70.54	5.47	17.99	73.08	71.30	5.11	17.02	73.27
9	0	0	0	70.56	4.01	15.27	75.29	72.10	4.10	15.92	75.54
10	0	0	0	76.29	6.17	22.46	74.62	76.03	6.66	23.81	74.35
11	0	0	0	70.23	4.67	15.70	73.43	71.82	4.67	15.75	73.47
12	0	0	0	76.50	6.68	23.91	74.38	76.66	6.07	23.42	75.48
13	-1.682	0	0	65.92	3.63	13.66	75.15	69.35	3.76	14.97	75.91
14	1.682	0	0	77.32	7.61	24.55	72.77	78.05	7.91	24.88	72.35
15	0	-1.682	0	71.25	4.11	15.21	74.87	75.46	3.59	16.65	77.84
16	0	1.682	0	75.24	5.23	22.10	76.70	76.42	4.85	22.44	77.79
17	0	0	-1.682	75.33	7.37	20.19	69.94	75.93	7.75	21.45	70.10
18	0	0	1.682	69.46	4.91	17.17	74.05	71.87	4.78	18.28	75.34

X<sub>1</sub>=Aceite; X<sub>2</sub>=Almidón; X<sub>3</sub>=Fibra

Una mejor manera de observar los cambios en los valores de  $a^*$  y  $b^*$  en el producto, es integrándoles en el ángulo de matiz. En la Tabla 12 se observan valores de 69.94 a 78.55 para este parámetro. El tratamiento 17 (nivel bajo de fibra) obtuvo el valor más bajo, mientras el tratamiento 7 el más alto. El color interno obtenido, situó a los productos en el cuadrante I (rojo-amarillo) de la esfera cromática de color.

### Color externo

Los resultados obtenidos en la evaluación del color externo de los rollos de calamar se muestran en la Tabla 12. Los valores obtenidos para  $L^*$  se encontraron entre 69.35 y 78.05. El valor  $L^*$  más bajo correspondió al tratamiento 13 mientras que el más alto al 14. La única diferencia en la formulación de estos tratamientos fue el nivel de aceite, correspondiendo el primero al nivel más bajo y el segundo al más alto. Este comportamiento fue similar al encontrado para  $L^*$  en la parte interna de los rollos de calamar. Los valores obtenidos para  $a^*$  se encontraron en la escala positiva del rojo, encontrándose dentro de un rango de 3.59 a 8.13. En cuanto al parámetro  $b^*$ , los resultados oscilaron en un rango de 14.97 a 25.89, ubicándose en la escala positiva (amarillo). El tratamiento 13 obtuvo el valor más bajo y el 6 el más alto. Como puede observarse en la Tabla 12, los valores obtenidos para el ángulo de matiz oscilan de 70.1 a 77.84, resultados que sitúan a los productos en el cuadrante I (rojo-amarillo) de la esfera cromática de color.

En general, se observó un ligero aumento generalizado en los valores obtenidos en los parámetros de color externo con respecto a los obtenidos para el color interno.

### **Análisis sensorial**

El análisis sensorial es un método utilizado ampliamente para evaluar las propiedades organolépticas de productos alimenticios (Casaburi *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de los 18 productos estudiados se

muestran en la Tabla 13, mientras que el formato de la evaluación con la escala utilizada para cada parámetro se muestra en el anexo A. Respecto al color, en una escala donde 10 equivale a “me gusta mucho”, la mayoría de los productos obtuvieron buena puntuación, siendo el valor más alto el del tratamiento 12 con 9.4 puntos mientras que el más bajo lo presentó el tratamiento 15 con 6.1 puntos. Cabe mencionar que la única diferencia entre estos tratamientos fue el nivel de almidón utilizado. En cuanto al sabor, en la misma escala, los productos obtuvieron una puntuación entre 8.2 y 9.1, siendo el valor más bajo para el tratamiento 14, mientras que el más alto lo obtuvo el tratamiento 12. Respecto a la apariencia total, misma escala que las anteriores, a excepción de los tratamientos 2 y 14, todos los demás obtuvieron una puntuación aceptable (mayor a 7.5) siendo 5 el punto “ni me gusta ni me disgusta”. El tratamiento 10 fue el mejor evaluado con una puntuación de 9.5, aunque el tratamiento 12 mostró puntuación alta (8.8) por igual.

Haciendo una relación de los parámetros de color, sabor y apariencia total, los tratamientos mejor evaluados por los panelistas fueron el 10 y 12 los cuales correspondieron a los puntos centrales del diseño.

Referente al atributo de textura al morder, donde el valor de 5 representa el ideal, la puntuación obtenida osciló en un rango de 2.6 a 6.9, lo cual indica que se obtuvieron productos desde una textura dura (< 5) a una ligeramente blanda (> 5). Los tratamientos que más se acercaron al valor óptimo (5) con una puntuación de 4.9 fueron el 9 y 16. Por otra parte, los tratamientos 10 y 11 también presentaron valores un cercanos a 5 (5.3 y 5.2 respectivamente). En cuanto al atributo de textura al masticar (misma escala que el anterior), los valores obtenidos comprendieron entre el rango de 2.7 a 7.2 puntos. El tratamiento 2 obtuvo la puntuación más baja mientras el 15 la más alta. Como puede observarse en la Tabla 13, los tratamientos 9 y 18 obtuvieron valores de 5 (ideal), sin embargo es importante resaltar que hubo tratamientos que estuvieron muy próximos al valor ideal, ya sea un poco arriba (6, 10) o por debajo (16 y 12) de este.

**Tabla 13.** Diseño compuesto rotacional ( $2^3$ ) con los datos experimentales obtenidos en la evaluación sensorial de los rollos de calamar.

Fórmula	Variable independiente			Valores promedio de las propiedades sensoriales evaluadas				
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Color	Sabor	Apariencia total	Textura al morder	Textura al masticar
1	-1	-1	-1	9.1	8.7	8.6	5.6	5.4
2	1	-1	-1	8.6	8.3	2.7	2.6	2.7
3	-1	1	-1	8.8	8.4	8.4	5.7	5.4
4	1	1	-1	8.9	9.0	7.6	3.4	3.6
5	-1	-1	1	9.0	8.4	9.0	4.5	4.5
6	1	-1	1	9.3	9.0	8.5	5.3	5.1
7	-1	1	1	8.9	8.7	9.3	3.0	2.8
8	1	1	1	8.7	8.7	7.6	4.8	4.6
9	0	0	0	8.1	8.6	8.1	4.9	5.0
10	0	0	0	9.1	8.9	9.5	5.3	5.4
11	0	0	0	7.7	8.6	8.1	5.2	5.5
12	0	0	0	9.4	9.1	8.8	4.8	4.8
13	-1.682	0	0	8.1	8.7	8.4	6.9	7.0
14	1.682	0	0	8.5	8.2	4.9	3.3	3.2
15	0	-1.682	0	6.1	8.4	8.4	6.8	7.2
16	0	1.682	0	9.3	9.0	8.7	4.9	4.9
17	0	0	-1.682	8.7	8.6	8.7	4.6	4.8
18	0	0	1.682	8.5	8.8	8.1	4.8	5.0

X<sub>1</sub>=Aceite; X<sub>2</sub>=Almidón; X<sub>3</sub>=Fibra

Haciendo una relación general de todos los parámetros evaluados, los tratamientos correspondientes a los puntos centrales del diseño (9, 10 y 12) obtuvieron una muy buena evaluación por los panelistas.

### Efecto de los Factores ó Modelos Predictivos

#### **Análisis proximal**

El análisis de regresión realizado para las variables del análisis proximal (humedad, proteína, grasa y cenizas), mostró modelos reducidos significativos únicamente para las variables humedad y grasa (Tabla 14). La contribución relativa de cada factor sobre las respuestas evaluadas fue medida por el coeficiente de regresión en el modelo ajustado. El signo positivo de los coeficientes de regresión indica que por cada unidad de incremento de la variable independiente (factor), la variable de respuesta también aumenta, mostrando una relación positiva entre la respuesta y el factor. Por otro lado, el signo negativo indica una relación inversa entre el factor y la respuesta, a medida que se incrementa la variable independiente la variable de respuesta disminuye (Wong *et al.*, 2009).

Para humedad se encontraron significativas ( $p \leq 0.05$ ) las formas lineales de  $X_1$  (aceite) y  $X_2$  (almidón) mostrando ambas una relación inversa con la variable de respuesta, con una  $R^2$  de 0.69. Lo anterior indica que el 69% de la variabilidad de los datos obtenidos puede ser explicada por el modelo. En la Figura 7a se aprecia el efecto del aceite y almidón sobre la humedad, donde puede observarse que al modificar tanto el contenido de aceite como de almidón, la humedad del producto disminuye. Estos resultados son consistentes con los resultados de Sariçoban *et al.* (2009), quienes reportaron que la adición de grasa en patés disminuyó el contenido de humedad. Por otro lado, Beggs *et al.* (1997) reportaron que la adición de almidón a salchichas de pavo presentó un efecto negativo sobre la humedad, lo cual coincide

**Tabla 14.** Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para la composición proximal de los rollos de calamar.

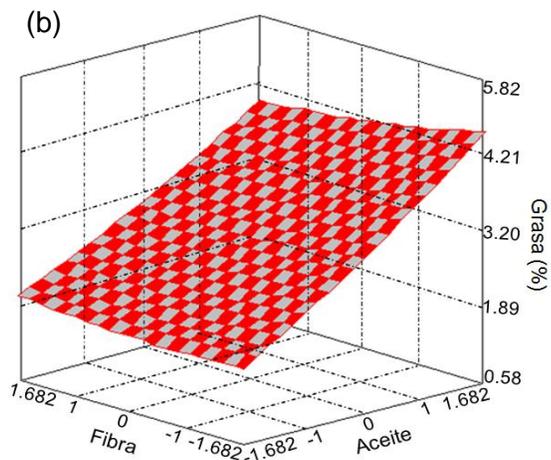
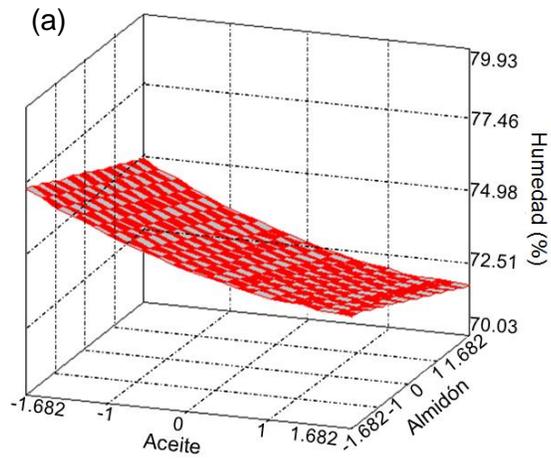
<b>Variable de Respuesta</b>	$B_0$	$B_1X_1$	$B_2 X_2$	$B_3 X_3$	$B_{11}X^2$	$B_{22}X^2$	$B_{33}X^2$	$B_{12}X_{12}$	$B_{13}X_{13}$	$B_{23}X_{23}$	$R^2$
Humedad	40.05 (0.0001)	-4.05 (0.0014)	-1.82 (0.0148)	-2.81 (0.0926)		1.04 (0.3187)					0.69
Proteína	5.46 (0.0006)	0.59 (0.5745)	0.75 (0.4729)	-0.51 (0.6249)	-0.48 (0.6433)	-0.41 (0.6910)	-0.43 (0.6819)	-0.29 (0.7785)	0.1 (0.9251)	0.16 (0.8756)	0.18
Grasa	4.6 (0.0010)	45.78 (0.0001)	-0.71 (0.4918)	-4.2 (0.0018)	2.49 (0.0318)	-1.36 (0.2024)	1.94 (0.0810)			-279 (0.0192)	0.99
Cenizas	15.6 (0.0001)	-0.36 (0.7282)	-0.04 (0.9703)	-0.35 (0.7378)	0.11 (0.9114)	1.06 (0.321)	0.51 (0.6213)	-0.67 (0.5192)	-0.45 (0.665)	0.37 (0.7177)	0.22

Se indica entre paréntesis la probabilidad asociada con cada parámetro estimado.

$B_1X_1$ : Coeficiente para  $X_1$  (aceite)

$B_2X_2$ : Coeficiente para  $X_2$  (almidón)

$B_3X_3$ : Coeficiente para  $X_3$  (fibra)



**Figura 7.** Gráficas de superficie de respuesta en tercera dimensión para las variables del análisis proximal de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y almidón sobre la humedad; (b) efecto del aceite y fibra sobre la grasa.

con lo observado en este trabajo. Ambos estudios utilizaron un análisis de superficie de respuesta.

Para grasa se encontraron significativas ( $p \leq 0.05$ ) las formas lineales de  $X_1$  (aceite) y  $X_3$  (fibra). El factor  $X_1$  mostró una relación positiva observándose un aumento en la respuesta conforme se incrementó el nivel de aceite (Figura 7b). Lo anterior puede atribuirse al cambio en la relación porcentual de los ingredientes. Este mismo comportamiento fue observado por Sariçoban *et al.* (2009) en patés. El factor  $X_3$  mostró una relación inversa, observándose que al aumentar el nivel de fibra el porcentaje de grasa se vio disminuido. Estos resultados son consistentes con los resultados de Fernández-Ginés *et al.* (2003), quienes reportaron que la presencia de albedo (fibra cítrica de limón) disminuyó el contenido de grasa en bolonias, sin importar la concentración. Eim *et al.* (2008), observaron el mismo comportamiento al adicionar fibra de zanahoria en sobrasadas (salchicha de puerco seca fermentada).

Para la variable grasa también se encontró significativa ( $p \leq 0.05$ ) la forma cuadrática de  $X_1$ (aceite), lo cual indica que por cada unidad de incremento del aceite el contenido de grasa se duplica. Por otra parte, se encontró un efecto interactivo inverso de  $X_2 * X_3$  (almidón x fibra), disminuyendo significativamente ( $p \leq 0.05$ ) el contenido de grasa de los productos. Este efecto interactivo indica que el efecto del almidón sobre la grasa es dependiente del contenido de fibra. Para este modelo se obtuvo una  $R^2$  de 0.99, lo cual sugiere que el modelo puede explicar casi en la totalidad la variabilidad de los datos observados.

Para las variables proteína y cenizas no se encontraron efectos significativos ( $p > 0.05$ ) de ningún término. Por lo cual, las ecuaciones de regresión obtenidas por ajuste del modelo completo fueron las seleccionadas para estas variables de respuesta.

## Análisis fisicoquímicos

En la Tabla 15 puede observarse la importancia de cada factor en los modelos de regresión obtenidos para las variables del análisis fisicoquímico de los rollos de calamar. De estas, se encontraron modelos reducidos significativos ( $p \leq 0.05$ ) para las variables CRA, pH, cohesividad y elasticidad (Tabla 15), mientras que para las variables  $a_w$ , dureza, esfuerzo al corte y prueba de doblado, no se observó efecto ( $p > 0.05$ ) de los factores de estudio.

### CRA

La CRA se vio relacionada positivamente ( $p \leq 0.05$ ) con las formas lineales de  $X_1$  (aceite),  $X_2$  (almidón) y  $X_3$  (fibra), observándose que al incrementar su concentración la CRA se vio favorecida tal y como se muestra en la Figura 8a. De acuerdo a los resultados obtenidos, puede observarse que el factor que más influyó en la respuesta fue  $X_1$ , por presentar el coeficiente de regresión más alto (3.93) y una probabilidad ( $p$ ) menor (0.0028) (Tabla 15). Dicho efecto puede observarse en la Tabla 11 donde el tratamiento 13 (nivel mínimo de aceite) y el tratamiento 14 (nivel máximo de aceite) correspondieron al 2do valor más bajo y al valor más alto de CRA, respectivamente.

Por otro lado, el efecto positivo del almidón observado en este estudio sobre la CRA, concuerda con lo observado por Schut (1976) en emulsiones cárnicas. En cuanto al efecto positivo de la fibra sobre la CRA, éste puede observarse en la tendencia general de que a mayor fibra utilizada, mayor CRA en los tratamientos. La  $R^2$  obtenida para este modelo fue de 0.80, por lo cual se considera que la variabilidad de los datos obtenidos puede ser explicada adecuadamente.

**Tabla 15.** Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para las características fisicoquímicas de los rollos de calamar.

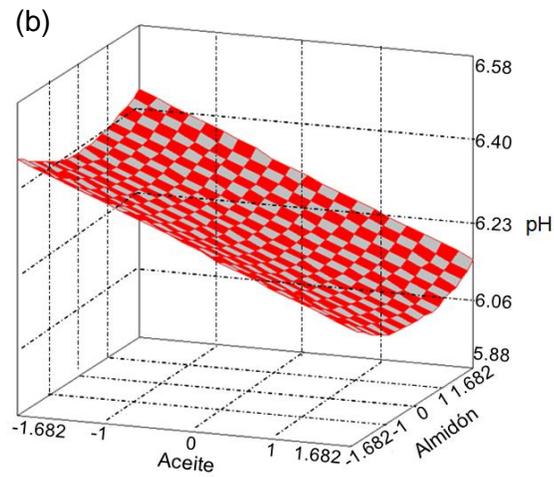
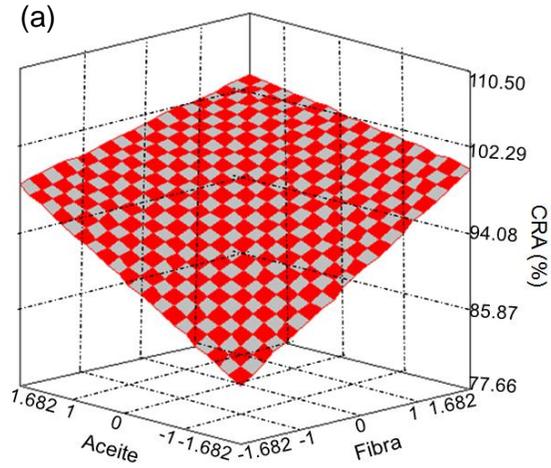
Variable de Respuesta	B <sub>0</sub>	B <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	B <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	B <sub>3</sub> X <sub>3</sub>	B <sub>11</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>22</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>33</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>12</sub> X <sub>12</sub>	B <sub>13</sub> X <sub>13</sub>	B <sub>23</sub> X <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
CRA (%)	13.98 (0.0001)	3.93 (0.0028)	3.09 (0.0114)	3.26 (0.0086)		-0.82 (0.4323)		-1.2 (0.2561)	-0.88 (0.401)	-1.53 (0.1565)	0.80
pH	60.2 (0.0001)	-0.57 (0.579)	-0.00 (1.0)	-7.70 (0.0001)	1.85 (0.088)	2.27 (0.0422)					0.85
a <sub>w</sub>	20.78 (0.0001)	0.40 (0.70)	1.14 (0.2881)	-1.14 (0.290)	0.24 (0.820)	-0.01 (0.990)	0.98 (0.35)	-0.28 (0.780)	-1.39 (0.200)	-0.28 (0.780)	0.42
Dureza (kgf/g)	1.0 (0.3453)	0.61 (0.5611)	1.35 (0.2151)	0.93 (0.380)	0.11 (0.9126)	-0.02 (0.9826)	-0.92 (0.3856)	-0.22 (0.8324)	-0.44 (0.6735)	0.26 (0.7997)	0.35
Cohesividad (%)	8.17 (0.0001)		-0.65 (0.5290)	-4.38 (0.0007)		1.57 (0.1402)	-0.84 (0.4176)				0.64
Elasticidad (%)	21.05 (0.0001)	-2.42 (0.0343)	-3.3 (0.007)	-9.34 (0.0001)			-5.55 (0.0002)	-1.83 (0.0952)		-2.59 (0.0251)	0.93
EC (kgf)	1.77 (0.1143)	1.1 (0.3017)	0.57 (0.5823)	1.44 (0.1867)	-0.58 (0.577)	-0.28 (0.7831)	0.59 (0.5724)	-0.92 (0.3825)	0.06 (0.9524)	-0.23 (0.827)	0.41
PD	6.69 (0.0002)	-0.69 (0.5094)	-1.28 (0.2355)	-0.86 (0.4173)	-0.50 (0.6302)	0.65 (0.5357)	-1.32 (0.222)	0.09 (0.9284)	0.09 (0.9284)	0.46 (0.6561)	0.42

Se indica entre paréntesis la probabilidad asociada con cada parámetro estimado.

B<sub>1</sub>X<sub>1</sub>: Coeficiente para X<sub>1</sub> (aceite)

B<sub>2</sub>X<sub>2</sub>: Coeficiente para X<sub>2</sub> (almidón)

B<sub>3</sub>X<sub>3</sub>: Coeficiente para X<sub>3</sub> (fibra)



**Figura 8.** Gráficas de superficie de respuesta para las variables del análisis fisicoquímico de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y de la fibra sobre la CRA; (b) efecto del aceite y de la fibra sobre el pH.

## pH

Para pH se encontró significativa ( $p \leq 0.05$ ) la forma lineal de  $X_3$  (fibra) mostrando una relación negativa con la respuesta (Figura 8b). Dicha relación puede observarse claramente en la Tabla 11, ya que en general, a mayor fibra utilizada, menor resultó el pH del producto. Estos resultados son consistentes con los mostrados por Fernández-López *et al.* (2007), quienes reportaron que al aumentar la concentración de fibra de naranja (cítrica) en salchichas de cerdo, el pH de éstas se vio disminuido. Algunos autores sugieren que debido al origen de las fibras cítricas, éstas poseen ácidos orgánicos y otros compuestos ácidos que pueden estar relacionados directamente con la disminución de los valores de pH (Larrauri, 1999; Fernández-López *et al.*, 2004). Por otro lado, se observó una relación positiva ( $p \leq 0.05$ ) de la forma cuadrática del almidón ( $B_{22}X^2$ ) respecto al pH, lo cual indica que por cada unidad de incremento de almidón el pH aumenta el doble. Para este modelo se obtuvo una  $R^2$  de 0.85.

## $a_w$

La  $a_w$  de los productos no se vio afectada ( $p > 0.05$ ) por efecto de los factores de estudio, por lo cual, la ecuación de regresión obtenida por ajuste de modelo completo fue seleccionada para esta variable. Se obtuvo  $R^2$  de 0.42, lo cual significa que menos del 50% de la variabilidad de los datos puede ser explicada por el modelo.

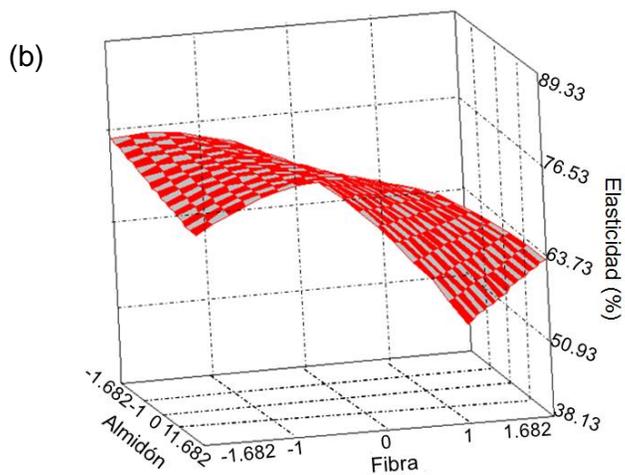
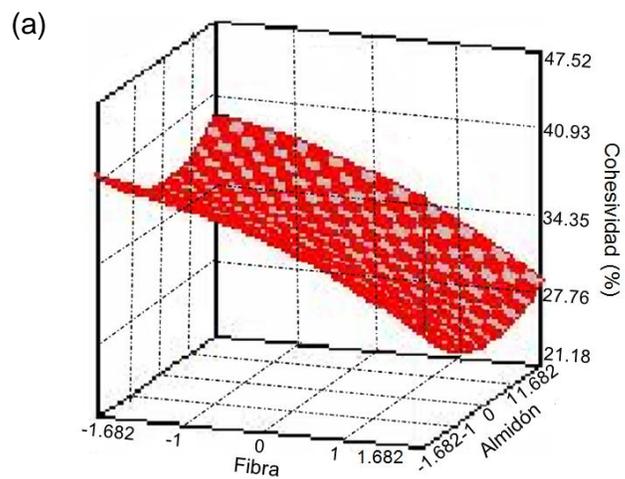
## Textura

De las variables evaluadas en el APT, para el parámetro de cohesividad se encontró efecto ( $p \leq 0.05$ ) de la forma lineal de  $X_3$  (fibra), mostrando una relación inversa con la respuesta (Tabla 15). Se puede observar que por cada unidad de incremento de  $X_3$  la respuesta disminuyó un 4.38%. Este efecto puede observarse

claramente en el tratamiento 18, correspondiente al nivel alto de fibra (Tabla 11) ya que este resultó ser el menos cohesivo (29.1%). Estos resultados son consistentes con lo reportado por Fernández-Ginés *et al.* (2003), quienes encontraron que al incrementar la concentración de fibra de cítricos la cohesividad en bolonias se vio significativamente afectada, obteniendo productos menos cohesivos. De igual manera, los resultados de la primera etapa del presente estudio son consistentes con estos resultados. La  $R^2$  para el modelo de cohesividad fue de 0.64. En la Figura 9a puede observarse el efecto de la adición de fibra sobre la cohesividad de los rollos de calamar.

Por otro lado, el parámetro de elasticidad fue relacionado negativamente ( $p \leq 0.05$ ) con la forma lineal de  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$ , de las cuales  $X_3$  (fibra) tuvo mayor influencia sobre la respuesta, disminuyendo la elasticidad un 9.34% por cada unidad de incremento de la fibra. Este efecto puede ser observado en el tratamiento 18 (nivel alto de fibra) el cual resultó ser el menos elástico (51.2%). Fernández-Ginés *et al.* (2003), observaron un comportamiento similar en bolonias adicionadas con fibra cítrica. Por otra parte, la relación negativa observada con el aceite, coincide con lo reportado por Sariçoban *et al.* (2009) quienes observaron una disminución en la elasticidad de pates por la adición de grasa. Este efecto se puede observar con más claridad en la Tabla 11 si comparamos los tratamientos 13 y 14 (nivel más bajo y nivel más alto de grasa, respectivamente).

Los resultados obtenidos en el presente estudio para el parámetro de elasticidad difieren a lo reportado por Galaviz-Lerma (2000), quien observó un efecto positivo del aceite sobre la elasticidad de salchichas de avestruz, más no un efecto del almidón sobre este parámetro de textura. Las discrepancias en estos resultados pueden ser atribuidas a la diferente naturaleza del almidón, aceite y materia prima utilizadas (aislado de soya *versus* fibra en el presente estudio). Como se comentó con anterioridad, los tres factores en el presente estudio mostraron significancia ( $p \leq 0.05$ ) sobre la variable en cuestión. Por otro lado, cabe señalar que sobre el parámetro de elasticidad también se observó un efecto ( $p \leq 0.05$ ) negativo de tipo



**Figura 9.** Graficas de superficie de respuesta para las variables del análisis de perfil de textura (APT) de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y almidón sobre la cohesividad; (b) efecto de la fibra y del almidón sobre la elasticidad.

cuadrático de  $X_3$  (Tabla 15), lo cual indica que por cada unidad de cambio en la concentración de fibra, la elasticidad se reduce el doble. Esta reducción de elasticidad por efecto de la fibra concuerda con los resultados obtenidos en la primera etapa presentada (Tabla 8).

Siguiendo con los resultados de este parámetro (elasticidad), se observó un efecto ( $p \leq 0.05$ ) interactivo inverso de  $X_{23}$  (almidón x fibra) (Tabla 15), lo cual indica que la elasticidad disminuyó conforme se incrementó la concentración de  $X_2$  y  $X_3$  conjuntamente (Figura 9b). Dicho efecto puede observarse en el tratamiento 18 (Tabla 11) que fue el menos elástico (51.2%), el cual correspondió al nivel alto de fibra y medio de almidón. Para este modelo se obtuvo una  $R^2$  de 0.93, lo que indica que un alto porcentaje de la variabilidad de los datos puede ser explicada.

Por otra parte, los modelos de regresión indicaron que las variables dureza, esfuerzo al corte y prueba de doblado no se vieron afectadas ( $p > 0.05$ ) por ninguno de los factores de estudio en su forma lineal, cuadrática ni cruzada. A pesar de que en el presente estudio no se encontró efecto sobre la dureza de los productos, cabe señalar que al tocarlos físicamente si se observaron diferencias en la dureza de los mismos, como se observó en el estudio sensorial de los mismos (Tabla 13). Por otro lado, el resultado obtenido para la prueba de esfuerzo coincide con lo reportado por Galaviz-Lerma (2000), quien no observó efecto sobre el esfuerzo al corte de salchichas de avestruz por la adición de almidón y aceite. Por otro lado, Salazar-Félix (2009) tampoco encontró impacto de la inulina en el esfuerzo al corte de salchichas de cerdo.

### Análisis de Color

En la Tabla 16 puede observarse la importancia de cada parámetro en los modelos de regresión obtenidos para las variables de la evaluación de color de los rollos de calamar.

## Color interno

En la evaluación de color interno solo se encontraron modelos reducidos significativos ( $p \leq 0.05$ ) para los parámetros  $a^*$  y ángulo de matiz (Tabla 16).

Para el parámetro  $a^*$ , se observó una relación positiva ( $p \leq 0.05$ ) con la forma lineal de  $X_1$  (aceite), con una  $R^2$  de 0.67. Este efecto puede observarse claramente si se observan los tratamientos 13 y 14 (nivel mínimo y máximo de aceite, respectivamente) (Tabla 12), los cuales presentaron el valor más bajo y uno de los más altos, respectivamente. Algunos autores han observado una relación entre el parámetro  $a^*$  y el contenido de humedad de embutidos, señalando que a mayor contenido de humedad menor es el valor de  $a^*$ , sugiriendo que el agua tiene un efecto adverso sobre los valores de  $a^*$  (Fernández-López *et al.*, 2004). Esta relación puede observarse al comparar los contenidos de humedad de esos tratamientos (13 y 14), los cuales resultaron con el mayor y menor contenido, respectivamente. En otras palabras, la inclusión de aceite en la formulación tuvo un efecto en ambas variables, parámetro  $a^*$  y la humedad. En la Figura 10a puede observarse el efecto del aceite sobre el parámetro  $a^*$ .

Para el ángulo de matiz se encontró significativa ( $p \leq 0.05$ ) la forma lineal de  $X_1$  (aceite), observándose además un efecto cuadrático de  $X_3$  (fibra); ambos factores mostraron una relación negativa con la respuesta (Figura 10b), obteniendo una  $R^2$  de 0.73. Galaviz-Lerma (2000), reportó un efecto inverso a lo obtenido en el presente trabajo, mostrando significancia sobre el ángulo de matiz en la utilización de almidón en salchichas de avestruz, más no del aceite. Por otra parte, en cuanto al efecto observado de la fibra, este resultado difiere con lo reportado por Fernández-Ginés *et al.* (2003), ya que estos autores encontraron un efecto positivo por la adición de fibra cítrica en una concentración mayor del 1% sobre el ángulo de matiz en bolonias. La discrepancia de estos resultados puede ser atribuida al tipo de ingredientes y muestras utilizadas.

**Tabla 16.** Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para los parámetros de color de los rollos de calamar.

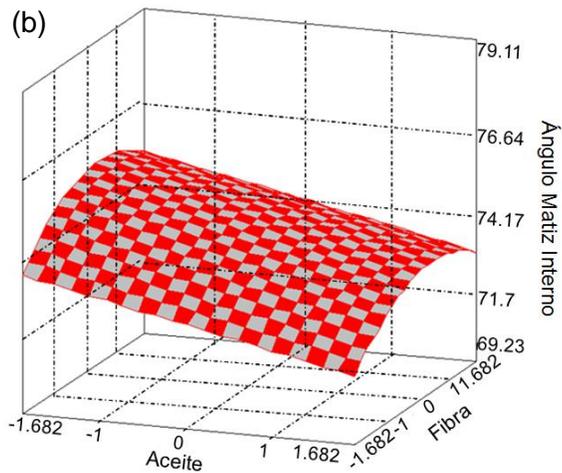
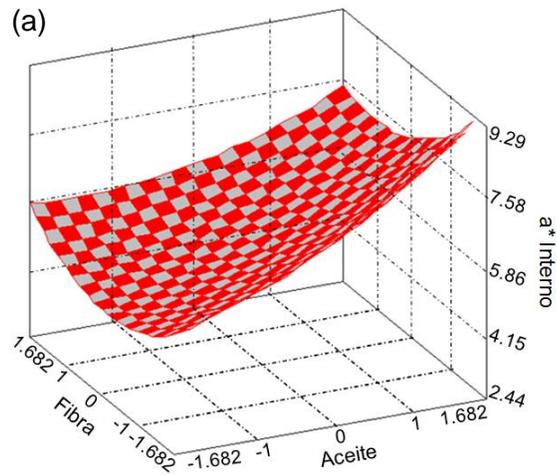
Variable	B <sub>0</sub>	B <sub>1</sub> X <sub>1</sub>	B <sub>2</sub> X <sub>2</sub>	B <sub>3</sub> X <sub>3</sub>	B <sub>11</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>22</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>33</sub> X <sup>2</sup>	B <sub>12</sub> X <sub>12</sub>	B <sub>13</sub> X <sub>13</sub>	B <sub>23</sub> X <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<i>Color interno</i>											
L*	11.0 (0.0001)	1.4 (0.1981)	0.00 (0.9967)	-1.13 (0.2928)	-0.06 (0.9552)	0.48 (0.6427)	0.19 (0.8511)	-0.50 (0.6319)	-0.57 (0.5823)	-0.30 (0.7719)	0.34
a*	2.86 (0.017)	3.63 (0.0046)	-0.52 (0.6126)	-1.28 (0.231)	0.82 (0.4305)		1.48 (0.1708)		-0.77 (0.4575)	-1.45 (0.179)	0.67
b*	1.93 (0.09)	1.82 (0.11)	0.49 (0.64)	-0.23 (0.82)	0.46 (0.65)	0.33 (0.74)	0.33 (0.75)	-0.81 (0.43)	-0.83 (0.43)	-0.93 (0.38)	0.43
Ángulo de Matiz	36.38 (0.0001)	-3.54 (0.0041)	2.05 (0.0634)	2.1 (0.0572)		1.92 (0.0785)	-2.27 (0.0421)				0.73
<i>Color externo</i>											
L*	16.03 (0.0001)	1.19 (0.2688)	-0.55 (0.5969)	-1.33 (0.2207)	0.14 (0.8944)	1.16 (0.2804)	0.23 (0.8265)	-0.28 (0.7882)	-0.81 (0.441)	-0.55 (0.5977)	0.42
a*	2.62 (0.0307)	3.33 (0.0104)	-0.52 (0.6152)	-1.43 (0.19)	0.99 (0.3508)	-0.74 (0.4787)	1.45 (0.1845)	-1.03 (0.3325)	-0.83 (0.4328)	-1.33 (0.22)	0.72
b*	3.28 (0.0065)	2.18 (0.0496)	0.13 (0.8969)	-0.91 (0.3821)					-1.04 (0.3205)	-1.29 (0.2221)	0.71
Ángulo de Matiz	32.54 (0.0001)	-3.42 (0.0051)	0.81 (0.4335)	1.48 (0.165)		2.88 (0.0138)	-1.99 (0.0700)				0.71

Se indica entre paréntesis la probabilidad asociada con cada parámetro estimado.

B<sub>1</sub>X<sub>1</sub>: Coeficiente para X<sub>1</sub> (aceite)

B<sub>2</sub>X<sub>2</sub>: Coeficiente para X<sub>2</sub> (almidón)

B<sub>3</sub>X<sub>3</sub>: Coeficiente para X<sub>3</sub> (fibra)



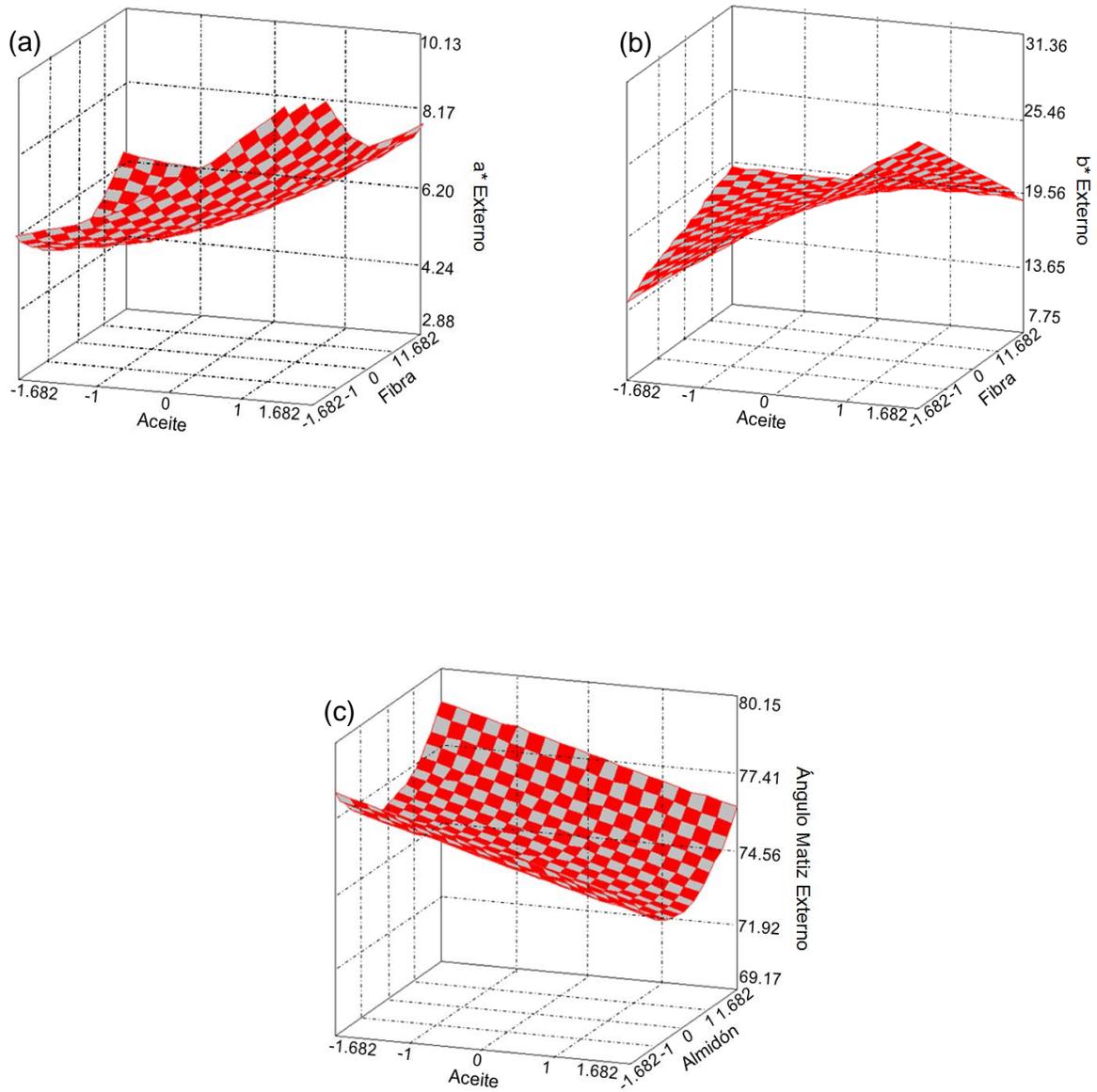
**Figura 10.** Graficas de superficie de respuesta para los parámetros de color interno de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro  $a^*$ ; (b) efecto de la fibra y del aceite sobre el ángulo de matiz.

## Color externo

Los resultados obtenidos para el color externo de los productos evaluados, mostraron mucha semejanza a los obtenidos para el color interno, mostrando significancia ( $p \leq 0.05$ ) la forma lineal de  $X_1$  (aceite), para los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y ángulo de matiz. De igual manera, para este último se encontró significativo ( $p \leq 0.05$ ) un efecto de tipo cuadrático de  $X_2$  (almidón).

La forma lineal de  $X_1$  (aceite) tuvo un efecto positivo ( $p \leq 0.05$ ) sobre los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ , el cual puede observarse en la Figura 11a y 11b. Los modelos de regresión para estas variables presentaron una  $R^2$  de 0.72 y 0.71 respectivamente (Tabla 16). Sin embargo, se relacionó negativamente con el ángulo de matiz, disminuyendo 3.42 unidades la respuesta por cada unidad de incremento de aceite, obteniendo una  $R^2$  de 0.71. El efecto de  $X_1$  observado para el parámetro  $a^*$  coincide con lo discutido para el valor  $a^*$  del color interno de los rollos de calamar. En cuanto al parámetro  $b^*$ , el efecto positivo encontrado del aceite puede observarse en los tratamientos 2, 4, 6 y 14 (Tabla 12) correspondientes a los niveles más altos de aceite los cuales obtuvieron los valores mayores de  $b^*$ , mientras que el tratamiento 13 (nivel más bajo de aceite) obtuvo el valor más bajo de  $b^*$ . Estos resultados son consistentes con lo reportado por Galaviz-Lerma (2000), quien observó un efecto positivo por la adición de aceite sobre el parámetro  $b^*$  en salchichas de avestruz.

Para el ángulo de matiz se encontró un efecto positivo ( $p \leq 0.05$ ) del almidón en su forma cuadrática (Figura 11c). Dicho efecto coincide con lo observado por Galaviz-Lerma (2000) en salchichas de avestruz, aunque esta autora no obtuvo efecto alguno sobre este parámetro por la adición de aceite. Estas diferencias pueden deberse a las diferencias en los ingredientes y materias primas utilizadas, o bien al tercer factor de estudio que se utilizó en cada investigación (fibra para este caso *versus* soya para el trabajo mencionado).



**Figura 11.** Gráficas tridimensionales de respuesta para los parámetros de color externo de los rollos de calamar. (a) Efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro  $a^*$ ; (b) efecto de la fibra y del aceite sobre el parámetro  $b^*$ ; (c) efecto del aceite y almidón sobre el ángulo de matiz.

## Análisis sensorial

En la Tabla 17 se puede observar la importancia de cada parámetro en los modelos obtenidos para la evaluación sensorial de los rollos de calamar. En esta evaluación se encontraron modelos reducidos significativos ( $p \leq 0.05$ ) para las variables de sabor, textura al morder y textura al masticar (Tabla 17). Para el atributo de sabor, se encontró significativa ( $p \leq 0.05$ ) la forma lineal y la forma cuadrática de  $X_1$  (aceite), ambas mostrando una relación negativa con la respuesta (Figura 12a). La forma lineal de  $X_1$  tuvo un mayor efecto sobre la respuesta, disminuyendo 3.8 unidades el sabor de los productos por cada unidad de incremento. Este modelo obtuvo una  $R^2$  de 0.76, lo cual indica que el 76% de la variabilidad de los datos obtenidos puede ser explicada por el modelo. El efecto negativo del aceite sobre el sabor, puede observarse en el tratamiento 14 (Tabla 13), el cual correspondió al nivel máximo de aceite siendo uno de los que obtuvieron calificación más baja, así como la comparación de los tratamientos 1 y 2 (Tabla 13), los cuales correspondieron a un nivel bajo y alto de aceite (sin modificación de los demás ingredientes).

Para las variables de textura al morder y textura al masticar, se encontró una relación negativa ( $p \leq 0.05$ ) con la forma lineal de  $X_1$  (Figuras 12b y 12c), así como también, se observó un efecto ( $p \leq 0.05$ ) interactivo de  $X_{13}$  (aceite x fibra) sobre estas variables, lo cual indica que hubo un aumento en el valor de textura conforme se incremento la concentración de aceite y fibra conjuntamente. Para el modelo de la variable de textura al morder se obtuvo una  $R^2$  de 0.76 y una  $R^2$  de 0.67 para textura al masticar. El efecto negativo del aceite sobre la textura al morder puede observarse en la Tabla 13, ya que los tratamientos que presentaron los valores más bajos en su mayoría correspondieron a los niveles altos de aceite. Por otra parte, el efecto del aceite sobre textura al masticar no fue observado en la evaluación instrumental de textura (APT). Referente al color y a la apariencia general, estos atributos no se vieron afectados ( $p > 0.05$ ) por la presencia de los factores de estudio en ningún nivel de inclusión (Tabla 17).

**Tabla 17.** Ecuaciones de predicción estimadas por metodología de superficie de respuesta para la evaluación sensorial de los rollos de calamar.

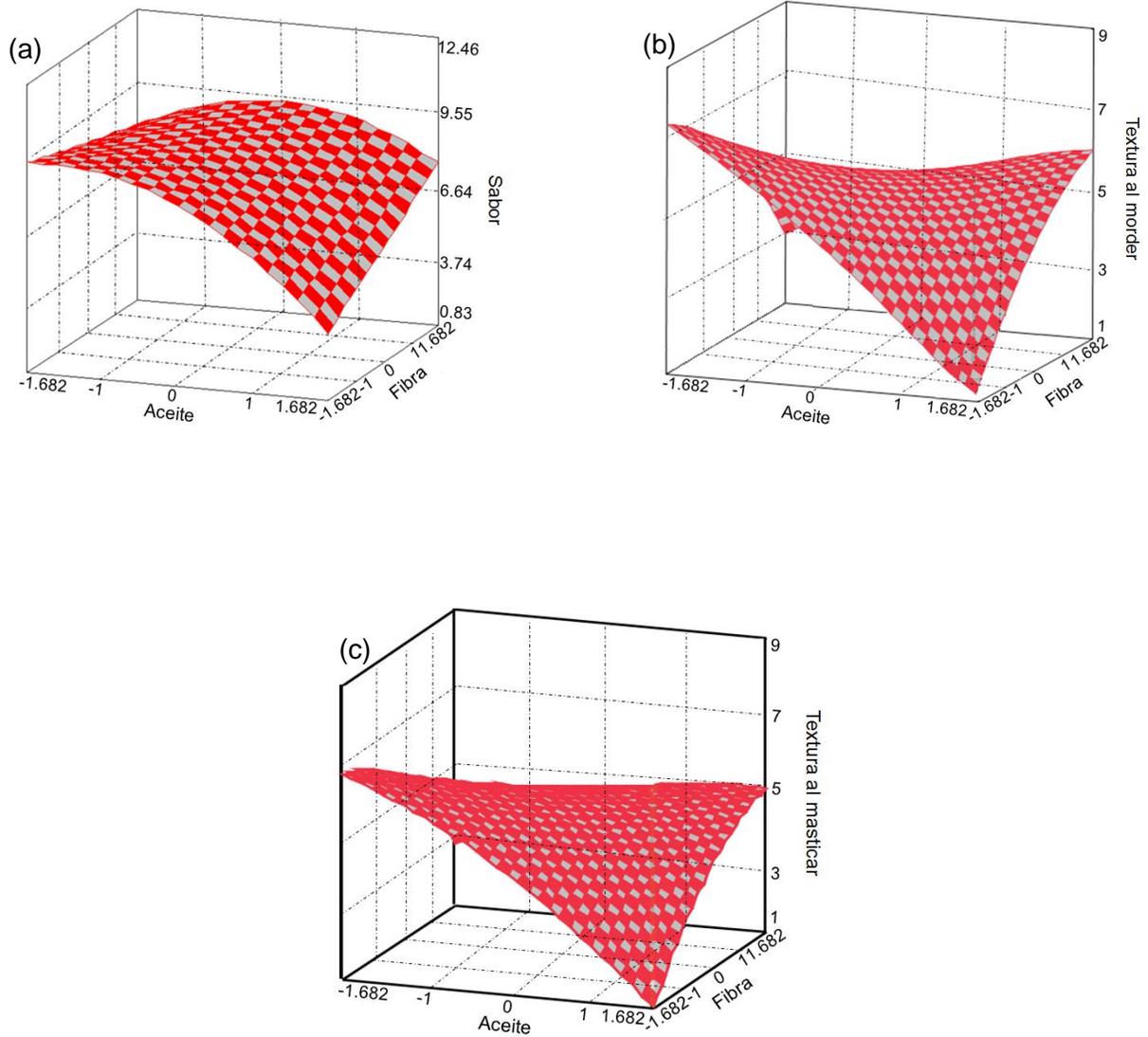
Variable de respuesta	$B_0$	$B_1X_1$	$B_2 X_2$	$B_3 X_3$	$B_{11}X^2$	$B_{22}X^2$	$B_{33}X^2$	$B_{12}X_{12}$	$B_{13}X_{13}$	$B_{23}X_{23}$	$R^2$
Color	3.92 (0.0044)	0.11 (0.9119)	1.29 (0.2317)	0.02 (0.9872)	0.25 (0.807)	-0.56 (0.5884)	0.58 (0.5784)	0.08 (0.9413)	0.19 (0.8528)	-0.29 (0.7771)	0.25
Apariencia	15.74 (0.0001)	0.02 (0.98)	1.12 (0.29)	0.85 (0.42)	-1.31 (0.23)	-0.33 (0.75)	-0.21 (0.84)	0.58 (0.58)	0.47 (0.65)	-0.40 (0.7)	0.36
Sabor	4.39 (0.0014)	-3.8 (0.0035)	1.24 (0.2438)	1.56 (0.1495)	-2.46 (0.0336)			1.35 (0.2056)	1.5 (0.1654)	-1.78 (0.1056)	0.76
Textura al morder	6.39 (0.0002)	-3.2 (0.0096)	-1.57 (0.1464)	0.27 (0.7905)	-0.93 (0.3725)		-1.56 (0.1488)		3.76 (0.0037)	-1.36 (0.2027)	0.76
Textura al masticar	5.49 (0.0003)	-2.51 (0.0308)	-1.55 (0.1513)	0.06 (0.9564)	-1.15 (0.2754)		-1.4 (0.1926)		2.65 (0.0242)	-1.25 (0.2407)	0.67

Se indica entre paréntesis la probabilidad asociada con cada parámetro estimado.

$B_1X_1$ : Coeficiente para  $X_1$  (aceite)

$B_2X_2$ : Coeficiente para  $X_2$  (almidón)

$B_3X_3$ : Coeficiente para  $X_3$  (fibra)



**Figura 12.** Gráficas de superficie de respuesta para las propiedades sensoriales de los rollos de calamar. (a) Efecto del aceite y de la fibra sobre el sabor; (b) efecto del aceite y almidón sobre textura al morder y (c) sobre textura al masticar.

## Respuesta Óptima

Debido a que la respuesta óptima para cada variable evaluada no se presentó en los mismos niveles de los factores de estudio, se tuvieron que seleccionar solo algunos de los parámetros considerados de mayor influencia para la aceptación de un producto, como son la textura y el sabor. Por lo cual, para la optimización de la fórmula se decidió basarse en los resultados de la evaluación sensorial y en los niveles óptimos de los parámetros de textura evaluados en el APT. En la Figura 13 se muestran los perfiles de predicción para las variables arriba mencionadas, donde las líneas verticales en rojo indican la solución óptima para cada factor (valor señalado en rojo) y las líneas horizontales en rojo indican las condiciones óptimas (valor señalado en rojo) para las variables de respuesta.

### **Sabor**

Para el parámetro sabor, se puede observar (Figura 13) que, de acuerdo al perfil de predicción, la respuesta es afectada al variar los niveles de aceite (al nivel máximo y mínimo). La respuesta máxima estimada para este atributo es de 8.9 puntos obteniéndose con los niveles centrales tanto aceite como de almidón y 1 de fibra. Por otro lado, aún variando los niveles de fibra y almidón no se logra observar un aumento significativo en la respuesta. Por lo cual, se consideró como respuesta óptima la obtenida con los niveles centrales de cada factor de estudio (Tabla 18).

### **Textura al morder**

Para esta variable, se observa que incrementando los niveles de aceite por arriba del nivel 0 (ó punto central) se produce una disminución de la respuesta, aumentando la firmeza de los productos (hay que recordar que para esta variable el rango va de 0 = extremadamente dura, 5 = textura ideal y 10 = extremadamente blanda). La respuesta óptima (5.0) para esta variable se aproxima con los niveles

medios de aceite, almidón y fibra (Tabla 18), ya que el valor predicho por el análisis como óptimo (utilizando estos niveles) fue de 5.17.

### **Textura al masticar**

De acuerdo al perfil de predicción (Figura 13) para esta variable, la respuesta se vió afectada por la presencia de aceite en concentraciones superiores al nivel medio. La respuesta mínima estimada para esta variable se encuentra en el nivel alto de aceite, nivel bajo de fibra y a cualquier concentración de almidón. No obstante, la respuesta máxima estimada para este atributo se obtendría en el nivel bajo de aceite, nivel medio de fibra y a cualquier concentración de almidón. El valor óptimo para esta variable (5.02) se puede observar al nivel de aceite de 0.4 y al nivel medio tanto de fibra como de almidón (Tabla 18).

### **Elasticidad**

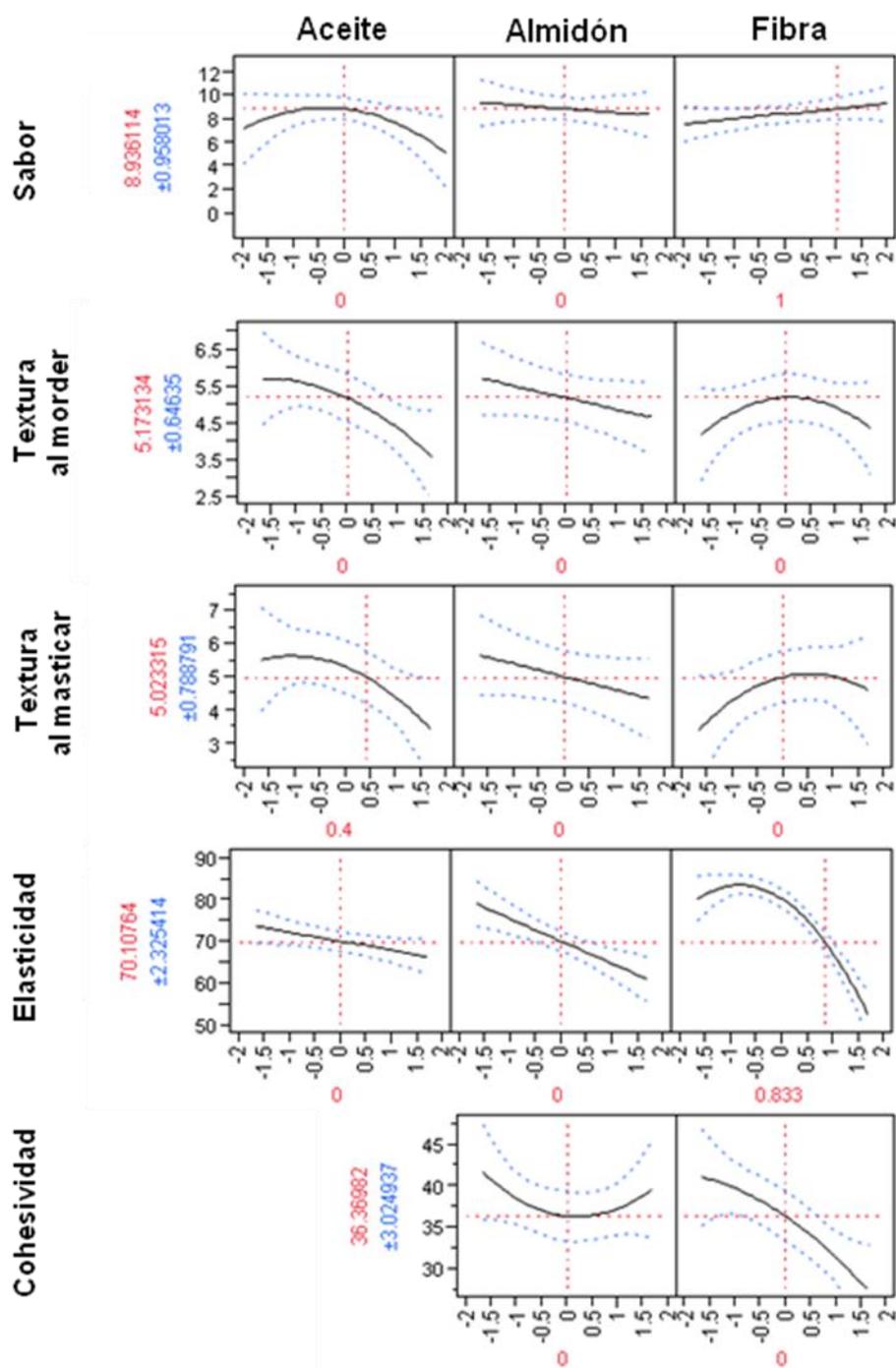
Como puede observarse en la Figura 13, la elasticidad fue afectada por la presencia de fibra en concentraciones mayores al punto central. La respuesta mínima estimada para esta variable (alrededor de 50%) puede observarse en los niveles máximos de los factores de estudio. El valor señalado como óptimo para elasticidad es alrededor del 70% y puede obtenerse con el nivel medio tanto de aceite como de almidón, y con un nivel de 0.83 de fibra.

### **Cohesividad**

De acuerdo al perfil de predicción mostrado en la Figura 13, se observa una disminución en la respuesta al incrementar el nivel de fibra. Para obtener una cohesividad alrededor del 36%, considerada como óptima por el análisis, se debe mantener el nivel de fibra en el punto central, y el nivel de almidón entre el punto central y 1, a cualquier concentración de aceite. Cabe señalar que el aceite no

aparece en el perfil de predicción para esta respuesta por qué no tuvo influencia sobre dicha variable, por lo tanto corresponde al nivel medio.

Es importante mencionar que a pesar de que en los perfiles de predicción algunos valores son señalados como óptimos para la respuesta con cierto nivel de cada factor, en algunos casos a esos niveles se observaron efectos sobre otras variables. Por ejemplo, para el óptimo de textura al masticar se señala un nivel de 0.4 de aceite; sin embargo un nivel por arriba de éste, tiene un efecto negativo sobre el sabor. Por otra parte, para las variables de sabor y elasticidad se señalan niveles de fibra entre 0.8 y 1. A este respecto es importante mencionar que a estas concentraciones de fibra la cohesividad se vería afectada, mientras que en el nivel medio no. Por lo antes expuesto y en base a las soluciones óptimas de los perfiles predictivos, y criterios tecnológicos del producto desarrollado, se decidió tomar como las condiciones óptimas de la formulación, los niveles centrales (origen) de cada uno de los tres factores manipulados tal como se muestra en la Tabla 18. Después de asumir esto, fue necesario validar esta formulación para verificar que efectivamente se obtiene un producto con las características predichas.



**Figura 13.** Perfiles de predicción de respuesta óptima para los niveles de aceite, almidón y fibra en los rollos de calamar de acuerdo a los valores óptimos de las variables de respuesta sabor, textura al morder, textura al masticar, elasticidad y Cohesividad. Las líneas verticales en rojo indican la solución óptima para los factores aceite, almidón y fibra (valor señalado en rojo por debajo de las figuras); las condiciones óptimas para las variables de respuesta se indican con las líneas horizontales en rojo (valor señalado en rojo lateral a las figuras).

**Tabla 18.** Valores óptimos para cada factor y respuestas predichas.

Variable	Factores y niveles			Respuesta predicha	Factores y niveles			Respuesta predicha
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>		X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	
Sabor	0	0	1	8.90	0	0	0	8.60
Textura al morder	0	0	0	5.17	0	0	0	5.17
Textura al masticar	0.4	0	0	5.01	0	0	0	5.20
Elasticidad (%)	0	0	0.83	70.24	0	0	0	76.00
Cohesividad (%)	0	0	0	36.36	0	0	0	36.36

X<sub>1</sub> = aceite, X<sub>2</sub> = almidón, X<sub>3</sub> = fibra

## CONCLUSIONES PARCIALES

En general, se encontró que la forma lineal de  $X_1$  (aceite) fue el efecto que más contribuyó, ya sea aumentando o disminuyendo, las respuestas de humedad, grasa, CRA,  $a^*$  interno y externo,  $b^*$  externo, ángulo de matiz interno y externo, así como el sabor de los productos.

Por otro lado, para las variables de pH, cohesividad y elasticidad, la forma lineal de  $X_3$  (fibra) presentó mayor influencia sobre la respuesta. La interacción  $X_{13}$  (aceite  $\times$  fibra) tuvo mayor impacto sobre la respuesta de textura (evaluación sensorial), ya sea al morder ó al masticar.

En este estudio se evaluaron distintas variables, no siendo posible hacer coincidir los niveles óptimos de cada factor para cada respuesta evaluada. Por lo anterior, se consideraron las respuestas que tuvieron mayor influencia sobre la aceptación de un producto tipo gel-emulsificado, tal como la textura (cohesividad y elasticidad) y las propiedades sensoriales de los productos (sabor, y textura, al morder y masticar). Por otro lado, debido a que niveles considerados como óptimos para algunas de las respuestas elegidas mostraron un efecto negativo sobre otras variables evaluadas (sabor, textura, cohesividad) se decidió tomar como óptimo el punto central de cada factor, ya que estos valores se encontraron muy cerca de la región óptima de cada respuesta, sin afectar otras de las variables evaluadas. Lo antes expuesto, indica que la selección de los niveles de los factores de estudio fue correcta, ya que las soluciones óptimas se encontraron en los puntos centrales del diseño.

La adición de fibra cítrica mejoró algunas de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del producto, recomendando su utilización para el mejoramiento del producto, a base de músculo de calamar gigante.

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) resultó ser un método efectivo para la determinación de los niveles óptimos de los ingredientes estudiados necesarios para el desarrollo de un producto tipo gel-emulsificado a partir de calamar gigante con buenas características sensoriales.

## ETAPA III

---

### Características de Calidad Fisicoquímica, Microbiológica y Sensorial durante la Vida de Anaquel del Producto Elaborado bajo Condiciones Optimizadas

Para el desarrollo de esta etapa, se tomó la formulación obtenida por la MSR seleccionada como óptima (etapa anterior) y se comparó contra un control (sin fibra). Se realizaron dos repeticiones del proceso de elaboración de los rollos de calamar ( $n = 2$ ).

#### **Parámetros tecnológicos**

##### Rendimiento de cocción

Algunos atributos de calidad en productos cárnicos, tales como la textura y el rendimiento, dependen en gran medida de la habilidad de la matriz proteica para retener agua y ligar grasa durante la cocción (Rocha y Zayas, 1996). Se conoce que la estructura de esta matriz puede variar de acuerdo a la composición del alimento y a las condiciones de proceso (Jiménez-Colmenero *et al.*, 1995), pudiendo afectar el rendimiento durante la producción del alimento. Así, el rendimiento de cocción de los productos fue calculado a partir de los valores obtenidos de las dos repeticiones del proceso de elaboración de los rollos de calamar. En general, el rendimiento obtenido para los dos tratamientos fue alto, presentando el control (sin fibra) un rendimiento de  $96.9 \pm 1.1\%$ , por debajo del tratamiento adicionado con fibra cítrica, el cual obtuvo un  $98.5 \pm 2.2\%$ . No obstante, no haber encontrado algún efecto significativo ( $p > 0.05$ ) por la adición de fibra sobre la pérdida de peso durante el tratamiento térmico, resulta atractivo la utilización de fibra.

## Cambios dimensionales

En el desarrollo de productos cárnicos es importante evaluar el impacto de los ingredientes utilizados en relación a la calidad. Una forma de hacerlo es evaluando los cambios dimensionales o encogimiento sufrido de los productos durante el tratamiento térmico. Algunos autores reportan que los cambios dimensionales en productos cárnicos están relacionados con el tipo de gel formado durante el tratamiento térmico (Farouk *et al.*, 2000). En este sentido, el proceso de gelificación ha sido asociado con la velocidad de calentamiento (Camou *et al.*, 1989) y está influenciado por la adición de ingredientes a la matriz cárnica (Aleson-Carbonell *et al.*, 2005). En el presente estudio, aunque no se encontraron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos, el adicionado con fibra presentó un porcentaje menor de encogimiento ( $1.2 \pm 0.29\%$ ) con respecto al control (sin fibra;  $2.1 \pm 0.12\%$ ).

## Pérdida de peso durante el almacenamiento

El análisis factorial realizado en este punto arrojó que la interacción entre los factores (día  $\times$  tratamiento) no fue significativa ( $p > 0.05$ ), por lo que se pueden analizar los resultados de manera individual. Se observó efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tratamiento sobre la pérdida de agua de los productos, siendo el tratamiento con fibra el que tuvo una pérdida promedio menor con respecto al control ( $1.92 \pm 0.23$  y  $2.80 \pm 0.22\%$  respectivamente), mostrando esto la capacidad de la fibra cítrica de retener el agua. Por otra parte, durante los 34 días de almacenamiento en refrigeración ( $2-4^{\circ}\text{C}$ ) a los que fueron sometidos los rollos de calamar, se observó efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tiempo sobre el peso de los productos por pérdida de agua (Tabla 19), encontrándose diferencias en los días 5, 10 y 14 con respecto a los días 26, 30 y 34 y del día 21 respecto al 34. De la Tabla 19 se puede observar que el control llegó a obtener valores 2.7 veces mayores (día 26) respecto al día 5 ( $p \leq 0.05$ ). Los valores al día 30 (tiempo de corte de la vida de anaquel del producto) mostraron ser 2.4 ( $p \leq 0.05$ ) y 1.4 ( $p \leq 0.05$ ) veces más grandes que en el día 5, para los tratamientos

**Tabla 19.** Pérdida de peso \*\* (%) por purga durante 34 días de almacenamiento en refrigeración de los rollos de calamar.

Tiempo (días)	Control	Tratamiento/fibra
0	-----*	-----*
5 <sup>a</sup>	1.64	1.66
10 <sup>a</sup>	1.71	1.33
14 <sup>a</sup>	2.18	1.64
18 <sup>ac</sup>	2.71	1.68
21 <sup>ab</sup>	2.21	1.45
26 <sup>bc</sup>	4.35	2.15
30 <sup>bc</sup>	3.94	2.26
34 <sup>c</sup>	3.60	3.23
EEM	0.22	0.23

\*\* Indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos. Diferente literal en la columna tiempo indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto del almacenamiento. EEM: error estándar de la media. \* Datos correspondientes a la pérdida por cocción.

control y con fibra, respectivamente. Lo anterior hace atractiva la utilización de la fibra para este tipo de producto.

Cabe señalar que los porcentajes de pérdida de peso obtenidos en este estudio son menores a los reportados por Cierach *et al.* (2009) en salchichas bajas en grasa adicionadas con carragenina, mostrando de nuevo la efectividad de la utilización de la fibra en este tipo de productos.

## **Análisis fisicoquímicos**

### Análisis proximal

Los resultados de la composición proximal del rollo de calamar se muestran en la Tabla 20. El análisis proximal del músculo de calamar gigante resultó semejante a lo obtenido por Ramírez-Suárez *et al.* (2008) y Cortés-Ruiz *et al.* (2008) aunque con pequeñas variaciones debido a la variabilidad intrínseca del músculo producido por diversos factores (temporada de captura, sexo, etc.).

A pesar de que a la pasta de los tratamientos se les ajustó la humedad a 72%, una vez elaborados los rollos, éstos obtuvieron valores mayores de humedad (>77%), no encontrándose diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellos. Lo anterior es debido al tipo de funda utilizada, la cual es de carácter natural (intestino de cerdo), siendo permeable a la humedad. Hay que recordar que el producto es sumergido en un baño de agua-hielo, para mejorar la calidad del gel producido. Así, la humedad obtenida en el presente estudio resultó más alta que lo reportado para una salchicha de calamar (75%) y para otros productos cárnicos (Félix-Armenta 2006; Fernández-Ginés *et al.*, 2003; Jiménez-Colmenero *et al.*, 2010).

En cuanto al contenido de proteína, se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos obteniendo un porcentaje de  $7.14 \pm 0.0$  y  $7.47 \pm 0.1$ , para

**Tabla 20.** Composición proximal del músculo y rollos de calamar.

	Músculo	Control	Tratamiento	EEM
Humedad (%)	85.9	77.1 <sup>a</sup>	77.5 <sup>a</sup>	0.24
Proteína Cruda (%)	9.29	7.14 <sup>a</sup>	7.47 <sup>b</sup>	0.03
Grasa (%)	0.36	4.10 <sup>a</sup>	----- <sup>b</sup> ∞	0.23
Cenizas (%)	0.93	2.26 <sup>a</sup>	----- <sup>a</sup> ∞	0.01
NNP (%)	0.72	0.58 <sup>a</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.00
Carbohidratos (%) <sup>*</sup>	2.8	8.82	-----∞	

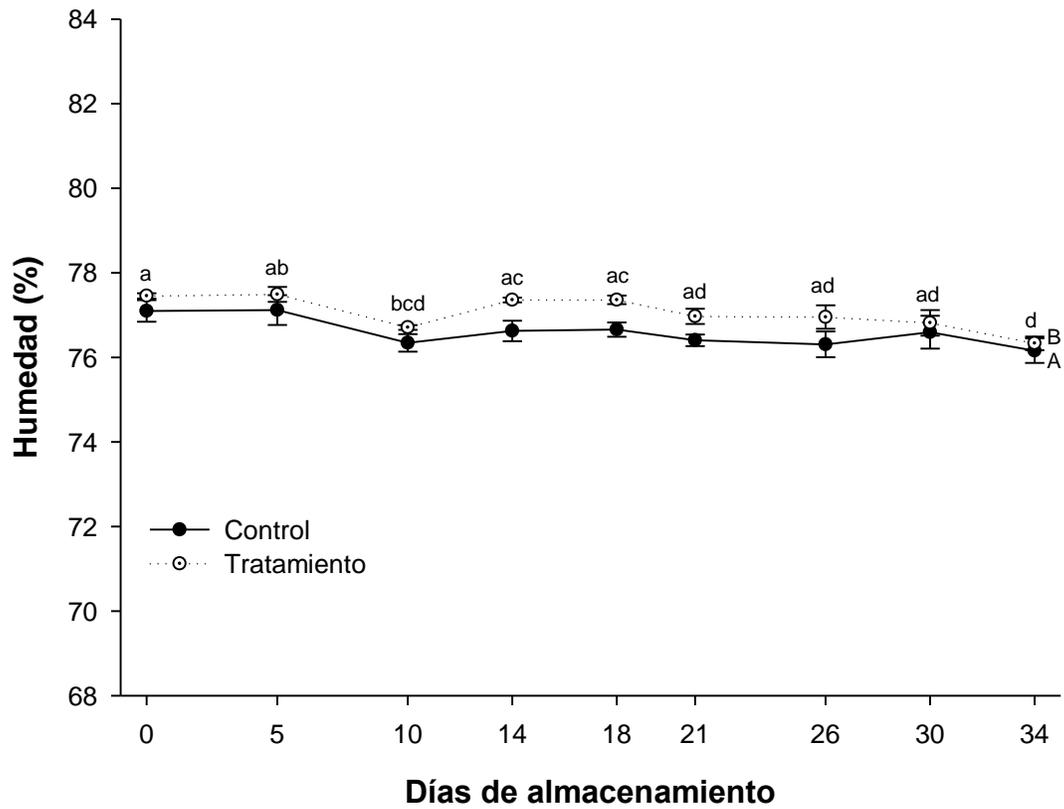
Diferente literal en la misma hilera indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ). EEM: error estándar de la media. <sup>\*</sup>Calculado por diferencia. ∞ Valores omitidos por confidencialidad de la fórmula del producto desarrollado.

el control y tratamiento adicionado con fibra, respectivamente. Esta pequeña diferencia puede deberse al alto contenido de proteína que posee la fibra comercial (8.15%, Tabla 2). No obstante, ambos tratamientos presentaron un bajo contenido de proteína, lo cual puede ser atribuido al bajo contenido de proteína inicial ( $9.29 \pm 0.0\%$ ) presente en el músculo de calamar utilizado como materia prima. Los valores obtenidos en el presente estudio son bajos comparados con el porcentaje de proteína reportado para otros embutidos de pescado (Magdaleno y Valdez, 1994; Chuapoe huk *et al.*, 2001; Izquierdo *et al.*, 2007), encontrándose por debajo de lo establecido en la Norma no oficial NMX-F-065-1984. Sin embargo, cabe señalar que en un estudio realizado por la PROFECO (2005) sobre la calidad de 46 marcas comerciales de salchichas distribuidas a nivel nacional, se encontró que el contenido de proteína de 4 marcas estuvo alrededor de 5.8 a 6.6%, siendo menor a lo reportado en el presente estudio.

La diferencia más marcada en la composición proximal de los productos fue en el contenido de grasa ( $p \leq 0.05$ ), obteniéndose un valor más bajo para el tratamiento con fibra. Esta diferencia puede ser explicada por el cambio (debido a la optimización) en la relación porcentual de la cantidad de aceite adicionada en cada formulación. Cabe señalar en este punto que la fibra cítrica utilizada tiene las características de mejorar la calidad funcional del producto, así como reducir la grasa del mismo. Es importante mencionar que el contenido de grasa de ambos tratamientos se encuentra por debajo de todas las marcas de salchichas comerciales de otras fuentes proteicas reportadas por la PROFECO (2005) (en un rango de 6.3 a 31.8%).

Respecto al contenido de cenizas, no se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre el control y el tratamiento adicionado con fibra (datos no mostrados por confidencialidad de la fórmula). En cuanto al contenido de nitrógeno no proteico (NNP) en las formulaciones, se observaron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) oscilando de 0.37 (tratamiento/fibra) a 0.58 (control). El contenido de carbohidratos fue calculado por diferencia con los demás componentes.

A este punto, cabe señalar que de los componentes analizados en la composición proximal durante el almacenamiento de los productos, solo la humedad fue monitoreada. En la Figura 14 se muestran los cambios en la humedad de los rollos de calamar durante su almacenamiento. El análisis factorial realizado arrojó que la interacción entre los factores (día x tratamiento) no fue significativa ( $p > 0.05$ ), por lo que se pueden analizar los resultados de manera individual. Se observó efecto del tratamiento ( $p \leq 0.05$ ) sobre la humedad de los productos, siendo el tratamiento adicionado con fibra el que presentó un contenido de humedad promedio más alto que el control (77.1% *versus* 76.6%, respectivamente). Lo anterior se debe a que el tratamiento con fibra mostró mayor estabilidad en la pérdida de peso (agua) (Tabla 19). Por otra parte, la humedad se vio afectada ( $p \leq 0.05$ ) por el tiempo de almacenamiento, encontrándose diferencias ( $p \leq 0.05$ ) en el día 0 con respecto a los días 10 y 34, y de los días 5, 14, y 18 respecto al día 34. Ambos tratamientos mostraron un comportamiento paralelo, disminuyendo conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento. No obstante estos cambios, la diferencia mostrada por ambos respecto al día inicial es de aproximadamente una unidad porcentual.

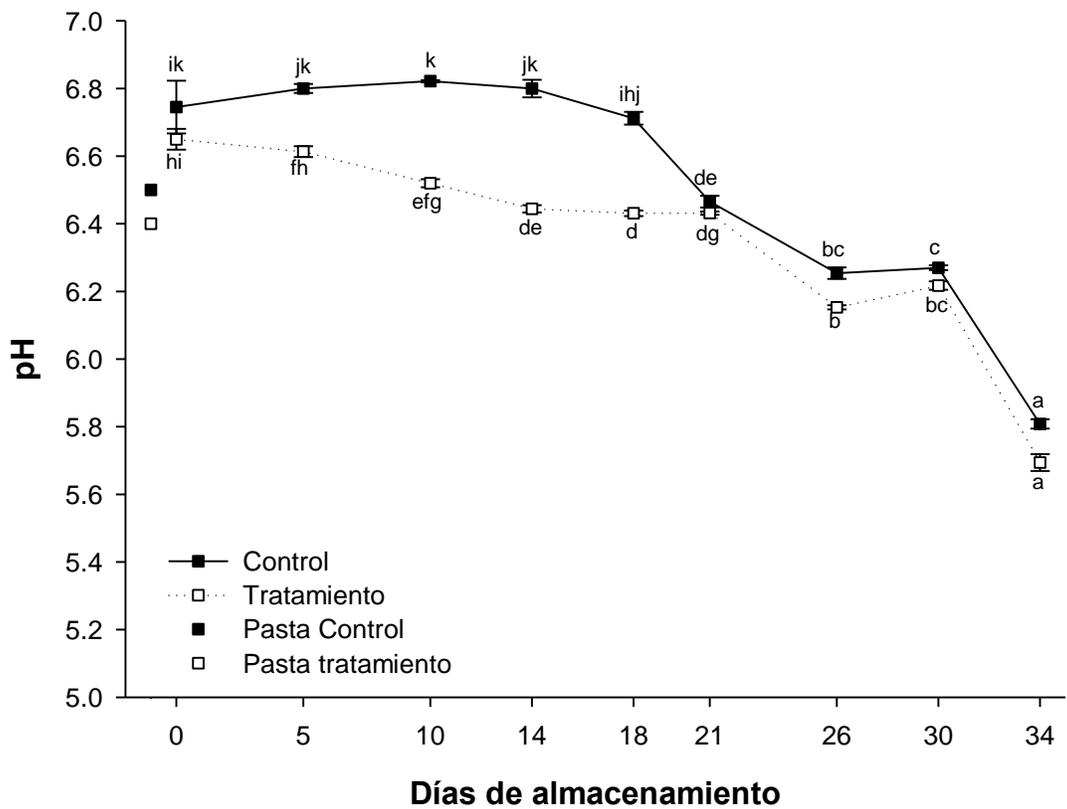


**Figura 14.** Cambios en el contenido de humedad de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media  $\pm$  error estándar de  $n = 2$ . Promedios con diferente literal indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por el almacenamiento. Diferente literal mayúscula para cada tratamiento indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

## pH

El pH es considerado uno de los parámetros de mayor influencia en la funcionalidad de las proteínas del músculo (Ofstad *et al.*, 1995). El pH inicial de la pasta (emulsión) fue de 6.5 y 6.4 para el control y tratamiento (Figura 15), respectivamente, no encontrándose diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) por la adición de fibra; después de la cocción, el pH del producto terminado aumentó alrededor de 0.3 unidades. Algunos autores han reportado que el proceso de cocción por si mismo aumenta el pH de la carne, probablemente debido a la ruptura del buffer celular y a la liberación de grasa (Shweigert, 1994), entre otros.

En la Figura 15 se muestran los cambios de pH de los productos durante su almacenamiento. El análisis de varianza encontró un efecto interactivo ( $p \leq 0.05$ ) entre los factores (tratamiento  $\times$  día de almacenamiento), es decir, hay cambios en el pH de los tratamientos, dependiendo del tiempo de almacenamiento. En general, la adición de fibra afectó ( $p \leq 0.05$ ) este parámetro, obteniéndose valores más bajos para el tratamiento con fibra con respecto al control. Comparando el pH inicial de los productos (día cero), no se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos, obteniéndose valores de  $6.75 \pm 0.1$  y  $6.65 \pm 0.0$  para el control y tratamiento con fibra, respectivamente (Figura 15); sin embargo, el pH de los productos se vio afectado ( $p \leq 0.05$ ) durante el tiempo de almacenamiento. De la Figura 15 se puede observar un comportamiento paralelo entre los tratamientos, resultando este parámetro (pH) significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el control durante los días 5, 10 y 14 de almacenamiento. El pH del control mostró una tendencia estable durante los primeros 18 días de almacenamiento, para posteriormente disminuir presentando un pH similar al del tratamiento con fibra al día 21, observándose su valor mínimo al día 34 (5.8) (Figura 15). Por otro lado, el tratamiento con fibra mostró un comportamiento estable ( $p \leq 0.05$ ) hasta el día 21, para posteriormente caer ( $p \leq 0.05$ ) hacia los días finales del almacenamiento. El valor mínimo de pH para este



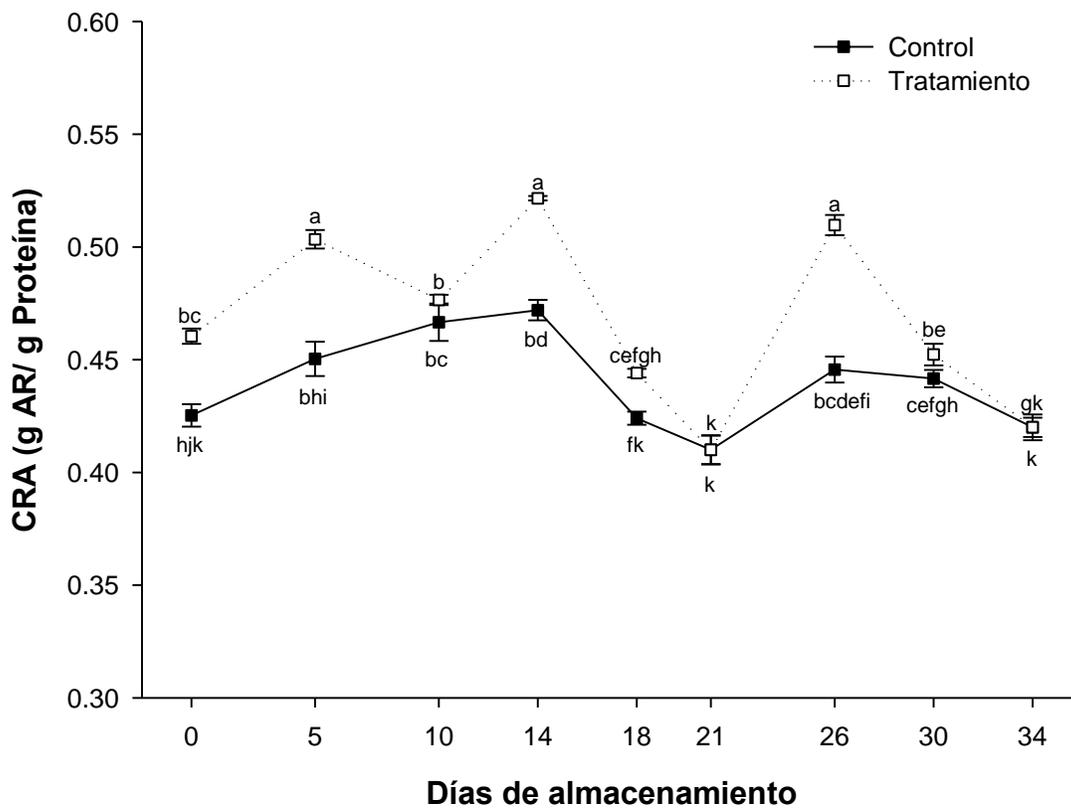
**Figura 15.** Cambios en el pH de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media  $\pm$  error estándar de  $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) por efecto de la interacción de los factores.

tratamiento fue de 5.7 al día 34, no mostrando significancia ( $p > 0.05$ ) respecto al control en ese mismo día.

La caída de pH observada coincide con lo reportado por Brewer *et al.* (1991) para salchichas de puerco adicionadas con lactato de sodio, y es consistente con lo reportado por Candogan y Kolsarici (2003), quienes observaron una disminución de pH durante el almacenamiento de salchichas formuladas con carragenina. Estos autores al igual que Bradford *et al.* (1993) atribuyeron la disminución de pH al incremento de la cuenta microbiana. En el presente estudio, la disminución del pH observado pudo estar asociada con la acidificación del medio por acción de bacterias ácido lácticas, así como de microorganismos psicrótrofos y competidores de patógenos, que normalmente se encuentran en productos cárnicos empaquetados al vacío y almacenados en refrigeración (Franz y Holy, 1996).

#### Capacidad de retención de agua

En productos cárnicos, la capacidad de retención de agua es una propiedad de primordial importancia que afecta su calidad y está directamente relacionada con la vida de anaquel (Jiménez-Colmenero, 2000). En la Figura 16 se muestran los cambios en la CRA de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento. El análisis de varianza encontró un efecto interactivo ( $p \leq 0.05$ ) entre los factores (tratamiento  $\times$  día de almacenamiento), en otras palabras, las diferencias encontradas entre tratamientos dependen del tiempo de almacenamiento al que fueron evaluados. En general, el tratamiento con fibra presentó una mayor CRA que el control ( $p \leq 0.05$ ). Ambos tratamientos mostraron un comportamiento paralelo y variable durante todo el almacenamiento; encontrándose diferencias entre tratamientos a los días 0, 5, 14 y 26, en los cuales el tratamiento con fibra presentó una CRA mayor. Por otro lado, el tratamiento con fibra mostró una disminución de la CRA a los 21 y 34 días de almacenamiento, obteniéndose el valor mínimo al día 21 de igual manera que para el control.



**Figura 16.** Cambios en la capacidad de retención de agua (g agua retenida/ g proteína) de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media  $\pm$  el error estándar de  $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto de la interacción de los factores.

La disminución observada de la CRA en ambos tratamientos pudiera atribuirse a que la disminución del pH de los productos a partir del día 21, haya modificado la carga neta de las proteínas favoreciendo las interacciones proteína-proteína reduciendo la disponibilidad de los sitios para unión de agua. Sin embargo, a pesar de la variabilidad, no se observó diferencia ( $p > 0.05$ ) comparando para cada tratamiento, su día 0 ( $0.43 \pm 0.01$  y  $0.46 \pm 0.003$  g agua retenida/g proteína) con su día 30 (corte de la vida de anaquel) ( $0.42$  y  $0.45$  g AR/ g proteína) de almacenamiento, control y tratamiento con fibra, respectivamente.

### Textura

En la Tabla 21 se muestran los cambios en la textura de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento. Para el parámetro de dureza, el análisis de varianza solo encontró un efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tratamiento. Como puede observarse, solo la adición de fibra cítrica aumentó ( $p \leq 0.05$ ) la dureza del producto en un 10.4%, obteniéndose valores promedio de  $1.38 \pm 0.01$  Kg/ g y  $1.25 \pm 0.01$  Kg/g para el tratamiento con fibra y control, respectivamente. El aumento de dureza observado por la adición de fibra favoreció la formación de redes tridimensionales, reforzando la matriz proteica haciéndola más rígida y con mejores propiedades de absorción de agua y grasa. Cabe aclarar que la fibra, además de contener fibra soluble (pectina) e insoluble, contiene un 8.15% de proteína, componentes que pueden llegar a formar redes tridimensionales. Por otro lado, se ha visto que la fibra insoluble puede incrementar la consistencia de los productos cárnicos a través de la formación de una red tridimensional insoluble capaz de modificar las propiedades reológicas de la fase continua de una emulsión (Fernández-Ginés *et al.*, 2003).

Este efecto (incremento en la dureza por la adición de fibra) también fue observado por Fernández-Ginés *et al.* (2003) en bolonias adicionadas con diferente concentración de fibra de naranja y por Viuda-Martos *et al.* (2010) en bolonias adicionadas con fibra de naranja y aceite de orégano, así como en diferentes productos cárnicos adicionados con otros tipos de fibra (Cardoso *et al.*, 2008; Eim *et*

**Tabla 21.** Cambios en la textura del rollo de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

Parámetro	Muestra	Días de almacenamiento									EEM
		0	5	10	14	18	21	26	30	34	
<i>Dureza (Kgf/g)</i> <sup>x</sup>	Control	1.21	1.20	1.23	1.24	1.25	1.26	1.28	1.30	1.30	0.01
	Tratamiento	1.37	1.38	1.38	1.38	1.39	1.39	1.37	1.37	1.36	0.01
<i>Cohesividad (%)</i> <sup>*</sup>	Control	34.2 <sup>cd</sup>	31.8 <sup>fgh</sup>	31.2 <sup>g</sup>	32.1 <sup>eg</sup>	35.0 <sup>bc</sup>	32.8 <sup>deg</sup>	36.8 <sup>a</sup>	36.7 <sup>ab</sup>	38.3 <sup>a</sup>	0.11
	Tratamiento	33.8 <sup>ce</sup>	33.1 <sup>deh</sup>	32.8 <sup>deg</sup>	33.2 <sup>def</sup>	31.0 <sup>gh</sup>	31.8 <sup>fgh</sup>	30.7 <sup>g</sup>	32.0 <sup>fgh</sup>	32.3 <sup>deg</sup>	0.13
<i>Elasticidad (%)</i> <sup>*</sup>	Control	86.9 <sup>a</sup>	86.1 <sup>ac</sup>	84.1 <sup>bdf</sup>	84.9 <sup>cd</sup>	83.0 <sup>be</sup>	82.6 <sup>b</sup>	84.7 <sup>cd</sup>	83.1 <sup>be</sup>	84.5 <sup>cef</sup>	0.10
	Tratamiento	76.9 <sup>gi</sup>	76.3 <sup>gh</sup>	77.2 <sup>g</sup>	77.0 <sup>gik</sup>	75.2 <sup>h</sup>	75.5 <sup>gh</sup>	75.1 <sup>hik</sup>	75.3 <sup>hj</sup>	75.6 <sup>hik</sup>	0.11
<i>EC (Kgf)</i> <sup>x,y</sup>	Control	0.50 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	0.53 <sup>ab</sup>	0.54 <sup>ab</sup>	0.53 <sup>ab</sup>	0.55 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>	0.01
	Tratamiento	0.57	0.57	0.61	0.63	0.58	0.62	0.63	0.63	0.63	0.01
<i>PD</i> <sup>y</sup>	Control	4.00 <sup>a</sup>	4.36 <sup>ab</sup>	4.61 <sup>bde</sup>	4.44 <sup>ad</sup>	4.61 <sup>bde</sup>	4.78 <sup>e</sup>	4.78 <sup>de</sup>	4.83 <sup>e</sup>	4.82 <sup>de</sup>	0.04
	Tratamiento	4.19	4.25	4.44	4.38	4.65	4.72	4.61	4.83	4.56	0.04

<sup>x</sup> Efecto del tratamiento; <sup>y</sup> Efecto del tiempo de almacenamiento; <sup>z</sup> Efecto de la interacción. Para cada parámetro, diferente literal entre hilera ó columna indica diferencia ( $p \leq 0.05$ ). EEM: error estándar de la media.

*al.*, 2008). Los tratamientos mostraron un comportamiento estable ( $p > 0.05$ ) durante su almacenamiento.

Los parámetros de cohesividad y elasticidad se vieron afectados ( $p \leq 0.05$ ) por la interacción de ambos factores (tratamiento  $\times$  tiempo de almacenamiento). En general, el tratamiento adicionado con fibra presentó productos menos cohesivos ( $p \leq 0.05$ ) y menos elásticos ( $p \leq 0.05$ ) que el control (Tabla 21). De la misma tabla, se observan diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos a los días 18, 26, 30 y 34 de almacenamiento, en los cuales el tratamiento con fibra mostró valores más bajos de cohesividad con respecto al control. También de manera general se observó que la cohesividad en el producto control tendió a incrementarse a través del tiempo, mientras que el tratamiento con fibra mantuvo valores constantes. Para la elasticidad, se detectaron diferencias entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ) en todos los días de almacenamiento, siendo siempre los valores del producto con fibra menos elásticos. En la literatura se reportan resultados controversiales dependiendo del tipo de fibra y cantidad utilizada en el producto cárnico, esto es, se puede encontrar que una fibra aumente o disminuya algunos parámetros de textura. Además, se ha reportado que la fibra insoluble, la cual está presente en la fibra utilizada, debido a su habilidad para retener agua e hincharse (swelling) puede afectar la textura del alimento (Thebaudin *et al.*, 1997).

Respecto al esfuerzo al corte (EC, Tabla 21), el análisis de varianza encontró efecto ( $p \leq 0.05$ ) de los factores principales, es decir, las diferencias encontradas en el estudio pueden deberse ya sea, a la adición de la fibra cítrica o al efecto del almacenamiento. De la Tabla 21, se puede observar que la adición de fibra aumentó ( $p \leq 0.05$ ) la resistencia al corte del producto, presentando un valor promedio de 0.61Kgf contra 0.54 Kgf del control. Durante el almacenamiento, se observó efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tiempo sobre este parámetro. De manera general, ambos tratamientos mostraron un ligero aumento por efecto del almacenamiento. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos para dureza, por lo que el efecto de la adición de fibra puede considerarse semejante al efecto producido en este último parámetro. Otro

factor que pudo incrementar el EC de los productos durante su almacenamiento, es su pérdida de agua. El aumento en el EC producido por diferentes tipos de fibras ha sido reportado por García *et al.* (2007) en salchichas adicionadas con fibra de frutas, lo cual concuerda con los resultados del presente estudio.

Referente a la prueba de doblado, el análisis de varianza solo encontró efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tiempo de almacenamiento. Según la escala de puntos utilizada, ambos tratamientos obtuvieron geles de buena calidad (de 4 a 4.8 puntos) o sea calidad A-AA. El comportamiento observado en este estudio coincide con lo reportado por Cardoso *et al.* (2010) para salchichas de pescado adicionadas con fibra dietaria (inulina de raíz de achicoria).

### Análisis de Color

#### Color Interno

La formación y estabilidad del color son atributos de calidad muy importantes en los productos cárnicos cocidos (Gøtterup *et al.*, 2008). En la Tabla 22 se muestran los cambios en el color interno de los rollos de calamar derivados de su almacenamiento. El análisis de varianza de los resultados de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y ángulo de matiz encontró un efecto interactivo ( $p \leq 0.05$ ) entre los factores (tratamiento  $\times$  día de almacenamiento). Como puede observarse, la luminosidad del producto ( $L^*$ ) disminuyó ( $p \leq 0.05$ ) con la adición de fibra cítrica. Se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos en todos los días de almacenamiento, siendo siempre los productos del tratamiento con fibra menos luminosos. También de manera general se observó que la luminosidad en el producto tendió a incrementarse a través del tiempo, no obstante este incremento fue mínimo para ambas muestras.

Diferentes estudios han demostrado que la luminosidad de los alimentos está relacionada con varios factores, incluyendo el tipo y la concentración de pigmentos presentes (Lindahl *et al.*, 2001), el contenido de agua (Aleson-Carbonell *et al.*, 2002),

la higroscopicidad del material disuelto en la matriz de agua (Jaya y Das, 2004), el tiempo de cortado (Álvarez *et al.*, 2007), el contenido de aire ocluido (Roland *et al.*, 1999), el contenido de grasa (Jiménez-Colmenero *et al.*, 1996; Claus y Hunt, 1991), entre otros. Por otro lado, la disminución observada en el parámetro  $L^*$ , debido a la adición de fibra cítrica, es consistente con lo reportado por García *et al.* (2007) en salchichas adicionadas con fibra de frutas. Varios autores han demostrado una relación directa entre el contenido de grasa y la luminosidad, esto es, que al disminuir su contenido (como en el presente estudio), el valor de luminosidad disminuye por igual (Hughes *et al.*, 1996; Carballo *et al.*, 1996). La relativa estabilidad de los productos durante su almacenamiento coincide con lo reportado para otros tipos de embutidos (Candogan y Kolsarici, 2003; Fernández-Ginés *et al.*, 2003; Félix-Armenta, 2006).

Se ha reportado que el comportamiento del parámetro  $a^*$  (rojo-verde) en los alimentos depende de aspectos como la tecnología utilizada (mezclado, cortado, etc.) (Young y Sang, 2004), de su composición (Geun *et al.*, 2004), la integridad estructural del alimento, el contenido y disposición de pigmentos (soluble en agua o lípidos), así como la disponibilidad de agua en la superficie (Fernández-López *et al.*, 2005). Respecto al parámetro  $a^*$ , en general, el tratamiento adicionado con fibra presentó productos con valores mayores de  $a^*$  ( $p \leq 0.05$ ) que el control. Por otro lado, se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos a los días 10, 14, 18, 21 y 30 de almacenamiento, en los cuales el tratamiento con fibra mostró valores más altos de  $a^*$  con respecto al control. Estos resultados son similares a lo observado por Candogan y Kolsarici, (2003) durante el almacenamiento de salchichas adicionadas con carragenina. No obstante, ambos productos se mantuvieron dentro de los valores positivos de  $a^*$ (rojo).

Respecto al parámetro  $b^*$ , el tratamiento con fibra presentó valores mayores ( $p \leq 0.05$ ) que el control, es decir, la adición de fibra cítrica tornó a los productos hacia el matiz amarillo. Durante el almacenamiento se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos solo a los días 0 y 26, en los cuales el tratamiento con fibra

**Tabla 22.** Cambios en el color interno de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración.

Parámetro	Muestra	Días de almacenamiento									EEM
		0	5	10	14	18	21	26	30	34	
$L^{*\infty}$	Control	77.69 <sup>c</sup>	78.93 <sup>ab</sup>	79.16 <sup>b</sup>	78.64 <sup>ab</sup>	79.02 <sup>b</sup>	79.03 <sup>ab</sup>	78.42 <sup>a</sup>	79.01 <sup>b</sup>	78.90 <sup>ab</sup>	0.04
	Tratamiento	73.89 <sup>d</sup>	74.46 <sup>de</sup>	74.52 <sup>de</sup>	74.79 <sup>e</sup>	74.80 <sup>e</sup>	74.91 <sup>e</sup>	74.60 <sup>e</sup>	74.90 <sup>e</sup>	74.99 <sup>e</sup>	0.04
$a^{*\infty}$	Control	7.10 <sup>aceghkm</sup>	6.94 <sup>aghi</sup>	6.78 <sup>a</sup>	7.04 <sup>ahj</sup>	6.96 <sup>ad</sup>	6.73 <sup>a</sup>	7.30 <sup>bdfijlm</sup>	7.01 <sup>af</sup>	7.34 <sup>bfiik</sup>	0.03
	Tratamiento	7.08 <sup>aeghkl</sup>	7.13 <sup>aceghkm</sup>	7.29 <sup>bdfijlm</sup>	7.42 <sup>be</sup>	7.38 <sup>bh</sup>	7.46 <sup>bc</sup>	7.55 <sup>b</sup>	7.41 <sup>bg</sup>	7.63 <sup>b</sup>	0.03
$b^{*\infty}$	Control	19.76 <sup>a</sup>	20.59 <sup>ab</sup>	21.79 <sup>def</sup>	22.29 <sup>f</sup>	21.92 <sup>def</sup>	21.34 <sup>be</sup>	22.23 <sup>f</sup>	22.11 <sup>ef</sup>	22.46 <sup>cf</sup>	0.06
	Tratamiento	21.37 <sup>be</sup>	21.13 <sup>bd</sup>	21.12 <sup>bd</sup>	22.45 <sup>f</sup>	21.91 <sup>def</sup>	21.90 <sup>def</sup>	23.25 <sup>c</sup>	21.91 <sup>def</sup>	22.59 <sup>cf</sup>	0.06
$\theta^{\infty}$	Control	70.85 <sup>a</sup>	71.31 <sup>ab</sup>	72.20 <sup>bc</sup>	72.50 <sup>ce</sup>	72.71 <sup>cd</sup>	72.68 <sup>ce</sup>	72.62 <sup>cf</sup>	73.01 <sup>c</sup>	73.09 <sup>c</sup>	0.05
	Tratamiento	71.57 <sup>ab</sup>	71.56 <sup>ab</sup>	71.61 <sup>ab</sup>	71.74 <sup>b</sup>	71.81 <sup>b</sup>	71.90 <sup>bf</sup>	71.98 <sup>bef</sup>	72.00 <sup>bef</sup>	72.04 <sup>bdef</sup>	0.04
$\Delta E^{x,y}$	Control	-	1.48 <sup>a</sup>	1.56 <sup>ab</sup>	1.72 <sup>ac</sup>	1.86 <sup>bc</sup>	1.91 <sup>cd</sup>	1.87 <sup>cd</sup>	2.01 <sup>d</sup>	2.15 <sup>d</sup>	0.03
	Tratamiento	-	0.81	1.08	1.13	1.16	1.44	1.54	1.60	1.68	0.04

Para cada parámetro, diferente literal entre hilera ó columna indica diferencia ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Efecto del tratamiento; <sup>y</sup> Efecto del tiempo de almacenamiento; <sup>∞</sup> Efecto de la interacción.

presentó valores más altos de  $b^*$ . Sin embargo, ambos tratamientos presentaron básicamente el mismo comportamiento a través del almacenamiento. Autores como Fernández-Ginés *et al.* (2003) y Viuda-Martos *et al.* (2010), observaron un incremento en el parámetro  $b^*$  por efecto de la adición de fibra de cítricos y fibra de naranja en bolonias, respectivamente (tal y como se muestra en el día 0 en el presente estudio). Dicho efecto lo atribuyeron a la presencia de carotenoides en la fibra cítrica.

Para una mejor integración de los valores de  $a^*$  y  $b^*$ , se utilizó el ángulo de matiz ( $\theta$ ), que es el resultado de la función arco tangente de  $b^*/a^*$ , mostrando con mayor claridad el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el color de los productos. En el presente estudio, en general, el tratamiento control presentó productos con un ángulo de matiz mayor ( $p \leq 0.05$ ) que el tratamiento con fibra. Por otro lado, se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos a los días 14, 18, 21, 30 y 34 de almacenamiento, en los cuales el tratamiento con fibra mostró valores más bajos en el ángulo matiz. Sin embargo, se puede observar que ambas muestras mostraron la tendencia a aumentar su valor conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento. Este mismo efecto fue observado por Félix-Armenta (2006) en una salchicha de calamar. El color interno de ambos tratamientos, durante su almacenamiento, puede situarse en el cuadrante I (rojo-amarillo) de la esfera cromática de color.

Respecto a la diferencia total de color ( $\Delta E$ ) de las muestras, el análisis de varianza solo encontró efecto ( $p \leq 0.05$ ) de los factores principales de manera individual. Se puede observar de la Tabla 22 que el tratamiento con fibra presentó valores más bajos ( $p \leq 0.05$ ) (menor diferencia respecto al día 0) que la muestra control, con valores promedio de 1.8 y 1.3, para el control y tratamiento con fibra, respectivamente. Durante el almacenamiento se observó efecto ( $p \leq 0.05$ ) del tiempo sobre ambos tratamientos. No obstante, se puede comentar que el tratamiento con fibra mostró mayor estabilidad durante su almacenamiento, obteniendo siempre valores más bajos que la muestra control.

## Color Externo

En la Tabla 23 se muestran los cambios de color sucedidos en el exterior de los rollos de calamar durante los 34 días de almacenamiento. El análisis de varianza de los resultados de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , ángulo de matiz y diferencia total de color ( $\Delta E$ ), encontró un efecto interactivo ( $p \leq 0.05$ ) entre los factores (tratamiento  $\times$  día de almacenamiento).

De igual manera que en el color interno de los productos, se observó que la adición de fibra disminuyó la luminosidad ( $L^*$ ,  $p \leq 0.05$ ) del producto presentando además, valores más bajos ( $p \leq 0.05$ ) que la muestra control durante todos los días de almacenamiento, por ende mostrando menos luminosidad. En general, ambos tratamientos mostraron estabilidad de este parámetro durante su almacenamiento. En trabajos realizados sobre el desarrollo de productos cárnicos funcionales, diversos autores han observado una disminución de los valores de  $L^*$  al agregar ingredientes no cárnicos como carragenina (Candogan y Kolsarici, 2003) y algas marinas (Cofrades *et al.*, 2008), lo cual puede estar relacionado sobre la forma de retener el agua en estos productos. Por otro lado, este efecto también puede relacionarse con la disminución observada de pH, al adicionar la fibra y durante el almacenamiento de los productos, ya que autores como Hunt *et al.* (1991) y Fernández-López *et al.* (2002) han reportado que la luminosidad en productos cárnicos depende del efecto del pH sobre la estructura de las proteínas cárnicas, el cual puede modificar sus propiedades de reflexión y refracción de luz (Swatland, 1995).

A diferencia del color interno, los valores obtenidos de  $a^*$  del color externo para ambos tratamientos fueron muy similares. Durante el almacenamiento solo se encontró diferencia ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos al día 26, en el cual el tratamiento control presentó un valor más alto de  $a^*$  con respecto al tratamiento con fibra. De la Tabla 23 se puede observar, en ambas muestras, que la tendencia fue de un incremento en los valores de  $a^*$  conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento.

**Tabla 23.** Cambios en el color externo de los rollos de calamar durante 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

Parámetro	Muestra	Días de almacenamiento									EEM
		0	5	10	14	18	21	26	30	34	
<i>L*</i>	Control	78.40 <sup>b</sup>	78.39 <sup>ab</sup>	79.14 <sup>a</sup>	78.38 <sup>b</sup>	78.20 <sup>b</sup>	78.56 <sup>ab</sup>	78.13 <sup>b</sup>	78.16 <sup>b</sup>	78.5 <sup>ab</sup>	0.05
	Tratamiento	74.73 <sup>c</sup>	75.22 <sup>cd</sup>	75.46 <sup>de</sup>	75.36 <sup>cd</sup>	74.96 <sup>cd</sup>	74.76 <sup>c</sup>	75.41 <sup>de</sup>	74.82 <sup>ce</sup>	75.39 <sup>d</sup>	0.04
<i>a*</i>	Control	7.22 <sup>c</sup>	7.66 <sup>ce</sup>	7.59 <sup>ce</sup>	7.59 <sup>cfg</sup>	7.70 <sup>ce</sup>	7.74 <sup>deg</sup>	8.46 <sup>a</sup>	8.14 <sup>ae</sup>	7.85 <sup>bef</sup>	0.03
	Tratamiento	7.33 <sup>cd</sup>	7.18 <sup>cd</sup>	7.72 <sup>ce</sup>	7.53 <sup>cfg</sup>	7.88 <sup>bef</sup>	7.96 <sup>bef</sup>	7.74 <sup>deg</sup>	7.81 <sup>bdeg</sup>	8.29 <sup>ab</sup>	0.03
<i>b*</i>	Control	22.75 <sup>cg</sup>	25.79 <sup>e</sup>	25.10 <sup>e</sup>	27.62 <sup>b</sup>	25.39 <sup>e</sup>	28.60 <sup>a</sup>	27.46 <sup>b</sup>	27.28 <sup>b</sup>	28.68 <sup>a</sup>	0.06
	Tratamiento	22.48 <sup>c</sup>	21.54 <sup>i</sup>	22.58 <sup>c</sup>	23.02 <sup>cfh</sup>	23.53 <sup>dgh</sup>	23.89 <sup>d</sup>	23.90 <sup>d</sup>	23.79 <sup>df</sup>	24.20 <sup>e</sup>	0.05
$\Theta$	Control	72.16 <sup>gh</sup>	74.16 <sup>ac</sup>	73.67 <sup>bce</sup>	74.29 <sup>a</sup>	73.06 <sup>def</sup>	73.44 <sup>cd</sup>	73.66 <sup>bce</sup>	73.57 <sup>cd</sup>	74.34 <sup>ab</sup>	0.04
	Tratamiento	72.30 <sup>hi</sup>	72.28 <sup>gh</sup>	72.04 <sup>gh</sup>	72.11 <sup>gi</sup>	71.87 <sup>gi</sup>	71.69 <sup>g</sup>	72.14 <sup>gi</sup>	72.38 <sup>hi</sup>	72.71 <sup>fh</sup>	0.04
$\Delta E$	Control	-	1.22 <sup>de</sup>	1.61 <sup>cdgh</sup>	1.68 <sup>cdgh</sup>	1.82 <sup>cdgh</sup>	2.06 <sup>bfg</sup>	2.30 <sup>bc</sup>	2.88 <sup>ab</sup>	3.41 <sup>a</sup>	0.05
	Tratamiento	-	1.0 <sup>d</sup>	1.24 <sup>df</sup>	1.27 <sup>df</sup>	1.64 <sup>cdgh</sup>	1.78 <sup>bd</sup>	1.83 <sup>cdgh</sup>	1.94 <sup>bd</sup>	2.02 <sup>befh</sup>	0.06

Para cada parámetro, diferente literal entre hilera o columna indica diferencia ( $p \leq 0.05$ ). EEM: error estándar de la media.  
<sup>a-h</sup> Efecto de la interacción de los factores.

Respecto al parámetro  $b^*$  (amarillo-azul) del color externo, el tratamiento control presentó productos con valores mayores de  $b^*$  ( $p \leq 0.05$ ) que el tratamiento con fibra (Tabla 23). Cabe mencionar que este resultado no coincide con lo observado en la evaluación de color interno. Por otra parte, se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos en todos los días de almacenamiento excepto por el día 0, en los cuales el tratamiento con fibra mostró valores más bajos de  $b^*$  con respecto al control. También de manera general se observó un incremento significativo ( $p \leq 0.05$ ) de este parámetro para cada muestra (control y tratamiento con fibra) conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento, siendo este cambio más drástico para la muestra control (Tabla 23). Lo anterior concuerda con la apreciación visual final del producto, ya que a los últimos días de almacenamiento, las muestras presentaron tonalidades más “amarillas”, siendo esta mayor para el control. Este efecto puede deberse a la deshidratación superficial de los productos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Viuda-Martos *et al.* (2010) en bolonias adicionadas con fibra de naranja y por Félix-Armenta (2006) en salchichas de calamar gigante. Cofrades *et al.* (2004) sugieren que el comportamiento del parámetro  $b^*$  depende de la extensión de la matriz alimentaria, además de que los cambios (pH, oxidación, actividad de agua, pérdida de humedad, etc.) sufridos en la misma tienen una gran influencia sobre este parámetro en muchos alimentos.

El ángulo de matiz externo del producto, en general fue mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el tratamiento control con respecto al tratamiento con fibra, excepto al día 0. En todos los días de almacenamiento, excepto al inicial, se encontraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) entre tratamientos, siendo siempre menores los valores del producto con fibra. Al igual que el color interno, el color externo de ambos tratamientos se situó en el cuadrante I (rojo-amarillo) de la esfera cromática de color.

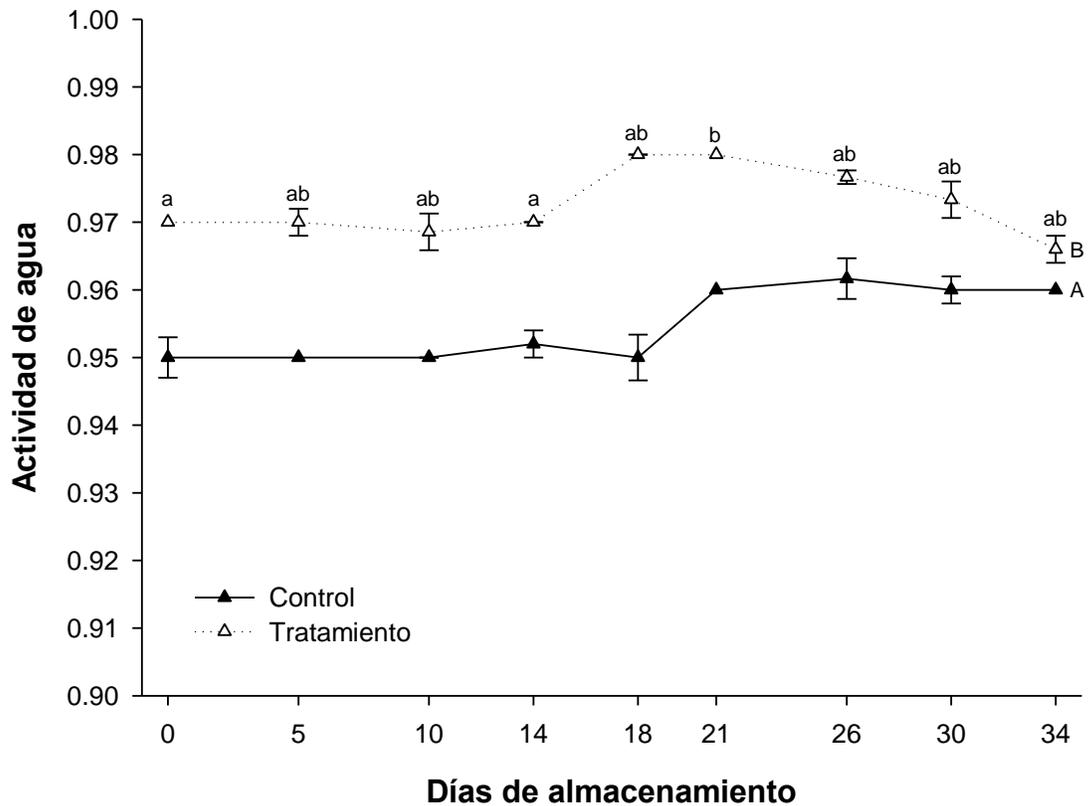
Respecto a la diferencia total de color (externo,  $\Delta E$ ) de las muestras (Tabla 23), al igual que el  $\Delta E$  del color interno, que a pesar de no encontrarse diferencias significativas ( $p > 0.05$ , excepto día 34) entre ambas muestras, por día de

almacenamiento, se puede concluir que el tratamiento con fibra mostró mayor estabilidad en el color durante su almacenamiento, obteniendo siempre valores más bajos (menor diferencia respecto al día 0) que la muestra control.

### Actividad de agua ( $a_w$ )

Todos los alimentos contienen agua, y es común observar que los alimentos más propensos a mostrar un rápido deterioro debido a cambios biológicos o químicos son usualmente aquellos con alto contenido de agua. Sin embargo, un predictor de la vida de anaquel más preciso es la actividad de agua ( $a_w$ ). Conocer la actividad de agua de un alimento es de fundamental importancia, ya que con base a ella se puede conocer el comportamiento de un producto, y permite predecir su estabilidad y vida útil. En general, mientras más alta sea la  $a_w$  y más se acerque a 1.0, mayor será su inestabilidad (Badui, 2006).

Respecto a la  $a_w$ , el análisis de varianza encontró efecto ( $p \leq 0.05$ ) de los factores principales de manera individual. En la Figura 17 se muestran los cambios en la  $a_w$  de los productos durante el almacenamiento. La adición de fibra mostró un incremento significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la  $a_w$  del producto, resultando un valor promedio de 0.97 para el tratamiento con fibra, mientras que para el control se obtuvo un promedio de 0.96. Estos valores resultaron semejantes a lo reportado para una salchicha de pescado adicionada con hidrolizado de soya y de res adicionada con carragenina (Vallejo-Córdoba *et al.*, 1987; Candogan y Kolsarici, 2003) (respecto al tratamiento con fibra), y otra de calamar (Félix-Armenta, 2006) (respecto a la muestra control). Durante el almacenamiento, la  $a_w$  del producto se vio afectada ( $p \leq 0.05$ ) por el tiempo, encontrándose diferencias a los días 0 y 14 con respecto al día 21. De manera general, puede observarse que ambas muestras tuvieron un comportamiento paralelo durante el almacenamiento, no mostrando significancia ( $p > 0.05$ ) al comparar los resultados dentro de ellos.



**Figura 17.** Cambios en la actividad de agua de los rollos de calamar durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C). Los valores corresponden a la media  $\pm$  el error estándar de  $n = 2$ . Promedios con diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto del almacenamiento. Diferente literal mayúscula indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto del tratamiento.

Cabe señalar que los valores obtenidos de  $a_w$  son mayores a lo requerido para el crecimiento de bacterias deteriorativas (0.91) y la mayoría de los patógenos pueden encontrar estos niveles muy adecuados para crecer (Man y Jones, 1994). Sin embargo, valores de  $a_w$  de alrededor de 0.99 pueden mejorar los atributos subjetivos de textura en productos embutidos como el jamón (Chordash y Potter, 1972). Además, los niveles presentados de  $a_w$  en el presente estudio, no tuvieron influencia sobre las cuentas bacterianas, ya que éstas se mantuvieron dentro de los límites establecidos por la NOM-129-SSA1-1995, hasta el último día de almacenamiento como se discutirá posteriormente en el apartado de microbiología.

### Oxidación de lípidos: TBARS

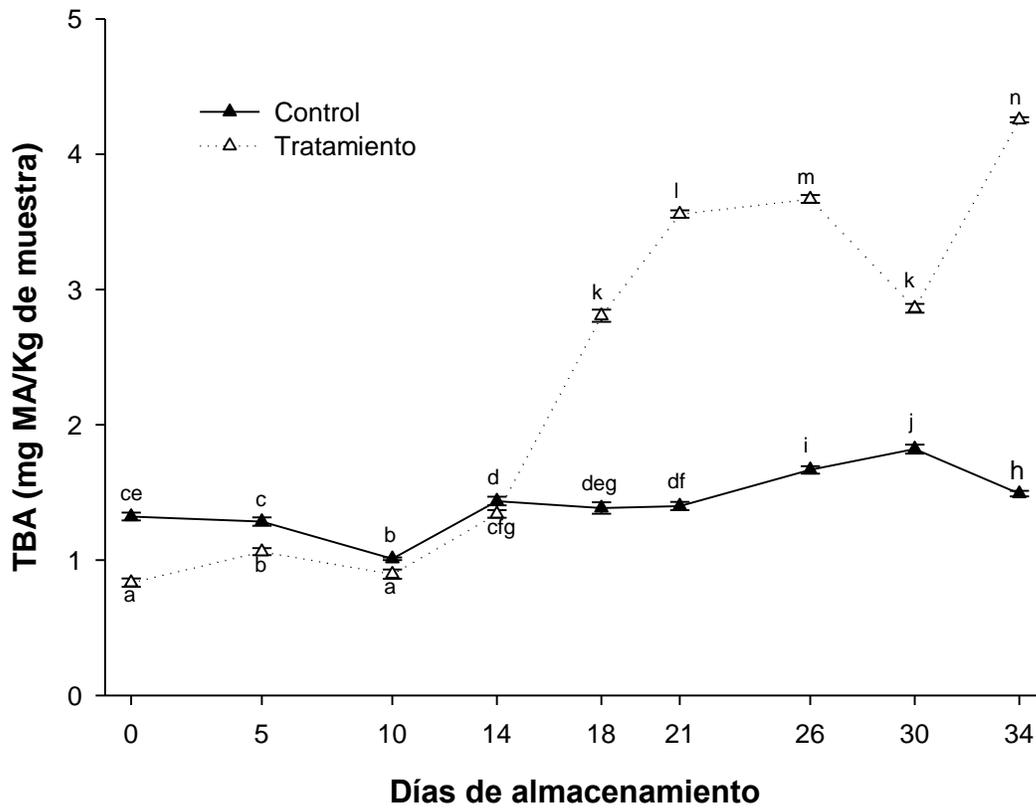
La oxidación de lípidos es una reacción química muy importante en la tecnología de alimentos, ya que ésta afecta directamente la calidad y vida de anaquel de los mismos, ocasionando cambios en su aroma, sabor, textura, consistencia y apariencia (Mc Donald y Hulting, 1987). Existen algunos métodos para determinar el grado de deterioro de los lípidos en alimentos; uno de los indicadores de oxidación más sensitivo y ampliamente utilizado, es la determinación del ácido tiobarbitúrico (TBA) (Nishimoto *et al.*, 1985). El TBA reacciona con compuestos carbonilos y malonaldehído (producto de las reacciones secundarias de la oxidación) en particular, el cual es un producto de descomposición de los hidroperóxidos (producidos durante reacciones primarias de la oxidación) (Hardy, 1980).

En la elaboración de emulsiones cárnicas existen operaciones importantes como el cortado, mezclado y embutido, las cuales han sido asociadas con efectos pro-oxidantes, debido a que favorecen el contacto entre los lípidos de la carne (o ingredientes) y el oxígeno, acelerando el desarrollo de oxidación (Fernández-López *et al.*, 2000). Keokamnerd *et al.* (2008), reportaron que el picado y el tratamiento térmico pueden catalizar la oxidación de lípidos, debido a la disrupción de compuestos celulares protectores contenidos en las membranas celulares, como la

vitamina E. Por otro lado, la elaboración de salchichas implica la adición de aditivos como el cloruro de sodio, el cual ha sido identificado como un pro-oxidante, que puede promover la producción de malonaldehído (Rhee, 1999).

En la Figura 18 se muestran los valores obtenidos de TBA durante 34 días de almacenamiento. El análisis de varianza mostró efecto ( $p \leq 0.05$ ) de la interacción de los factores. Se puede observar que los valores de TBA mostraron diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por la adición de fibra cítrica (manteniendo a la salchicha más estable a la oxidación) (día 0). Por otro lado, en todos los días de almacenamiento se detectaron diferencias entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ). No obstante, el tratamiento con fibra presentó valores menores ( $p \leq 0.05$ ) de oxidación que el control durante los primeros 14 días de almacenamiento. Sin embargo, a partir del día 18 al 34 el sistema fue desestabilizado mostrando valores mayores de oxidación que el control. En ambos tratamientos se observó un incremento ( $p \leq 0.05$ ) de los valores de TBA debido al tiempo de almacenamiento, siendo la muestra control la que presentó menor oxidación manteniendo los niveles de TBA entre 1.01 a 1.82 mg MA/Kg de muestra durante el periodo evaluado, mientras que para el tratamiento con fibra, los valores oscilaron de 0.83 a 4.25 mg MA/Kg de muestra. Los valores de TBA obtenidos para el tratamiento con fibra son similares e incluso menores a los reportados por Fernández-Ginés *et al.* (2003) en bolonias adicionadas con fibra cítrica.

A pesar de que el tratamiento con fibra mostró una mayor oxidación de lípidos presentes, el análisis sensorial de los panelistas no reportó ningún olor ni sabor a rancio, lo que da lugar a sugerir que en los resultados obtenidos podría haberse detectado algún producto de interferencia con el TBA, por lo cual, se recomienda considerar otros métodos alternativos para un mejor monitoreo de la oxidación de lípidos. Una alternativa sería combinar la prueba de TBA con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), lo cual permitiría la eliminación de posibles sustancias de interferencia (Seljeskog *et al.*, 2006).



**Figura 18.** Desarrollo de TBA durante 34 días de almacenamiento en refrigeración de los rollos de calamar. Los valores corresponden a la media  $\pm$  el error estándar de  $n = 2$ . Diferente literal indica diferencias ( $p \leq 0.05$ ) por efecto de la interacción de los factores.

## **Análisis microbiológicos**

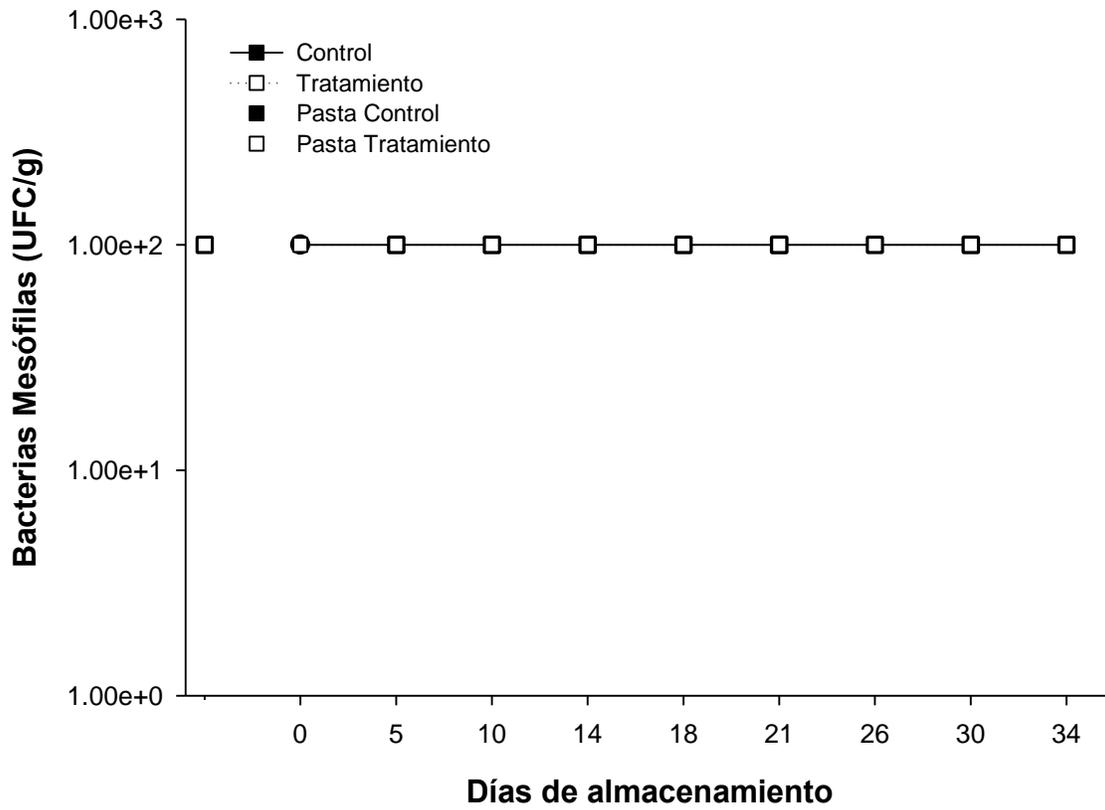
El objetivo principal de conservar y almacenar los alimentos es mantenerlos en buenas condiciones hasta que se consumen. La estabilidad microbiológica de productos cárnicos cocidos depende principalmente de factores intrínsecos, como su composición, y de factores extrínsecos, especialmente del empaque y la temperatura de almacenamiento.

### Mesófilos y psicrófilos

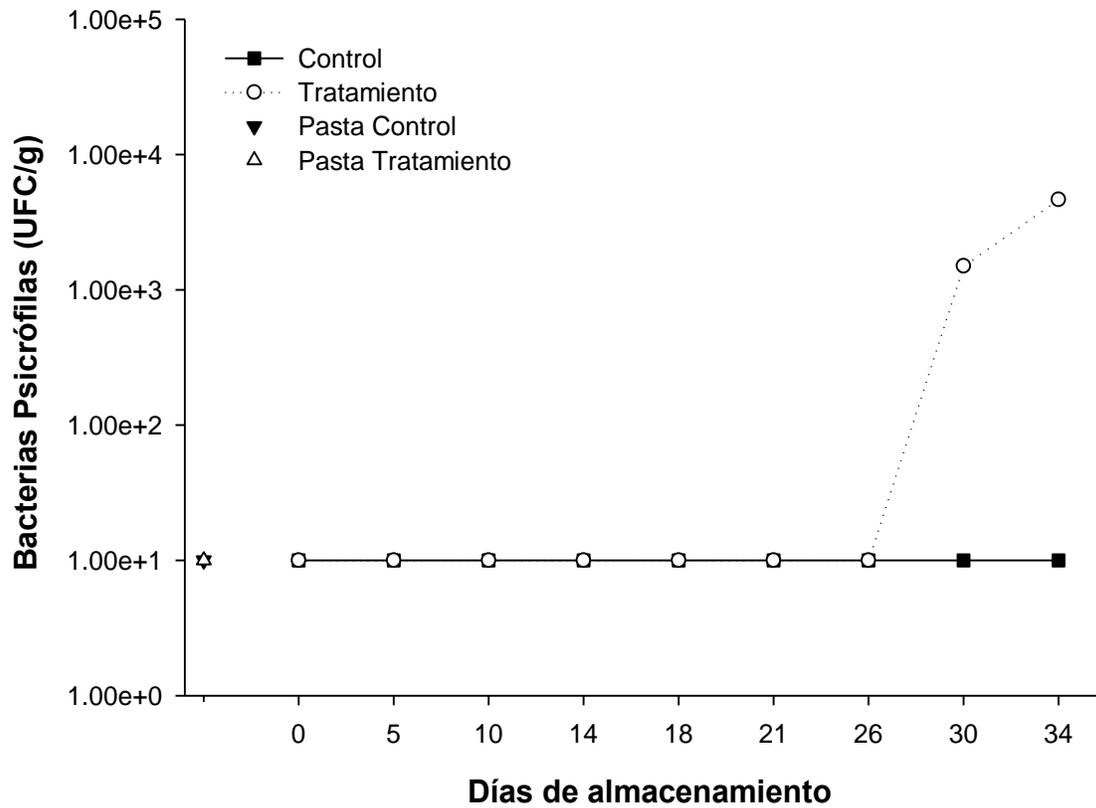
Los resultados microbiológicos para la pasta (o emulsión) y el rollo de calamar se muestran en las Figuras 19 y 20. La cuenta de bacterias mesófilas, para ambos productos, inició con un crecimiento bacteriano de <100 unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (UFC/g), manteniéndose esta cuenta durante los 34 días de almacenamiento. Estos resultados, nunca superaron los límites máximos ( $10^7$  UFC/g) permisibles según especificaciones sanitarias nacionales e internacionales (NOM-027-SSA1-1993, NOM-029-SSA1-1993, ICMSF, 1986). Por otro lado, la vida de anaquel de salchichas tipo frankfurter elaboradas a partir de calamar gigante, cuyas características fueron similares al producto evaluado en el presente estudio (misma formulación que el control en el presente estudio) presentaron una vida de anaquel de solo 21 días (Félix-Armenta *et al.*, 2009). Este resultado muestra el efecto del manipuleo del producto sobre su calidad microbiológica final, ya que las salchichas de calamar tuvieron un paso extra (separación del producto de su funda) que el rollo de calamar. Así, el rollo de calamar presentó mejores perspectivas de durabilidad bajo las mismas condiciones de almacenamiento considerándose microbiológicamente (únicamente tomando en cuenta la cuenta de microorganismos mesófilos) apto para consumo humano hasta el último día que duró su almacenamiento.

Por otro lado, a pesar de que las bacterias psicrófilas se consideran dentro del grupo de las bacterias aerobias, sus niveles permisibles no han sido establecidos ó predeterminados dentro de las normativas sanitarias mexicanas; no obstante, son microorganismos de gran importancia como indicadores de deterioro de alimentos. El conteo de psicrófilos en el rollo de calamar (Figura 20) mostró un comportamiento ideal, para ambos tratamientos, manteniendo el control valores por debajo de las 10 UFC/g a lo largo del período de almacenamiento en refrigeración (2-4°C), mientras el tratamiento con fibra aumentó su conteo hasta 10, 000 UFC/g hacía el último día de almacenamiento. Sin embargo, los conteos de ambos tratamientos se encontraron por debajo de los límites considerados permisibles para bacterias aerobias (de  $5 \times 10^5$  UFC/g) (NOM-129-SSA1-1995).

Estos resultados tan bajos son de gran importancia, pues los microorganismos psicrófilos son en su mayoría contaminantes, relacionados con la producción de sustancias que modifican las características sensoriales (olor, color, sabor, textura y apariencia) de los alimentos y por consecuencia afectan la aceptabilidad del consumidor (Kraft, 1992). Los valores de psicrófilos en el presente estudio sugieren un producto inocuo para el consumo humano siempre y cuando se mantengan las buenas prácticas de producción durante su procesado y el almacenamiento.



**Figura 19.** Evaluación de bacterias aerobias mesofílicas en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C).



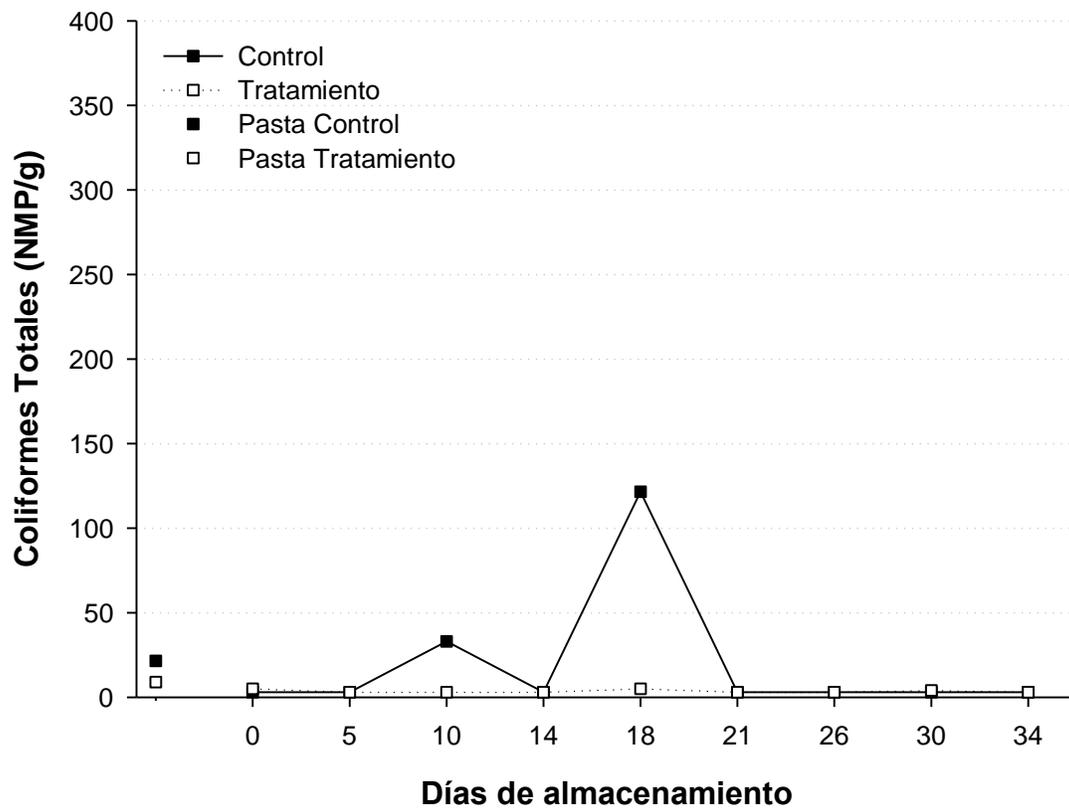
**Figura 20.** Evaluación de bacterias aerobias psicrófilas en el rollo de calamar gigante durante almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

## Coliformes totales

Los coliformes totales son indicadores de las condiciones sanitarias durante el procesamiento del producto. En el presente estudio, los coliformes totales en el rollo de calamar con fibra reflejaron valores por debajo de 10 NMP/g (Figura 21) durante todo el período de almacenamiento. Por otro lado, aunque el control presentó cierta variabilidad del conteo de coliformes totales (día 18), en líneas generales se mantuvieron en concordancia con los valores permisibles por las normativas mexicanas (de 400 NMP/g) (NOM-027-SSA1-1993 y NOM-029-SSA1-1993), indicando de nuevo las buenas prácticas de producción aplicadas durante el procesamiento de los productos.

## Patógenos

Los productos procesados listos para su consumo (ready-to-eat) se han visto implicados en enfermedades transmitidas por alimentos (Sim *et al.*, 2002). Los productos marinos procesados y empacados, con una vida en refrigeración prolongada, como el rollo de calamar, deben estar exentos de patógenos, en particular de *Listeria monocytogenes* (Tompkin, 2002; Elson *et al.*, 2004). Los microorganismos patógenos evaluados al rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C) se muestran en la Tabla 24. Como se muestra, no se observó la presencia de *Salmonella* ssp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*. Por otro lado, los valores de coliformes fecales (Figura 22) se mantuvieron por debajo de los límites permisibles para productos marinos (400 NMP/g) (NOM-027-SSA1-1993 y NOM-029-SSA1-1993).

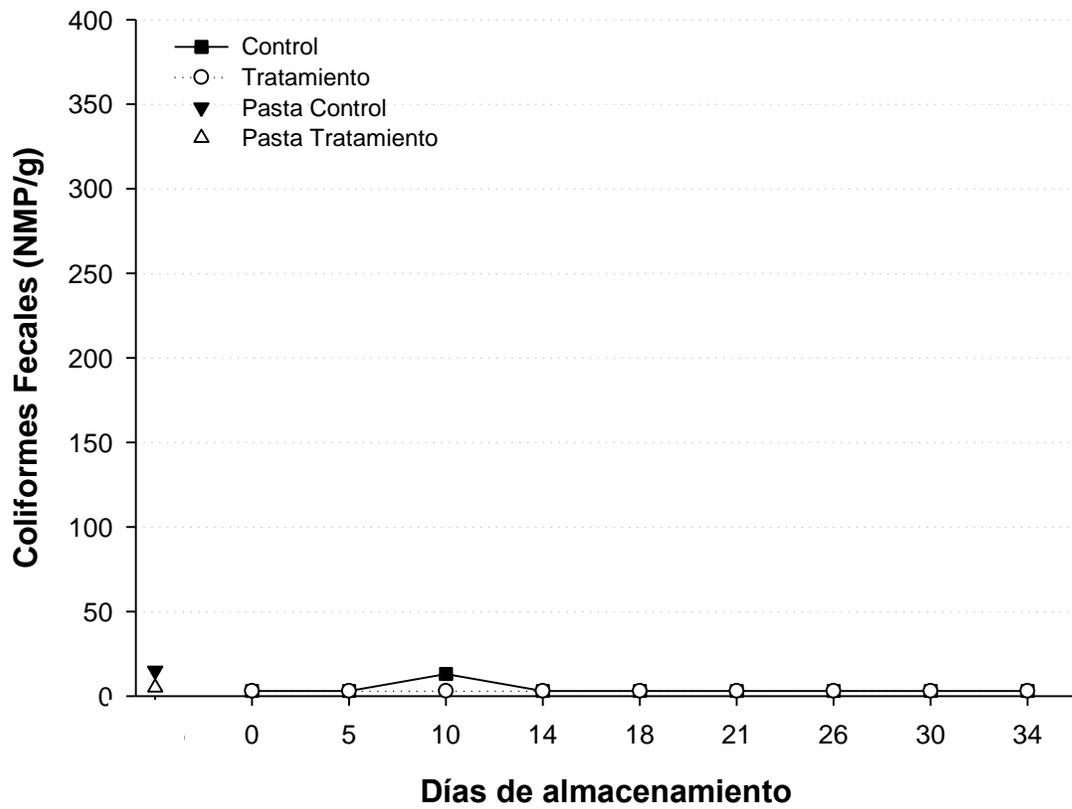


**Figura 21.** Evaluación de coliformes totales en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

**Tabla 24.** Microorganismos patógenos evaluados en el rollo de calamar gigante a los 0 y 34 días de almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

Microorganismo patógeno	Muestras	
	Control	Tratamiento
Patógenos*		
<i>Staplylococcus aureus</i> (UFC/g)	<10	<10
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente
<i>Vibrio cholera</i>	Ausente	Ausente
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente	Ausente

\* Este grupo de microorganismos patógenos fueron evaluados al inicio y al final del periodo de almacenamiento.



**Figura 22.** Evaluación de coliformes fecales en el rollo de calamar gigante durante su almacenamiento en refrigeración (2-4°C).

El deterioro de productos empacados al vacío y almacenados en refrigeración, como el del presente estudio, generalmente está relacionado con contaminación post-proceso (Radin *et al.*, 2007). El proceso de cocimiento se realiza para eliminar la mayor parte de la flora presente en el producto; sin embargo, ciertos microorganismos y esporas pueden sobrevivir a este proceso (Tompkin, 2002). Durante el almacenamiento en refrigeración prolongado, este tipo de productos pueden sufrir deterioro por microorganismos como hongos, levaduras y en mayor proporción por bacterias ácido lácticas (Pouch-Downes *et al.*, 2001). Entre las manifestaciones de deterioro asociadas a bacterias ácido lácticas tenemos: acidez del producto (disminución del pH), producción de gas dentro del empaque, formación de una película cremosa y/o drenaje de líquido a partir del alimento hacia el empaque (Borch *et al.*, 1996; Korkeala y Björkroth 1997).

En el presente estudio, los empaques de rollo de calamar presentaron líquido claro alrededor del día 14 en el lote 1 y a partir del día 18 en el lote 2. Este drenado de líquido del rollo de calamar se hizo más denso hacia el final del período de almacenamiento y tomando un color amarillo-lechoso alrededor del día 30 para ambos lotes. Previos estudios de deterioro de productos tipo salchicha almacenados en refrigeración, empacados al vacío y manejados con buenas prácticas higiénicas, presentaron un contaje de bacterias ácido lácticas por debajo de 10 UFC/g al día cero de almacenamiento, valores que se incrementaron durante el almacenamiento en refrigeración, causando deterioro del producto (Korkeala *et al.*, 1990; Korkeala y Björkroth, 1997; Chenoll *et al.*, 2007). En el presente estudio, no se contempló la evaluación de bacterias ácido lácticas a lo largo del período de almacenamiento. Sin embargo, tomando en cuenta la aparición de líquido drenado y ciertos cambios sensoriales, se procedió al contaje de estos microorganismos en cada lote al día 30 de almacenamiento (Tabla 26). Las muestras evaluadas presentaron valores en el orden de  $10^5$ ,  $10^{2-3}$  y  $10^4$  UFC/g, para el control, el tratamiento y líquido drenado, respectivamente. Estos resultados corroboraron la acidez detectada en el producto por el panel sensorial al día 30 de almacenamiento.

**Tabla 25.** Conteo de bacterias ácido lácticas en el rollo de calamar gigante al día 30 de almacenamiento.

Muestra	Control	Tratamiento	Líquido de Drenado
Lote 1	$244 \times 10^5$	$19 \times 10^2$	$102 \times 10^4$
Lote 2	$190 \times 10^5$	$2 \times 10^3$	$28 \times 10^4$

Estudios realizados en productos de pescado empacados al vacío y ahumados con calor presentaron valores de bacterias ácido lácticas entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/g durante su almacenamiento a  $10^{\circ}\text{C}$  (Lyhs, 2002), valores mayores que los presentados en el presente estudio para el rollo de calamar. Estos resultados posiblemente se deban a las diferentes temperaturas de refrigeración utilizadas ( $4^{\circ}\text{C}$  versus  $10^{\circ}\text{C}$ ) y al uso de fibra cítrica.

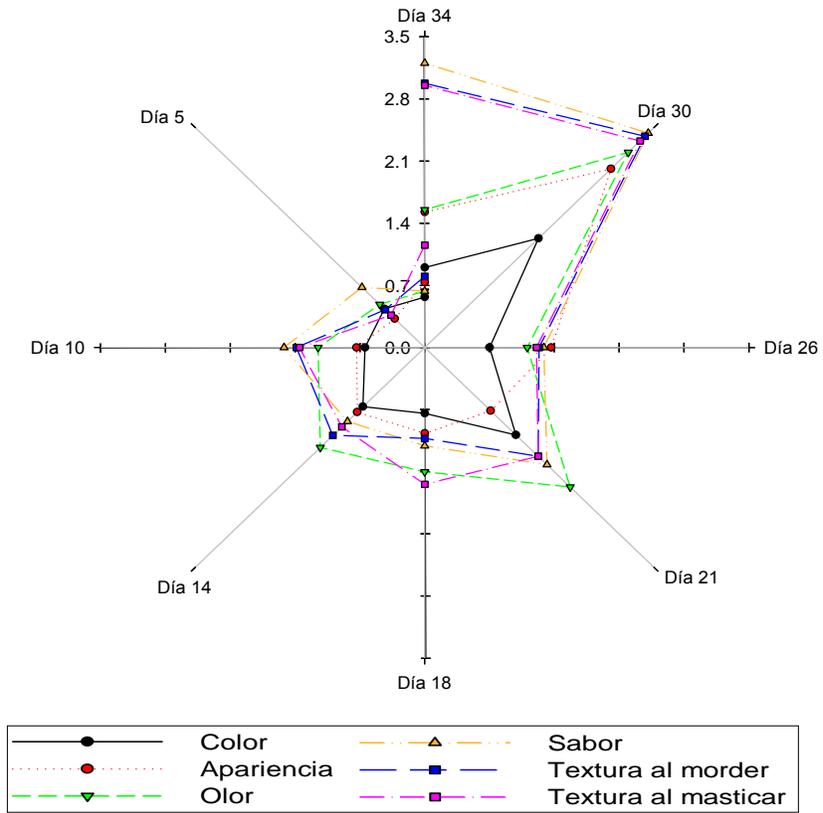
El presente estudio sugiere que buenas prácticas de procesamiento y adecuado almacenamiento en refrigeración contribuyen en gran medida a mantener el rollo de calamar como un producto microbiológicamente apto para consumo humano y de competencia comercial. Sin embargo se recomienda un mayor cuidado y/o proceso de empaque del mismo, pues si bien es cierto que las bacterias ácido lácticas son microorganismos generalmente no patógenos para el consumidor y asociados a contaminación post-proceso, son igualmente microorganismos deteriorativos, cuya presencia (contaje alto) y efectos (cambios de sabor, drenaje de líquido, etc.) tienen repercusiones económicas adversas para la aceptación del producto.

## Evaluación sensorial

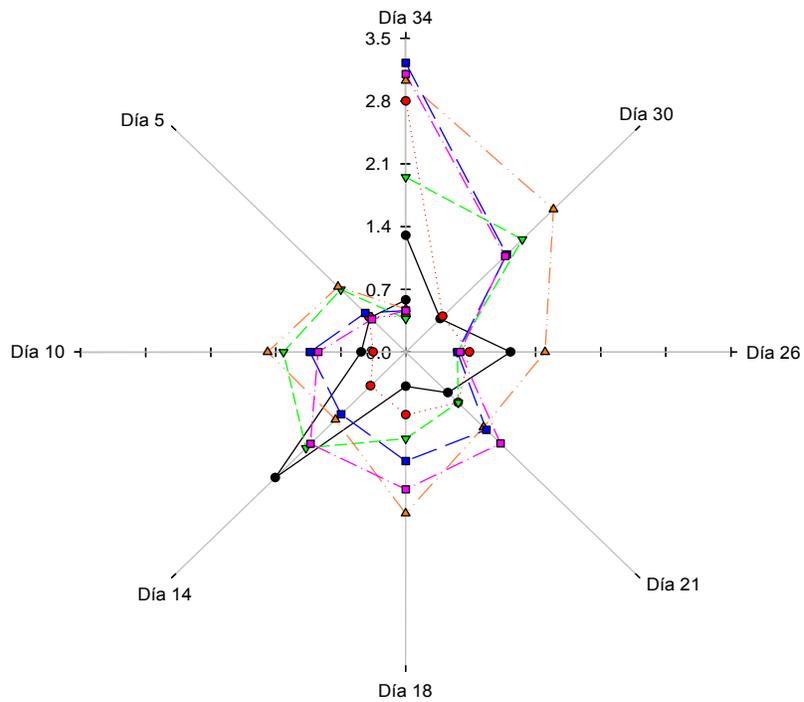
En la Figura 23 se muestran los resultados sensoriales obtenidos de la prueba de diferencias contra una referencia de la misma muestra (día 0) durante el período de almacenamiento. Para determinar las diferencias se consideraron valores de 0-1.75 = sin cambio, de 1.75-3.5 = con cambios de intensidad y valores >3.5 = fuera del rango normal (deterioro). Referente al color, para el tratamiento control los panelistas reportaron valores que cayeron en un rango de 0-1.75 (sin cambio) durante los primeros 26 días de almacenado el producto; sin embargo, al día 30, la diferencia observada fue mayor ( $p \leq 0.05$ ) presentándose un aumento en la intensidad del color colocándolo en el rango de 1.75 a 3.5, especialmente del color amarillo detectado por algunos panelistas. Este resultado concuerda con el cambio en el valor  $b^*$  (amarillo) externo (e interno en menor proporción). Por otro lado, el tratamiento adicionado con fibra presentó diferencias de color menores a 1.75 (sin cambio) durante los primeros y los últimos días de almacenamiento, a excepción del día 14 ( $p \leq 0.05$ ) donde se observó un cambio de intensidad.

En general, la apariencia total de los productos se mantuvo estable durante el período de almacenamiento, observándose solo un cambio de intensidad ( $p \leq 0.05$ ) a los 30 y 34 días para el control y tratamiento, respectivamente. Por otra parte, en esos mismos días, los panelistas detectaron la aparición de un tipo de “baba” externa en la funda del tratamiento control, no así con el tratamiento adicionado con fibra. Respecto al olor de los productos, éstos presentaron olor característico a calamar, acentuándose éste conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento, solo detectándose un aumento de intensidad del olor ( $p \leq 0.05$ ) al día 30 de en ambos tratamientos. Los panelistas comentaron que en el tratamiento control se percibió un olor ácido (no a calamar) mientras que en el tratamiento adicionado con fibra se intensificó el olor a especias. Cabe señalar que el aumento de intensidad de olor fue más marcado para el tratamiento control, obteniendo una diferencia de 3.11 cm con

a)



b)



**Figura 23.** Resultados sensoriales de la prueba de diferencias contra el control durante el periodo de almacenamiento. (a) tratamiento control; (b) tratamiento adicionado con fibra cítrica.

respecto a la referencia ubicándose muy próximo a caer en el rango fuera de lo normal (desagradable).

Referente al sabor, los panelistas detectaron un aumento de intensidad de este atributo al día 21 (1.87) para el tratamiento control; sin embargo, la diferencia fue significativa ( $p \leq 0.05$ ) solo hasta el día 30, presentando un sabor acidificado (3.4) el cual permaneció hasta el final del experimento. Para el tratamiento adicionado con fibra se observó un aumento de intensidad de sabor a los días 18 y 30, pero solo fue hasta el día 34 donde el aumento fue significativo ( $p \leq 0.05$ ). En este tratamiento también se detectó un sabor ácido, remarcándose más al final del experimento. La acidificación del sabor de ambas muestras puede relacionarse con la caída de pH detectada hacia los días finales del experimento, esto por efecto de la presencia de bacterias ácido lácticas (ver sección de microbiología).

En general, las diferencias observadas en la evaluación de textura al morder para ambas muestras cayeron dentro del rango de 0-1.75 (sin cambio) durante los primeros días. En el control se detectaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) al día 30, presentando un valor de 3.36 y una textura más blanda respecto a la referencia. El tratamiento adicionado con fibra, no fue sino hasta el día 34 de almacenamiento cuando se detectó un aumento ( $p \leq 0.05$ ) de intensidad, reportando los panelistas una textura ligeramente más dura que la de la referencia. Cabe señalar que los resultados obtenidos de la evaluación sensorial coinciden en parte con los resultados obtenidos de la evaluación instrumental de esfuerzo al corte, ya que en dicha evaluación, aunque no se detectaron diferencias significativas durante el período evaluado, el valor tendió a aumentar hacia los días finales del experimento; En la textura al masticar, para ambos tratamientos (control y con fibra) los panelistas encontraron diferencias similares a las reportadas para el atributo de textura al morder, esto es, aumento en la intensidad hacia los últimos días de almacenamiento (días 30 y 34), reportando los panelistas una textura más arenosa y la presencia de grumos en algunas muestras.

Recapitulando sobre los resultados obtenidos de la prueba de diferencias contra la referencia, podemos decir que las diferencias observadas para ambos tratamientos durante todo el periodo de almacenamiento cayeron dentro del rango de 1.75-3.5 presentando solo cambios de intensidad en los atributos evaluados. Los atributos que presentaron mayores diferencias respecto a su referencia, con valores de 3 a 3.4, fueron el sabor en ambos tratamientos (siendo más intenso en el control), el olor (detectándose mayor intensidad en el control), y la textura (tanto al morder como al masticar), al igual que los otros parámetros, con mayor intensidad en el control.

## CONCLUSIONES PARCIALES

En general, desde el punto de vista fisicoquímico, el rollo de calamar se mantuvo estable durante el periodo de almacenamiento evaluado. El parámetro fisicoquímico determinante para los 2 tratamientos evaluados fue el pH, mostrando una caída al día 34, asociada a la presencia de bacterias ácido lácticas. El tratamiento control (sin fibra) presentó mayor estabilidad a la oxidación de lípidos obteniendo valores menores de TBARS que el tratamiento con fibra. No obstante, estos resultados deben de ser corroborados con otra determinación. Por otro lado, el color del tratamiento control (sin fibra) mostró mayor cambio que el tratamiento con fibra.

Microbiológicamente el rollo de calamar se mantuvo estable durante el periodo de almacenamiento evaluado. El conteo de bacterias mesófilas y psicrófilas nunca superó los límites máximos permisibles según especificaciones sanitarias nacionales e internacionales, así como también, la presencia de coliformes totales y fecales estuvo en concordancia con las especificaciones de la normatividad mexicana. No se observó la presencia de los microorganismos patógenos evaluados (*Salmonella* ssp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*) durante los 34 días de almacenamiento. Sin embargo, al final del almacenamiento (día 30) se detectó un líquido de drenaje denso asociado con cambios sensoriales (principalmente el sabor) atribuido a la presencia de bacterias ácido lácticas.

Sensorialmente, el rollo de calamar mostró cambios de intensidad en todos los atributos evaluados durante el periodo de almacenamiento. El parámetro sensorial determinante de la vida de anaquel fue el sabor, detectándose una acidificación a partir del día 30, lo cual coincide con la caída del pH y está asociado con bacterias ácido lácticas. El olor fue el segundo atributo sensorial más afectado.

## VII. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

En el presente estudio se observó la viabilidad de elaborar un producto tipo-gel emulsificado (rollo) a partir del músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

La adición de fibra cítrica mejoró la textura del rollo de calamar, así como también algunas propiedades fisicoquímicas y sensoriales del producto elaborado.

Durante el estudio de vida de anaquel tanto el tratamiento control como el tratamiento optimizado con fibra tuvieron la misma duración. No obstante, el tratamiento optimizado con fibra cítrica presentó mejores características fisicoquímicas (CRA, color, textura) y sensoriales (apariencia, color, textura) que el tratamiento control (sin fibra).

Los resultados del presente estudio sugieren que de acuerdo a las condiciones de buenas prácticas de procesamiento y adecuado almacenamiento en refrigeración (2-4°C) utilizadas, el rollo de calamar se considera como un producto microbiológicamente apto para consumo humano y comercial hasta el día 30 de almacenamiento, siendo el parámetro determinante de lo anterior, el crecimiento de bacterias ácido lácticas.

Sin embargo, se recomienda un mayor cuidado y/o proceso de empaque del rollo de calamar, debido a que es en estos pasos del proceso, que el producto puede contaminarse con microorganismos asociados a la contaminación post-proceso (por ejemplo, bacterias ácido lácticas) las cuales son deteriorativas, provocando su presencia efectos negativos como cambios de sabor, drenaje de líquido, etc., las cuales pueden tener repercusiones económicas adversas para la aceptación del producto.

Se recomienda someter al producto a una pasteurización post-empaque para la destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patógenos y cierta proporción de los no patógenos que hayan quedado adheridos en la superficie del producto previo al empaquetado al vacío. La aplicación de este proceso garantizaría la ausencia de bacterias que pueden causar enfermedades en los consumidores y aumentaría la vida útil del producto.

## BIBLIOGRAFÍA

- AACC, International. (2001). The definition of dietary fiber (Report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of AACC International). **46**, 112–126.
- Abdul-Hamid, A. y Luan, Y. S. (2000). Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry*, **68**, 15-19.
- Adams, S. M. (1994). Development of low-fat ground beef patties with extended shelf life. MSc. Thesis College Station. TX, Texas AM University.
- Aleson-Carbonell, L., Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, M. E. y Pérez-Álvarez, J. A. (2002). La fibra dietética en la alimentación. *Alimentación Equipos y Tecnología*, **169**, 83-91.
- Aleson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A. y Kuri, V. (2005). Functional and sensory effects of fibre-rich ingredients on breakfast fresh sausages manufacture. *Food Science and Technology International*, **11**, 89 – 97.
- Álvarez, D., Castillo, M., Payne, F. A., Garrido, M. D., Bañón, S. y Xiong, Y. L. (2007). Prediction of meat emulsion stability using reflection photometry. *Journal of Food Engineering*, **82**, 310-315.
- Allais, I., Christophe, V., Pierre, A. y Dufour, E. (2004). A rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of the texture of meat emulsions and frankfurters. *Meat Science*, **67**, 219–229.
- American Dietetic Association (2008). Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the American Dietetic Association*, **108**, 1716-1731.
- A.O.A.C. Official Methods. (2000). Vol II, 950.46, 928.08, 920.39, 938.08.
- Ayensa, M., Montero, P., Borderías, A. y Hurtado, J. (2002). Influence of some protease inhibitors on gelation of squid muscle. *Journal Food Science*, **67**, 1636-1641.

- Bacteriological Analytical Manual (BAM). (1998). (Edited by R. I. Merker). 8<sup>th</sup> Edition. Revision A, Chapter 3, 4, 9 y 10. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>. (accesado en septiembre 2010).
- Badui, D. S. (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. Pearson Addison Wesley. México.
- Balmaceda, E. A., Kim, M. K., Franzen, R., Mardones, B. y Lugay, J. C. (1984). Protein functionality methodology—Standard tests. En: *Food Protein Chemistry*. (Editado por J. M. Regenstein and C. E. Regenstein). Pp. 278-291. Academic Press: Orlando, FL.
- Bazzino, G., Salinas-Zavala, C. y Markaida, U. (2007). Variabilidad en la estructura poblacional del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en Santa Rosalía, región central del Golfo de California. *Ciencias marinas*, **33**(2), 173-186.
- Beggs, K. L., Bowers, J. A. y Brown, D. (1997). Sensory and Physical Characteristics of Reduced-Fat Turkey Frankfurters with Modified Corn Starch and Water. *Journal of Food Science*, **62** (6), 1240-1244.
- Benjakul, S., Visessanguan, W. y Tanaka, M. (2003). Chitosan affects transglutaminase-induced surimi gelation. *Journal of Food Biochemistry*, **27**(1), 53-66.
- Bertin, C., Rouau, X. y Thibault, J. F. (1988). Structure and properties of sugar beet fibres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **44**, 15-29.
- Bodner, J. M. y Sieg, J. (2009). Fiber. Ingredients in Meat Products. Chapter 4. Properties, Functionality and Applications. R. Tarté. USA, Springer Science. Pp. 82-109.
- Borch, E., Kant-Muermans, M. L. y Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, **33**, 103-120.
- Borderías, A. J. y Montero, P. (1988). Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, **28**, 159.

- Borderías, A. J., Sánchez-Alonso, I. y Pérez-Mateos, M. (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Food Science and Technology*, **16**, 458-465.
- Borderías, A. J., Montero, P. y Marti de Castro, M. A. (1996). Gelling of hake (*Merluccius australis*) sawdust. *Food Science and Technology International*, **2**(5), 293–299.
- Bourne, M. C. (2002). *Food texture and viscosity: Concept and measurement*. Geneva, New York, U.S.A., Ed Academic press. Pp. 183-185.
- Boye, J. I., Ma, C. Y. y Harwalkar, V.R. (1997). Thermal denaturation and coagulation of proteins. In: *Food proteins and their applications*. (Editado por: Damodaran, S. and Paraf, A.). Pp. 25-56. New York, USA: Editorial Marcel Dekker, Inc.
- Bradford, D. D., Huffman, D. L., Egbert, W. R. y Jones, W. R. (1993). Low-fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. *Journal of Food Science*, **58**, 488-491.
- Brewer, M. S., Mckeith, F., Martin, S. E., Dallmier, A. W. y Meyer, J. (1991). Sodium Lactate Effects on Shelf-Life, Sensory, and Physical Characteristics of Fresh Pork Sausage. *Journal of Food Science*, **56** (5), 1176-1178.
- Camou, J. P., Sebranek, J. G. y Olson, D. G. (1989). Effect of heating rate and protein concentration on gel strength and water loss of muscle protein gels. *Journal of Food Science*, **54**, 850-854.
- Candogan, K. y Kolsarici, N. (2003). Storage stability of low-fat beef frankfurters formulated with carrageenan or carrageenan with pectin. *Meat Science*, **64**, 207-214.
- Caprez, A., Arrigoni, E., Amado, R. y Neukom, H. (1986). Influence of different type of thermal treatment on the chemical composition and physical properties of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, **4**, 233–239.
- Carballo, J., Fernández, P., Barreto, G., Solas, M. T. y Jiménez-Colmenero, F. (1996). Characteristics of high- and low-fat bologna sausages as affected by final internal cooking temperature and chilling storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **72**, 40-48.

- Cardoso, C., Mendes, R. y Nunes, M. L. (2008). Development of a healthy low-fat fish sausage containing dietary fibre. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**, 276-283.
- Cardoso, C., Mendes, R., Pedro, S. y Nunes, M. L. (2010). Quality Changes During Storage of Fish Sausages Containing Dietary Fiber. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **17** (1), 73-95.
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini, D., *et al.* (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by de use of starter cultures. *Meat Science*, **76**, 295-307.
- Cassens, R. G. (1994). La estructura del músculo. En: *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. (Editor James F. Price). Pp. 11-55. Editorial Acribia. 2ª edición. Zaragoza, España.
- Cavestany, M., Jiménez-Colmenero, F. y Solas, M. T. (1994). Incorporation of sardine surimi in bologna sausages containing different fat levels. *Meat Science*, **38**, 27-37.
- Cheng, C. S., Hamann, D. D. y Webb, N. B. (1979). Effects of species and storage time on minced fish gel texture. *Journal of Food Science*, **44** (4),1087.
- Chenoll, E., Macian, M. C., Elizaquivel, P. y Aznar, R. (2007). Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: population analysis by rDNA-based methods. *Journal of Applied Microbiology*, **102**(2), 498–508.
- Chordash, R. A. y Potter, N. N. (1972). Effects of dehydration through the intermediate moisture rengo on water activity, microbial growth, and texture of selected foods. *Journal Milk Food Technology*, **35**, 395-398. Citado en: Water Activity and Food. (1978). *Food Science and Technology*. (Editado por: John A. Troller y J.H.B. Christian). Academic Press. New York, San Francisco London.
- Chuapoehuk, P., Raksakulthay, N. y Worawattanamateekul, W. (2001). Process development of fish sausage. *International Journal of Food Properties*, **4**, 523-529.

- Cierach, M., Modzelewska-Kapitula, M. y Szacilo, K. (2009). The influence of carrageenan on the properties of low-fat frankfurters. *Meat Science*, **82**, 295-299.
- Clark, A. H. y Lee-Tuffuell, D. (1986). *Gelation of Globular Proteins*. New York, Elsevier Applied Science Publishers.
- Claus, J. R. y Hunt, M. C. (1991). Low-fat, high added water bologna formulated with texture-modifying ingredients. *Journal of Food Science*, **56**(3), 643-657.
- Claus, J. R., Colby, J. W. y Flick, G. J. (1994). Processed meats/poultry/seafood. En: *Muscle foods*. (Editado por: D. M. Kinsman, A. W. Kotula and B. C. Breidenstein). P. 106. New York, Chapman and Hall.
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M.T., Carballo, J. y Jiménez-Colmenero, F. (2004). Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size. *European Food Research and Technology*, **218**(3), 230-236.
- Cofrades, S., López-López, I., Solas, M. T., Bravo, L. y Jiménez-Colmenero, F. (2008). Influence of different types and proportions of added edible seaweeds on characteristics of low-salt gel/emulsion meat systems. *Meat Science*, **79**(4), 767-776.
- Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos ICMSF (1988). *Microorganisms in Foods 2: Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications*. 2nd Ed. Toronto: University of Toronto Press.
- CONAPESCA, (Comision Nacional de Acuacultura y Pesca). (2000). Anuario estadístico de pesca. Producción Pesquera y Acuícola. México, SAGARPA.
- CONAPESCA, (Comision Nacional de Acuacultura y Pesca). (2001). Anuario estadístico de pesca. Producción Pesquera y Acuícola. México, SAGARPA.
- CONAPESCA, (Comision Nacional de Acuacultura y Pesca). (2003). Anuario estadístico de pesca. Producción Pesquera y Acuícola. México, SAGARPA.
- CONAPESCA, (Comision Nacional de Acuacultura y Pesca). (2008). Anuario estadístico de pesca. Producción Pesquera y Acuícola. México, SAGARPA.

- Córdova-Murueta, J.H. y García-Carreño, F.L. (2002). Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture*, **210**, 371-384.
- Cortés-Ruíz, J. A. (2008). Obtención de un concentrado proteico funcional a partir de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y estudio fisicoquímico de las proteínas recuperadas. Tesis doctoral de la CTAOA. CIAD, A.C. Hermosillo Sonora. Pág. 177.
- Cortés-Ruiz, J. A., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E., Carvallo-Ruiz, M. G. y García-Sánchez, G. (2008). Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation. *Food Chemistry*, **110**, 486-492.
- De Moor, H. y Huyghebaert, A. (1983). In: *Physico-Chemical Aspects of dehydrated Protein-Rich Milk Products*. Proc. IDF Symposium, Helsingør, p. 276.
- Ehara, T., Nakagawa, K., Tamiya, T., Noguchi, S. F., y Tsuchiya, T. (2004). Effect of paramiosin on invertebrate natural actomyosin gel formation. *Fisheries Science*, **70**, 306-313.
- Ehrhardt, N. M., Jacquemin, P. S., González, G., Ulloa, P., García, F., Ortiz, J. y Solís, A. (1982). Descripción de la pesquería de calamar gigante *Dosidicus gigas* durante 1980 en el Golfo de California. Flota y poder de pesca. *Ciencia Pesquera*, **3**, 41-60.
- Eim, V. S., Simal, S., Rosselló, C. y Femenia, A. (2008). Effects of addition of carrot dietary fibre on the ripening process of a dry fermented sausage (sobrassada). *Meat Science*, **80**, 173-182.
- Elson, E., Burgess, F., Little, C. L. y Mitchell, R. T. (2004). Microbiological examination of ready-to-eat cold sliced meats and *pâté* from catering and retail premises in the UK. *Journal of Applied Microbiology*, **96**, 499-509.
- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O, Blecker, C., Deroanne, C. Drira, N.-E. y Attia, H. (2008). Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food Chemistry*, **111**, 676-682.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., Dietary fibre

and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review, *Food Chemistry* (2010), doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.077

Ezquerria-Brauer, J. F., Haard, N. F., Ramírez-Olivas, R., Olivas-Burrola, H. y Velásquez-Sánchez C. J. (2002). Influence of Harvest Season on the Protoelytic Activity of Hepatopancreas and Mantle Tissues from Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*). *Journal of Food Biochemistry*, **26**, 459-475.

FAO (1995). Disponible en: <http://app.fao.org/default.com> (fecha de acceso febrero 2009).

Farouk, M. M., Hall, W. K. y Swan, J. E. (2000). Attributes of beef sausage batter, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods*, **11**, 197–212.

Félix-Armenta, A. (2006). Elaboración y evaluación de vida de anaquel de salchichas tipo frankfurter a partir de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Tesis de licenciatura. Los Mochis, Sinaloa, INSTITUTO TECNOLÓGICO DE LOS MOCHIS.

Félix-Armenta, A., Ramírez-Suárez, J. C., Pacheco-Aguilar, R., Diaz-Cinco, M. E. y Cumplido-Barbeitia, L. G. (2009). Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle muscle gelled-emulsified type product: formulation, processing and physicochemical characteristics. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**, 1517-1524.

Fenemma, O. R. (1996). *Food Chemistry*. Third Edition. Pp. 366-400. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.

Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E. y Pérez-Álvarez, J. (2005). Meat Products as Functional Foods - A Review. *Journal of Food Science*, **70**(2), R37-R43.

Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Álvarez, J. A. (2003). Effect of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, **68** (2), 710-715.

- Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A. y Aranda-Catalá, V. (2000). Effect of mincing degree on colour properties in pork meat. *Color Research Application*, **25**, 376–380.
- Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Sayas-Barberá, E. y López-Santoveña, F. (2002). Effect of Paprika (*Capsicum annum*) on Color of Spanish-type Sausages During the Resting Stage. *Journal of Food Science*, **67**, 2410–2414.
- Fernández-López J., Fernández-Ginés J. M., Aleson-Carbonell, L., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Álvarez, J. A. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 176-185.
- Fernández-López, J., Sayas-Barberá, M. E., Navarro, E., Sendra, E. y Pérez-Álvarez, J. A. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application on cooked meat balls. *Meat Science*, **69**, 371-380.
- Fernández-López, J., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C. y Pérez-Álvarez, J. A. (2007). Orange fibre as potential functional ingredient for dry-cured sausages. *European Food Research Technology*, **226**, 1-6.
- Fiberstar. (2010). Fiberstar Spins Off of R&D Business Unit and Plans to Invest USD \$12 Million (BRL 20.8 Million) to Triple Production Capacity in Brazil. Disponible en: <http://www.marketwire.com/press-release/Fiberstar-Spins-Off-RD-Business-Unit-Plans-Invest-USD-12-Million-BRL-208-Million-Triple-1317830.htm>. Fecha de acceso, septiembre 2010.
- Fleury, N. y Lahaye, M. (1991). Chemical and physico-chemical characterisation of fibres from *Lamiaria digitata* (Kombu Breton): a physiological approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **55**, 389-400.
- Flores, J. y Bermell, S. (1986). Capacidad de gelificación de las proteínas miofibrilares. *Revista Agroquímica de Tecnología Alimentaria*, **26**(3), 318-323.
- Flores, J. y Bermell, S. (1984). Propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares: capacidad de retención de agua. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, **24**(2), 151-158.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. (2001). Dietary reference intakes. Proposed definition of dietary fiber. A report of the panel on the definition of

- dietary fiber and the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. Washington, D.C.: National Academy Press.
- Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. D. Judge, M. D. y Merkelm, R.A. (1978). Fundamentos de la ciencia de la carne. Editorial Acribia. España.
- Franz, A. y Holy, A. (1996). Thermotolerance of meat spoilage lactic acid bacteria and their inactivation in vacuum packaged Vienna sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **29**, 59-73.
- Galaviz-Lerma, F. D. (2000). Desarrollo y optimización de salchichas de avestruz. Tesis de licenciatura. UNISON. CIAD, AC. Hermosillo, Sonora.
- Gallaher, D. y Schneeman, B. O. (2003). Fibra alimentaria. En: *Conocimientos actuales sobre nutrición Organización Panamericana de la Salud*. (B. Bowman y R. Russel). *Publicación Técnica No 592*.
- García, M. L., Cáceres, E. y Selgas, D. (2007). Utilisation of fruit fibres in conventional and reduced-fat cooked-meat sausages. *Journal of the Science of Food Agriculture*, **87**, 624-631.
- Geun, P. H., Sung, L. y Sang, G. M. (2004). Effects of substituted level of added water for fat on the quality characteristics of spreadable liver sausage. *Food Science and Biotechnology*, **13**(4), 397-402. Citado en: Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. y Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control*, **21**, 436-443.
- Gilly, W. F. (2006). Horizontal and vertical migrations of *Dosidicus gigas* in the Gulf of California revealed by electronic tagging. In: *The role of squid in open ocean ecosystems. Marine Ecology Progress Series*, **324**, 1-17.
- Goldberg, I. (1994). Introduction Functional Foods. Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals. London, Chapman Hall. Pp. 3-16.
- Gómez-Guillén, M. C., Solas, T., Borderías, J. y Montero, P. (1996). Effect of heating temperature and sodium chloride concentration on ultrastructure and texture of gels made from giant squid (*Dosidicus gigas*) with addtiton of starch, i-carragenan and egg white. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **202**, 221-227.

- Gómez-Guillén, M. C., Borderías, A. J. y Montero, P. (1997). Salt, nonmuscle proteins, and hydrocolloids affecting rigidity changes during gelation of giant squid (*Dosidicus gigas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 616–621.
- Gómez-Guillén, M. C. y Montero, P. (1997). Improving of giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle gelation by using gelling ingredients. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **204**, 379–384.
- Gøtterup, J., Olsen, K., Knøchel, S., Tjener, K., Stahnke, L. H. y Møller, J. K. S. (2008). Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Science*, **78**(4), 492-501.
- Grigelmo, N., Monico, A. y Martín, O. (1997). Quality aspects of reduced-calories and high fruit dietary fiber muffins. In: *Book of Abstracts IFT Annual Meeting*. Orlando, FL. (Com 23E-14).
- Grigelmo-Miguel, N., Gorinstein, S. y Martín-Belloso, O. (1999). Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food chemistry*, **65**, 175–181.
- Halling, P. J. (1981). Protein-stabilized foams and emulsions. CRA. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **15**(2), 155.
- Hamm, R. (1960). Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food and Nutrition Research*, **10**, 355.
- Hamm, R. (1972). *Kolloidchemie des Fleisches*. Das Wasserbindungsvermögen des Muskeleiweißes in Theorie und Praxis. 275 Seiten. (Paul-Parey-Verlag, Berlin und Hamburg). Preis, 78,-DM.
- Hamm, R. (1981). Post-mortem changes in muscle affecting the quality of comminuted meat products. En: *Developments in Meat Science 2*. (Editado por: R. Lawrie). Pp. 93-124. London New Jersey, Applied Science Publishers.
- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. En: *Muscle as Food*. (Editado por: P.J. Bechtel). P. 135. *Food*

*Science and Technology, a series of monographs.* Academic Press INC. Orlando, Florida.

- Hardy, R. (1980). Fish Lipids. En: *Advances in fish and technology*. (Ed. J. J. Connell). P. 103. Fishing news books LTD.
- Herrero, A. M., Ordóñez, J. A., Romero de Ávila, M. D., Herranz, B., de la Hoz, L. y Cambero, M. I. (2007). Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with Texture Profile Analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat Science*, **77**, 331–338.
- Hermansson, A. M. (1978). Physico-chemical aspects of soy proteins structure formation. *Journal of Texture Studies*, **9**, 33-58.
- Hill, S. E. (1996). Emulsions. *Methods of testing protein functionality*. G. M. Hall. London, Blackie Academic Professional. P. 266.
- Honikel, K. O., Kim, C. J., Hamm, R. y Roncales, P. (1986). Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, **16**, 267–282.
- Hughes, E., Cofrades, S. y Troy, D. J. (1996). Effect of Fat Level, Oat Fibre and Carrageenan on Frankfurters Formulated with 5, 12 and 30% Fat. *Meat Science*, **45** (3), 273-281.
- Hultin, H. O. y Kelleher, S. D. (1999). Process for isolation a protein composition from a muscle source and protein composition. Advanced Protein Technologies, Inc. (Rockport, MA). United States. Patent Number 6005073.
- Hunt, M. C., Acton, J. C., Benedict, R. C., Calkins, C. R., Cornforth, D. P., Jeremiah, L. E., Olson, D. P., Salm, C. P., Savell, J. W., y Shivas, S. D. (1991). Guidelines for meat color evaluation. Chicago: American Meat Science Association and National Live Stock and Meat Board.
- Iguchi, S. M. M., Tsuchiya, T., Matsumoto, J. J. (1981). Studies on the freeze denaturation of squid actomyosin. *Bull Japanese Society Scientific Fisheries*, **47**, 1499-506.
- ITAM. (2008). Programa Maestro Nacional: Calamar gigante. Centro de estudios de competitividad. p. 210. México.

- Izquierdo, P., García, A., Allara, M., Rojas, E., Torres, G. y González, P. (2007). Proximate Analysis, Microbiological and Sensorial Evaluation of Sausages Elaborated With Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). *Revista Científica FCV-LUZ*, **17** (3), 294-300.
- Jaya, S. y Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, **63**(2), 125-134.
- Jiang, S. T., Ho, M. L. y Lee, T. C. (1985). Optimization of the freezing conditions on mackerel and amberfish for manufacturing minced fish. *Journal of Food Science*, **50**, 727-732.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. y Solas, M. T. (1995). The effect of use of freeze thawed pork on the properties of bologna sausages with two fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, **30**, 335-345.
- Jiménez-Colmenero, F., Barreto, F., Fernández, P. y Carballo, J. (1996). Frozen storage of bologna sausage as a function of fat content and levels of added starch and egg white. *Meta Science*, **42**(3), 325-332.
- Jiménez-Colmenero, F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products- Review. *Food Science and Technology*, **11**, 56-66.
- Jiménez-Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S. y Carballo, J. (2003). Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, **65**, 1391-1397.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Pintado, T. y Solas, M. T. (2010). Technological and sensory characteristics of reduced/low-fat, low-salt frankfurters as affected by the addition of konjac and seaweed. *Meat Science*, **84**, 356-363.
- Jiménez-Escrig, A., y Sánchez-Muñiz, F. J. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, **20**, 585-598.
- Jones, K. W. y Mandigo, R. W. (1982). Effects of chopping temperature on the microstructure of meat emulsions. *Journal of Food Science*, **47**, 1930-1935.

- Kaferstein, F. K. y Clugston, G. A. (1995). Human health problems related to meat production and consumption. *Fleisch Technology*, **75**, 889-92.
- Kantha, S. S., Watabe, S. y Hashimoto, K. (1990). Comparative biochemistry of paramyosin—a review. *Journal of Food Biochemistry*, **14**(1), 61–88.
- Keokamnerd, T., Acton, J. C., Han, I.Y. y Dawson, P. L. (2008). Effect of Commercial Rosemary Oleoresin Preparations on Ground Chicken Thigh Meat Quality Packaged in a High-Oxygen Atmosphere. *Poultry Science*, **87**, 170-179.
- Kijowski, J. (2001). Muscle proteins. Chemical and functional properties of food proteins. Z. E. Zikorski. Pennsylvania, USA, Technomic Publishing Company: 233-269.
- Kinsella, J. E. (1984). Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **21**(3), 197-262.
- Klett, T. A. (1996). Pesquería del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. México, CIB-CICIMAR-UABCS: 127-149.
- Kolodziejaska, I., Sikorski, Z. E. y Sadowska, M. (1987). Texture of cooked mantle of squid *Illex argentinus* as influence by specimen characteristics and treatments. *Journal of Food Science*, **52**, 932-935.
- Konieczko, E. (1979). Handbook for meat chemists. Avery Pub. Co. New Jersey, USA. Pp. 92-94.
- Konno, K. y Fukazawa, C. (1993). Autolysis of Squid Mantle Muscle Protein as Affected by Storage Conditions and Inhibitors. *Journal of Food Science*, **58**, 1198-1202.
- Konno, K., Young-Je, C., Yoshioka, T., Shinho, P. y Seki, N. (2003). Thermal denaturation and autolysis profiles of miofibrillar proteins of mantle muscle of jumbo squid *Dosidicus gigas*. *Fisheries Science*, **69**, 204-209.
- Korkeala, H., Alanko, T., Mäkelä, P. y Lindroth, S. (1990). Lactic acid and pH as indicators of spoilage for vacuum-packed cooked ring sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **10**(3-4), 245-253.

- Korkeala, H. J. y Björkroth, K. J. (1997). Microbiological spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages. *Journal of Food Protection*, **60**, 724-731.
- Kraft, A. A. (1992). *Psychotropic bacteria in foods, disease and spoilage*. Chapter 5. CRC Press Inc. Boca Raton, FL.
- Kudo, G., Okada, M. y Miyaguchi, D. (1973). Gel-forming capacity of washed and unwashed flesh from some pacific coast species of fish. *Marine Fisheries Review*, **35**(12), 10-15.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685.
- Larrauri, J. A. (1999). New Approaches in the Preparation of High Dietary Fibre Powders From Fruit By-Products. *Trends in Food Science and Technology*, **10**, 3-8.
- Lin, K. W. y Chao, J. Y. (1998). Quality characteristics of reduced fat Chinese-style sausage as related chitosan's molecular weight. *Meat Science*, **59**(4), 343-351.
- Lindahl, G., Lundström, K. y Tornberg, E. (2001). Contribution of pigmen content, myoglobin forms and internal reflectance to the lighness of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, **59**, 141-151
- Llanto, M. G., Bullens, C. W., Mdlisaewski, J. y Bushway, A. D. (1990). 34th Atlantic Fisheries Technological Conference and Seafood Biotechnology Workshop. VI: 305.
- López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M. y Montero, P. (2005). A functional chitosan-enriched fish sausage treated by high pressure. *Journal of Food Science*, **70**, 166–171.
- Luna-Raya, M. C., Urciaga-García J. I., Salinas-Zavala, C. A., Cisneros-Mata, M. Á. y Beltrán-Morales, L. F. (2006). Diagnostico del consumidor de calamar gigante en México y en Sonora. *Economía, Sociedad y Territorio*, **6**(22), 11-29.
- Lundberg, B. (2005). Using higly expanded citrus fiber to improve the quality and nutricional properties of foods. *Cereal Food World*, **5** (50), 248-251.

- Lyhs, U. (2002). Lactic acid bacteria associated with the spoilage of fish products. Academic Dissertation. Department of Food and Environmental Hygiene. Faculty of Veterinary Medicine. University of Helsinki. Helsinki, Finland.
- Magdaleno-Padilla, J. y Valdez-Salazar, R. B. (1994). Elaboración de bolonia a partir de músculo de tilapia (*Tilapia sp*) y evaluación de vida de anaquel. Tesis de Licenciatura. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.
- Man, C. M. D y Jones, A. A. (1994). Shelf Life Evaluation of Foods. An Aspen publication. Food Science Book. New York. A Chapman Hall.
- Mann, J. I. y Cummings, J. H. (2009). Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. Nutrition. *Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **19**, 226-229.
- Marín, F. R., Pérez-Álvarez, J. A., Martínez-Sánchez, F. y Del Rio, J. A. (2002). Flavonoids as nutraceuticals; structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. En: *Studies in natural products chemistry*. (R. Atta-Ur). Elsevier, **26**, 741-778. Amsterdam.
- Markaida, U. y Sosa-Nishizaki, O. (2001). Reproductive Biology of Jumbo Squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, 1995-1997. *Fishery Research*, **54**(1), 63-82.
- Markaida, U. y Sosa-Nishizaki, O. (2003). Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **83**, 507-522.
- Martin, T. (1992). Surimi products. A review. In: *Advances in seafood biochemistry, composition and quality*. (Eds. J. George, J. Flick, y R.E. Martin). Pp. 377-391. Lancaster, PA. USA: Technomic Publishing Co. Inc.
- Martín y González. (1984). En: *Aprovechamiento de los productos pesqueros*. (Editado por: Eduardo Durazo Beltran). Mexicali, Baja California. Universidad Autónoma de Baja California.
- Mattil, K.F. (1974). Composition, nutritional, and functional properties, and quality criteria of soy protein concentrates and soy protein isolates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **51**, 81A-84A. En: Developments in Food

Proteins - 5. (Editado por Hudson B.J.F). Elsevier Applied Science Publishers LTD 1987.

Matsumoto, J. J. (1958). Some aspects on the water-soluble proteins of squid muscle. *Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, **20**, 65-75.

Mc Donald, R. E. y Hulting, H. O. (1987). Some characteristics of the enzymatic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *Journal of Food Science*, **52**, 15.

Meilgaard, M., Civille, G. V. y Carr, B. T. (1987). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, INC. 2da. edición. Boca Raton, Florida. Pp. 67-77.

Mittal, G. S. (2005). Meat in emulsion type sausages – An overview. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, **2**(3), 101-108.

Montejano, J. G., Hamann, D. D. y Lanier, T. C. (1984). Thermally induced gelation of selected comminuted muscle systems rheological changes during processing, final strengths and microstructure. *Journal of Food Science*, **49**, 1496.

Montero, P. y Gómez-Guillén, M. C. (1996). Thermal aggregation of sardine muscle proteins during processing. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, **44**, 3625-3630.

Montero, P. y Borderías, J. A. (1999). Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **52**, 141-170.

Montero, P., Hurtado, J. L. y Pérez-Mateos, M. (2000). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, **14**(5), 455–461.

Montgomery, D. C. (1991). *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo Editorial Iberoamericano. México.

Nagy, S. y Attaway, J. A. (1992). Anticarcinogenic activity of phytochemicals in citrus fruit and their juice products. *Florida State Horticultural Society*, **105**, 162-168.

Nair, B. M., Asp, N. G., Nyman, M. y Persson, H. (1987). Binding of mineral elements by some dietary fibre components-in vitro (I). *Food Chemistry*, **23**(4), 295–303.

- Nishimoto, J., Suwetja, I. K. y Miki, H. (1985). Estimation of keeping freshness period and practical storage life of makarel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University*, **34**(1), 89.
- Nigmatullin, C. M., Nesis K. N. y Arkhipkin A. I. (2001). A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda:Ommastrephidae). *Fisheries Research*, **54**, 9-19.
- NMX-F-065-1984. Alimentos. Salchichas. Especificaciones. Foods. Sausage. Specifications. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NOM-029-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Crustáceos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-027-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-031-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
- NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos.
- NOM-115-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- NOM-122-SSA1-1994. Bienes y servicios. Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias.
- NOM-143-SSA1-1995. Bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.

NOM-129-SSA1-1995, Bienes y servicios. Productos de la pesca: secos-salados ahumados, moluscos cefalópodos y gasterópodos frescos-refrigerados y congelados. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

Ofstad, R., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R. L., y Hermansson, A. M. (1995). Liquid-holding capacity and structural changes in comminuted salmon (*Salmo salar*) muscle as influenced by pH, salt and temperature. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **28**(3), 329-339.

Olson, A., Gray, G. M. y Chiu, M. C. (1987). Chemistry and analysis of soluble dietary fibre. *Food Technology*, **41**, 71-80.

Pedrero, D. L. y Pangborn, R.M. (1989). *Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos*. México: Editorial Alambra de C.V.

Pérez, Ch. M. L., Guerrero, L. I. y Ponce, A. E. (2000). Estructura del músculo y conversión en carne. En: *Nuevas tendencias en la tecnología e higiene de la industria cárnica*. (Editado por: Rosmini, M.R., Pérez-Álvarez, J.A. y Fernández-López J.). Pp. 11-21.

Pérez-Mateos, M., Hurtado, J. L., Montero, P., y Fernández-Martín, F. (2001). Interaction of k-carrageenan plus other hydrocolloids in fish myosystem gels. *Journal of Food Science*, **66**(6), 838-843.

Pérez-Mateos, M., Montero, P. y Gómez-Guillén, M. C. (2002). Addition of microbial transglutaminase and protease inhibitors to improve gel properties of frozen squid muscle. *European Food Research and Technology*, **214**, 377-381.

Pomeranz, Y. (1991). Proteins: General. Functional properties of food components. Pp. 149-150. USA: Academic Press, Inc.

Poterkhin, S. A., Trapkov, V. A. y Privalov, P. L. (1979). Stepwise heat denaturation of myosin helical fragments. *Biofizika*, **24**, 45.

Potter, N. (1978). *La Ciencia de los Alimentos*. 2 da. Edición. Editorial Edotex S.A. Pp. 467-470. México, DF.

Pouch-Downes, F. y Ito, K. (2001). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Chapter 45. APHA.

- Pour-El, A. (1981). Functionality and protein structures. *American Chemical Society, Symposium Series 92*, Washington D.C.
- PROFECO (2005). Salchichas. *Revista del Consumidor*. Enero, 2005. Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\\_05/salchicha\\_ene05.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_05/salchicha_ene05.pdf)
- Puupponen-Pimia, R., Aura, A. M. y Oksman-Caldentey, K. M. (2002). Development of functional ingredients for gut health. *Trends of Food Science and Technology*, **13**, 3–11.
- Radin, D., Niebuhr, S. E. y Dickson, J. S. (2007). Spoilage Microflora of Vacuum-packaged Frankfurters and Influence on the Growth of *Listeria monocytogenes*. *Biotechnology in Animal Husbandry*, **23** (5-6), 103-112.
- Ramírez, J. A., Rodríguez-Sosa, R., Morales, O. G. y Vázquez, M. (2000). Surimi gels from striped mullet (*Mugil cephalus*) employing microbial transglutaminase. *Food Chemistry*, **70**, 443-449.
- Ramírez-Suárez, J. C., Ibarra-León, L. R., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E., García-Sánchez, G. y Carvallo-Ruiz, G. (2008). Physicochemical and functional changes in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle muscle during ice storage. *Food Chemistry*, **111**, 586-591.
- Rhee, K. S. (1999). Storage stability of meat products as affected by organic and inorganic additives and functional ingredients. In: *Quality attributes of muscle foods*. (Eds. Xiong Y. L., Ho C.T., Shahidi F.). Pp. 95-113. New York: Plenum Publishing Corp.
- Rocha-Garza, A. E. y Zayas, J. F. (1996). Quality of broiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour. *Journal of Food Science*, **61**, 418-421.
- Rodger, G., Weddle, R. B., Craig, P. y Hastings, R. (1984). Effect of alkaline protease activity on some properties of comminuted squid. *Journal of Food Science*, **49**, 117-123.
- Roland, A. M., Phillips, L. G. y Boor, K. J. (1999). Effects of fat content on the sensory properties, melting, color, and hardness of ice cream. *Journal of Dairy Science*, **82**(1), 32-38.

- Rust, R.E. (1994). Productos embutidos. En: *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. (Editado por: F. J. Price and S. B. Schweigert). Pp. 377-390; 415-439. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Sakai, J. y Matsumoto, J. J. (1981). Proteolytic enzymes of squid mantle muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **68B**, 389-395.
- Salabyj, B., Ramsdell, G., y True, R. (1981). Quality of squid, *Illex illecebrosus*, mantles canned in oil. *Marine Fisheries Review*, **43**, 17-20.
- Salazar-Félix, M. A. (2009). Efecto de la adición de inulina sobre los parámetros de calidad de una salchicha tipo Frankfurt. Tesis de licenciatura. UNISON. Hermosillo, Sonora.
- Salinas-Zavala, C.A. (2003). Alternativas para Fortalecer la Cadena Productiva de la Pesquería de Calamar Gigante (Editado por C. A. Salinas-Zavala, S. Sánchez-Hernández y E. Yuen-Sánchez). Pp. 1-122. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Salinas-Zavala, C. A., Sánchez, H., Aragón, N., Sánchez, V. C., Soria, M., Escoto, G., Moctezuma, C., Camarillo, C., Mejía, R. y Bazzino, F. (2005). Programa maestro de la pesquería de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). *Programa Maestro de Comité Sistema Producto de la Pesquería de Calamar Gigante en el Estado de Sonora*. Pp. 80. México.
- Sánchez-Alonso, I., Solas, M. T. y Borderías, A. J. (2007). Technological implications of addition of wheat dietary fibre to giant squid (*Dosidicus gigas*) surimi gels. *Journal of Food Engineering*, **81**, 404-411.
- Sánchez-Alonso, I. y Borderías, A. J. (2008). Technological effect of red grape antioxidant dietary fibre added to minced fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**, 1009-1018.
- Sanderson, G. R. (1981). Polysaccharides in foods. *Food Technology*, **35**(1), 50-57.
- Sarıoğan, C., Tahsin, M. Y. y Karakaya, M. (2009). Response surface methodology study on the optimization of effects of fat, wheat bran and salt on chemical, textural and sensory properties of patties. *Meat Science*, **83**, 610-619.

- Schmidt, R. (1981). Gelation and coagulation. En: *Protein functionality in foods.*( Editado por: J. P. Cherry). Pp. 131-147. American Chemical Society. Washington, D. C.
- Schut, J. (1976). In: *Food Emulsions.* (Editor S. Friberg). P. 385. Marcel Dekker, New York.
- Seljeskog, E., Hervig, T. y Mansoor, M. A. (2006). A novel HPLC method for the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). A comparison with a commercially available kit. *Clinical Biochemistry*, **39**, 947–954.
- Shweigert, B. S. (1994). Contenido en nutrientes y valor nutritivo de la carne y los subproductos cárnicos. En: *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos.* (Eds. J. F. Price, y B. S. Schweigert). Pp. 249–278. Zaragoza: Editorial Acribia.
- Shen, J. (1981). Solubility and viscosity. Protein Functionality in Foods. J. P. C. Washington, D. C. *American Chemical Society*, 89-109.
- Sikorski, Z. (2001). Functional Properties of Proteins in Food Systems. In: *Chemical and Functional Properties of Food Proteins.*(Edited by: Z.E. Sikorski). Pp. 113-135. Lancaster- Baesl: Technomic, Punlishing Co., Inc.
- Sikorski, Z. y Koodziejska, I. (1986). The Composition and Properties of Squid Meat. *Food Composition Biochemical Physiology*, **20**, 213-224.
- Sim, J., Hood, D., Finnie, L., Wilson, M., Graham, C. y Hudson, J. A. (2002). A series of incidents of *Listeria monocytogenes* non-invasive febrile gastroenteritis involving ready-to-eat meats. *Letters of Applied Microbiology*, **35**, 409-413.
- Stabursvik, E. y Martens, H. (1980). Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Science and Food Agricultural*, **31**, 1034.
- Susuki, T. (1981). Fish and krill protein. *Processing Technology.* London, UK: Applied Science Publishers LTD.
- Swatland, H. J. (1995). On line evaluation meat. Technomic Publishing, Basel, Switzerland.

- Tanikawa, E. (1985). *Marine Products in Japan*. Revised Edition. Koseisha-Koseikaku Company, Tokyo. P. 506.
- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M. y Bourgeois, C. M. (1997). Dietary fibers: nutritional and technological interest. *Trends Food Science Technology*, **8**, 41-48.
- Tompkin, R. B. (2002). Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. *Journal of Food Protection*, **65**, 709-725.
- Tseng, Y. C., Xiong, Y. L., Feng, J., Ramírez-Suárez, J. C., Webster, C. D., Thompson, K. R., y Muzinic, L. A. (2003). Quality changes in Australian red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) subjected to multiple freezing-thawing cycles. *Journal of Food Quality*, **26**, 285-298.
- USDA. (1988). Standard for frankfurters and similar cooked sausages. Fed. Reg. **53**, 8425.
- Varnam, A. H. y Sotherland, J. P. (1998). *Carne y productos cárnicos: Tecnología, química y microbiología*. Editorial Acribia, S.A. Pp. 239-245. Zaragoza, España.
- Vallejo-Córdoba, B., Nakai, S., Powrie, W. D. y Beveridge, T. (1987). Extended shelf-life of frankfurter and fish frankfurter-analog with added soy protein hydrolysates. *Journal of Food Science*, **52** (5), 1133.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. y Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control*, **21**, 436-443.
- Vodjani, F. (1996). Solubility. En: *Methods of Testing Protein Functionality*. (Editado por: G. M. Hall). Ed. Blackie Academic and Profesional, London.
- Wang, B. y Xiong, Y. L. (1998). Evidence of Proteolytic Activity and Its Effect on Gelation of Myofibrillar Protein Concentrate from Bovine Cardiac Muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46** (8), 3054-3059.
- Wierbicki, E., Kunkle L. E. y Deatherage, F. E. (1957). Changes in the waterholding capacity and cationic shifts during the heating and freezing and thawing of meat as revealed by a simple centrifugal method for measuring shrinkage. *Food Technology*, **11**, 69.

- Wong, W. W., Alkarkhi, A. y Mat. A. E. (2009). Optimization of Pectin Extraction from Durian Rind (*Durio zibethinus*) Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, **74**(8), C637-C641.
- Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke. P. J. y Burns B. G. (1986). Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences No. 1448.
- Wright, D. J., Leach, I. B. y Wilding, P. (1977). Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. *Journal Science of Food Agricultural*, **28**, 557-64.
- Xiong, Y. L., Noel, D. C. y Moody, W. G. (1999). Textural and sensory properties of low-fat beef sausages with added water and polysaccharides as affected by pH and salt. *Journal of Food Science*, **64**, 550-554.
- Young, T. L. y Sang, S. K. (2004). Effect of elevated steeping temperature on the starch properties of stored milled rice. *Food Science and Biotechnology*, **13**(3), 332-336.
- Yongsawatdigul, J. y Park, J. W. (2004). Effects of alkali and acid solubilization on gelation characteristics of rockfish muscle proteins. *Journal of Food Science*, **69**, 499-505.
- Zha, X.-Q, Wang, J.-H., Yang, X.-F., Liang, H., Zhao, L.-L. Bao, S.H., Luo, J.-P., Xu, Y.-Y. y Zhou, B. B. (2009). Antioxidant properties of polysaccharide fraction with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran. *Carbohydrate Polymers*, **78**, 570-575.

## ANEXOS

### ANEXO A. Formato utilizado en la evaluación sensorial de la Etapa II.

#### ANÁLISIS SENSORIAL DE ROLLO DE CALAMAR

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Marque con una X la escala que le asigne en cada una de las muestras de acuerdo a la intensidad de percepción. Pruebe galleta y consuma agua antes de probar cada una de ellas.

#### COLOR



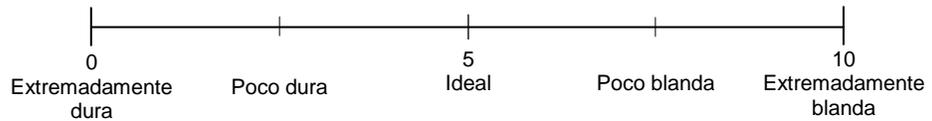
#### APARIENCIA TOTAL



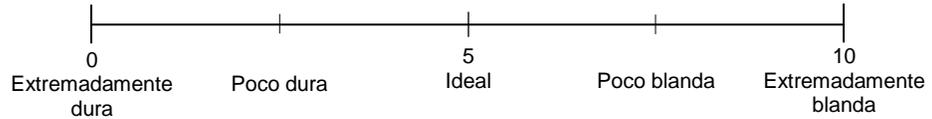
#### SABOR



#### TEXTURA AL MORDER



#### TEXTURA AL MASTICAR



Observaciones y/o comentarios: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

*Gracias por su participación*

ANEXO B. Formato utilizado en la evaluación sensorial de la Etapa III.

ANALISIS SENSORIAL DE ROLLO DE CALAMAR

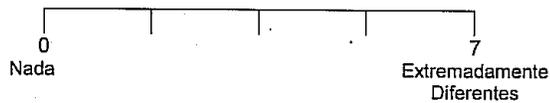
Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ Muestra: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Marque con una X en la escala de acuerdo a la diferencia que exista del atributo con respecto a la muestra control

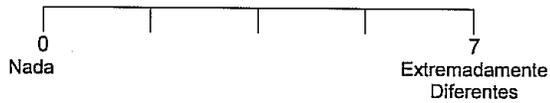
**COLOR**



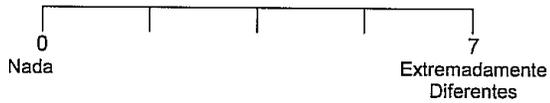
**APARIENCIA**



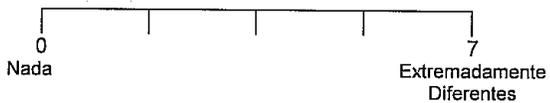
**OLOR**



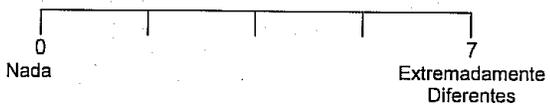
**SABOR**



**TEXTURA AL MORDER**



**TEXTURA AL MASTICAR**



**Observaciones y/o Comentarios** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

*Gracias Por Su Participación*