

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ DE HENARES

FACULTAD DE FARMACIA

GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE SARDINA

(Sardina pilchardus R.)

MEDIANTE ALTAS PRESIONES

TESIS DE LICENCIATURA

Miriam PÉREZ MATEOS

1996

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ DE HENARES

FACULTAD DE FARMACIA

GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE SARDINA

(Sardina pilchardus R.)

MEDIANTE ALTAS PRESIONES

Memoria presentada por Miriam PÉREZ MATEOS

para optar al **Grado de Licenciatura en Farmacia**

bajo la dirección de la Dra. Dña. María Pilar MONTERO GARCÍA

actuando como ponente el Dr. D. Taisir A. MASOUD MUSA

INSTITUTO DEL FRÍO (CSIC)

Madrid, junio 1996

La presente Memoria ha sido realizada en el Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos, y del Pescado y de Productos Derivados de la Pesca del Instituto del Frío (CSIC) y ha sido financiado bajo el proyecto ALI94-0786-C02-01 "Estudio de la aplicación de altas presiones en productos pesqueros, cárnicos, vegetales y lácteos con vista a su mayor conservación o a la obtención de nuevos productos" y con una beca del Programa Nacional de Formación de Personal Investigador de la Dirección General de Investigación Científica y Técnica del Ministerio de Educación y Ciencia.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Dra. Dña. Pilar Montero García por dirigir este trabajo, así como por su apoyo constante durante la realización del mismo.

Al Dr. D. Taisir Masoud Musa, Vicedecano de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá de Henares, mi gratitud por aceptar la ponencia de esta Tesis de Licenciatura y por los consejos recibidos.

Asimismo, deseo expresar un especial reconocimiento al Dr. D. Roberto Xalabarder Coca de SYSTEMS BIO-INDUSTRIES y al Prof. Dr. D. Javier A. Borderías Juárez por su colaboración e interés en la realización de este trabajo.

También quiero agradecer la inestimable ayuda de Dña. Laura Barrios Álvarez, Jefe del Servicio de Estadística e Investigación Operativa del Centro Técnico de Informática del CSIC.

A todo el personal del Instituto del Frío que han contribuido de alguna forma a llevar a término esta Tesina. A los ayudantes de investigación: Mercedes Briones, José Luis Corbí, María Luisa Fernández, Carmen Mata y a todos mis compañeros de laboratorio, en particular a Garbiñe Ayensa.

A mis padres

A mi hermano

I.- INTRODUCCIÓN

España es uno de los primeros países de Europa en cuanto a consumo medio de pescado. Sin embargo, la explotación pesquera en nuestro país se limita a las llamadas especies de prestigio (merluza, lenguado, rape, etc.); mientras que los pescados grasos o azules, de excelente valor nutritivo y precio asequible, resultan mucho menos consumidos.

Por otro lado, han de considerarse los nuevos hábitos en alimentación que demandan cada vez mayor número de productos listos para consumir, de forma que exijan una mínima preparación culinaria y una conservación prolongada. Ejemplos ya tradicionales, se pueden considerar las preparaciones enlatadas cuyo mercado está hoy en día saturado. Este es el caso de la sardina, especie muy abundante en nuestras costas pero con un consumo por debajo de lo que podría considerarse como idóneo. Habitualmente, se destina a su uso en fresco, en conserva, en salazón, en ahumados, y sus excedentes: a la elaboración de harina, aceite de pescado, colas de pescado, comida para animales domésticos o, incluso, su devolución al mar.

Sobre la gelificación térmica de la sardina se han realizado numerosos estudios, pero existen muy pocos en los que se estudie la posibilidad de aplicar la Tecnología de las Altas Presiones (Hayashi, 1989), como proceso alternativo a la gelificación térmica, para obtener productos con nuevas texturas y con un valor añadido de alta calidad. Ko *et al.* (1990), Yamamoto *et al.* (1990) y Chung *et al.* (1994) llevaron a cabo experimentos para mostrar la eficacia de las altas presiones en la gelificación del músculo de pescado, consiguiendo mejorar las características obtenidas por tratamiento térmico.

1.- MÚSCULO PICADO DE SARDINA

Se eligió sardina (*Sardina pilchardus*) por tratarse de una especie infrautilizada, de precio asequible y muy abundante en nuestras costas. Aunque en los últimos años, se esté produciendo una disminución del volumen de captura debida, en parte, a migraciones Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

cíclicas de la sardina y por otro lado, a que los pesqueros dirigen más su captura hacia otras especies. Asimismo, la sardina es una especie que se encuentra infravalorada como consecuencia de su pequeño tamaño, del color del músculo, de la presencia de gran número de espinas y del alto contenido en lípidos (Karmas y Lauber, 1987; Venugopal y Shahidi, 1995). Por todo ello, puede ser adquirida por las industrias procesadoras del pescado, a bajo precio, para su transformación en nuevos productos, lo que supone una importante revalorización de la especie y un aprovechamiento de este recurso natural.

La sardina es una especie pelágica grasa con elevado contenido en músculo rojo. El alto contenido lipídico junto a la presencia de pigmentos, que pueden actuar como prooxidantes, son los responsables del fuerte olor y sabor de este pescado. En comparación con el músculo de las especies magras, presenta mayor contenido de *proteasas* termoestables responsables de la degradación de la actomiosina durante el calentamiento (Shimizu *et al.*, 1992).

La utilización del pescado requiere una manipulación tecnológica adecuada para la obtención del músculo picado (Borderías y Pérez-Mateos, 1996). Primeramente, se procede a eliminar la cabeza y las vísceras, fuente importante de microorganismos y de enzimas proteolíticas que interferirían en la gelificación del músculo. A continuación, se eliminan la piel y las espinas obteniendo el músculo picado que se somete a uno o varios lavados con agua o soluciones acuosas para eliminar proteínas sarcoplásmicas, restos de sangre, pigmentos y grasa que interferirían en el proceso de gelificación. Gracias al lavado y al posterior prensado, se consigue concentrar la proteína miofibrilar. Para prolongar el tiempo de conservación del músculo picado en estado congelado, se añaden crioprotectores que actúan principalmente por tensión superficial y retención de agua. El caso más extremo de procesado de pescado sería aquel en el cual el músculo picado se lava al menos tres veces y se realiza un refinado, denominándose con el término japonés *surimi*.

La tendencia actual es utilizar músculo de pescado picado y lavado ligeramente, que aunque presenta menor capacidad gelificante respecto al *surimi*, produce un mayor rendimiento y una reducción de costes de fabricación, con la ventaja adicional de disminuir el volumen de aguas de lavado vertidas al medio ambiente. En el caso particular de la sardina, la producción de *surimi* no es muy rentable, por su menor rendimiento y cierto

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

grado de coloración frente a el *surimi* de especies magras (Roussel y Cheftel, 1988).

2.- ALTAS PRESIONES EN ALIMENTOS

Como proceso alternativo a la gelificación térmica del músculo picado para la obtención de productos reestructurados, surge la Tecnología de Altas Presiones cuyos mecanismos de acción y efectos necesitan ser ampliamente estudiados antes de su aplicación industrial.

Hasta finales del siglo XIX, la aplicación de las altas presiones estuvo limitada al sector de la metalurgia y la cerámica. Las primeras investigaciones en el sector alimentario, estuvieron encaminadas a incrementar el tiempo de conservación de la leche, del zumo de frutas y de la carne. Actualmente, se encuentra en fase de desarrollo, existiendo ya en Japón (Cheftel, 1995b) y en Francia algunos productos comercializados en los cuales se resalta su elaboración por tratamiento de alta presión, sin adición de conservantes y con un mínimo procesado (Gelé, 1994).

La aplicación de la alta presión en Tecnología de Alimentos está enfocada, principalmente, a la preservación y al procesado de alimentos (Farr, 1990; Johnston, 1992; Ledward, 1994; Galazka y Ledward, 1995), a la destrucción de microorganismos y a la inactivación de enzimas, modificando al mínimo las características organolépticas de la materia prima (Hayashi, 1989; Shimada *et al.*, 1990, Horie *et al.*, 1991; Tamaoka *et al.*, 1991; Philippon y Voldrich, 1994; Knorr *et al.*, 1992).

Existen tres principios en los cuales se basa la aplicación de la presión:

1) El **Principio de Pascal**, según el cual la presión isostática se trasmite instantánea y uniformemente por toda la muestra, independientemente del tamaño y de la forma del producto. Lo cual representa una gran ventaja frente al tratamiento térmico en el que se origina un gradiente de temperatura.

2) El **Principio de Le Chatelier** enuncia que un sistema en equilibrio tiende a minimizar

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

el efecto de cualquier perturbación externa a la cual sea sometido. Según este principio, cualquier fenómeno (cambio de estado, reacción bioquímica, modificación conformacional) que origine una disminución del volumen, se favorece por un aumento de presión, y viceversa (Balny y Masson, 1993).

- 3) Las sustancias bajo presión presentan un comportamiento gobernado por el **Principio de Orden Microscópico**. A temperatura constante, un incremento en la presión origina un aumento en el grado de ordenación del sistema (Heremans, 1992).

Los equipos de alta presión constan básicamente (Fig.1): de una cámara de alta presión, de un circuito de regulación de temperatura y de un sistema generador de presión (bomba hidráulica).

Fig. 1.- Esquema de un equipo de presurización

La muestra se coloca en un envase cerrado y flexible, que permita la transmisión de la presión por medio de un líquido de baja compresibilidad, usualmente agua. Las condiciones de trabajo suelen ser de alrededor de 300-700 MPa, con ciclos medios de 10 a 30 minutos y temperaturas entre 0°/60°C.

Una vez que se alcanza la presión de trabajo, ésta se mantiene constante sin aporte extra

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

de energía durante todo el proceso. Los actuales equipos trabajan en discontinuo con pequeños volúmenes (1-5 litros), lo que supone un inconveniente para su aplicación industrial que requieren procesos de fabricación en continuo; tan sólo existen algunos equipos que trabajan en semicontinuo para muestras bombeables como zumos.

La presión origina modificaciones en los constituyentes del alimento (agua, proteínas, lípidos, vitaminas, etc.) que influyen directamente sobre las propiedades funcionales del producto (Heremans, 1982; Borderías, 1995).

Cheftel (1992, 1995a) realizó una clasificación de las principales posibilidades de aplicación de las altas presiones en el área de la Tecnología de Alimentos y otros autores como Balny *et al.* (1992) en el campo farmacológico, de la biotecnología y de la química.

A continuación, se van a exponer los puntos más relacionados con la fabricación y conservación de productos reestructurados.

2.1.- Modificación del punto de fusión

Con el aumento de presión se produce una disminución del volumen de agua, a 100 MPa se comprime alrededor del 4% y a 600 MPa, aproximadamente, un 15% (Morild, 1981). Al reducirse el volumen, se incrementa la densidad del agua, originándose una disminución del coeficiente de difusión de los solutos y, consecuentemente, una ralentización de la velocidad de las reacciones, pudiéndose utilizar las altas presiones como método de conservación de alimentos.

Por otra parte, el cambio de estado del agua depende en gran parte de la presión, así por ejemplo, a 200 MPa el punto de congelación disminuye a -22°C (Bridgmann, 1912).

Basándose en esta modificación físico-química, son varias las aplicaciones potenciales en el campo de Tecnología de Alimentos, como por ejemplo: la congelación y descongelación rápida de alimentos, y su conservación en estado no congelado a temperaturas bajo cero (Kalichevsky *et al.*, 1995).

Igualmente, se modifica reversiblemente el punto de fusión de los triglicéridos; de tal forma, que lípidos líquidos a temperatura ambiente cristalizan por el efecto de la alta presión (Winter, 1995).

2.1.1.- Congelación bajo presión

Kanda *et al.* (1992) observaron la formación de cristales pequeños y granulares tras la congelación mediante altas presiones (200 MPa, -18°C) del gel de soja (*Soybean curd*). La muestra presentó una estructura homogénea muy similar a la del producto inicial tras su descongelación a temperatura y presión ambiente.

Unas de las aplicaciones específicas de la congelación mediante alta presión podría ser la criofijación de muestras para microscopía electrónica (Moor, 1987; Lüdemann, 1992).

2.1.2.- Descongelación bajo presión

El uso de la presión facilita la descongelación rápida y homogénea de la muestra (Takai *et al.*, 1991). Algunos autores observaron una reducción de la exudación de agua tras la descongelación de carne de buey (Deuchi y Hayashi, 1991, 1992), de atún (Murakami *et al.*, 1992, 1994) y de carpa (Yoshioka *et al.*, 1995).

Es fundamental optimizar las condiciones de descongelación para evitar la decoloración del músculo picado de pescado y la desnaturalización de la proteína (Takai *et al.*, 1991) que darían lugar a una opacidad similar a la provocada por un ligero cocinado (Cheftel, 1991). La presión requerida para la descongelación es menor si la muestra contiene azúcar y sal (Deuchi y Hayashi, 1991).

2.1.3.- Conservación a temperaturas bajo cero sin congelación

La utilización de presiones moderadas a temperaturas bajo cero permite mejorar la conservación de las características organolépticas de los alimentos, evitando las alteraciones microbianas y los daños originados por la cristalización.

Ooide *et al* (1994) llevaron a cabo estudios de conservación de músculo de pollo a -8°C y de carpa a -15°C , bajo presiones de 170 MPa logrando preservar, en estas condiciones la textura durante 50 días sin apenas desnaturalización proteica.

Deuchi y Hayashi (1991, 1992) encontraron que tras la descongelación de carne de cerdo conservado a -20°C con presiones de 200 MPa disminuía la pérdida de agua, y en carne de buey, se inhibía la actividad enzimática y microbiana.

Una aplicación importante en el sector pesquero es la obtención de productos reestructurados sin necesidad de descongelar la materia prima. Para ello, se somete al músculo picado y/o trozos de filetes a descongelación bajo el efecto de la presión, lo cual permite mantener durante todo el proceso temperaturas bajo cero. En estas condiciones, se moldea la muestra y se recongela al volver a presión atmosférica (Cheftel, 1992).

2.2.- Efecto sobre los microorganismos

La resistencia de los microorganismos al efecto de la alta presión es muy variable, no siempre se consigue su destrucción, sino que a veces sólo se inactivan pudiéndose reactivar al volver a presión atmosférica (ZoBell, 1970; Miyao *et al.*, 1993; Watanabe y Arai, 1994; Rovere y Maggi, 1995).

Las bacterias en su forma vegetativa y los hongos muestran gran sensibilidad al efecto de la presión. En cambio las esporas son muy resistentes a la presión, pudiendo llegar a sobrevivir a presiones de hasta 1000 MPa (Gould, 1995) y los virus, extremadamente resistentes (Butz *et al.*, 1992; Cheftel, 1992, 1995b). Las bacterias termorresistentes son también las especies menos sensibles a la presión (Ludwing *et al.*, 1992; Shimada, 1992; Obuchi *et al.*, 1993).

La acción de la presión sobre los microorganismos puede deberse a distintas causas, como la inhibición de la *ATPasa*, la inhibición de la replicación del ADN o la modificación de la permeabilidad de las membranas celulares por cristalización de los fosfolípidos Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

(Hoover *et al.*, 1989; Cheftel, 1992, 1995b). Esto último podría explicar la mayor sensibilidad de las bacterias Gram negativas a la presión, ya que presentan, a diferencia de las Gram positivas, una doble capa lipídica.

El efecto de la presión sobre los microorganismos depende de la magnitud de la presión aplicada, de la duración de la compresión, de la velocidad de presurización y despresurización, de la temperatura, del pH, etc. Respecto a la composición del medio, la presencia de agua es necesaria para lograr la inactivación, mientras que la presencia de ciertos ingredientes como azúcares y sales origina cierto grado de protección frente a la presión (Horie *et al.*, 1991; Takahashi, 1992).

El nivel de contaminación microbiana, en atún y calamar, se vio reducido por el tratamiento de alta presión, siendo mínimo a temperatura ambiente (Shoji y Saeki, 1989). La destrucción total de microorganismos requiere la combinación de presiones relativamente bajas con temperaturas inferiores a 100°C (Carlez *et al.*, 1993; Takahashi, 1992). Es de gran interés el estudio de las condiciones de presurización ya que según observó Hayashi (1991) en Balny (1993), el tratamiento combinado de presión-temperatura, a veces, presenta efecto sinérgico facilitando la destrucción de microorganismos por presurización; mientras que en otras es antagónico, evitando su destrucción.

Las esporas presentan una elevada resistencia a la alta presión, especialmente en medios de baja actividad de agua. Para lograr su destrucción, hay que inducir la germinación por calor a presión moderada o bien con CO₂ a presión atmosférica en presencia de sales, aminoácidos, glucosa, y posteriormente, llevar a cabo la inactivación de la forma vegetativa por tratamiento de presurización (Kühne y Knorr, 1990; Taki *et al.*, 1991; Seyderhelm y Knorr, 1992; Hoover, 1993; Hayakawa *et al.*, 1994; Cheftel, 1995).

El tratamiento de alta presión permite prolongar el tiempo de vida media en refrigeración de los alimentos. Así Gola *et al.* (1996) aumentaron el tiempo de conservación de la crema de gamba a 3°C hasta 4 meses después de someterlo a tratamiento de 700 MPa durante 3 minutos, consiguiendo una mejora adicional de las características organolépticas en comparación con las del producto tratado térmicamente.

En el sector pesquero, podría utilizarse para destruir la carga microbiana de moluscos susceptibles de su consumo en crudo, como por ejemplo las ostras, preservando su apariencia, textura y sabor (Hoover *et al.*, 1989).

2.3.- Efecto sobre la desnaturalización proteica

El efecto de la presión sobre la estabilidad proteica está gobernado por el Principio de Le Chatelier. Con el incremento de la presión, variaciones positivas de volumen desplazan el equilibrio hacia la ruptura de enlaces y variaciones negativas, hacia la formación de enlaces (Masson, 1992; Balny y Masson, 1993).

La desnaturalización proteica varía dependiendo de la estructura de la proteína, de la presión aplicada y del tiempo de aplicación, de la temperatura, del pH y de la composición del medio (Masson, 1992). Las proteínas del músculo de pescado presentan diferente sensibilidad a la presión que según Ko *et al.* (1991) pudiera estar relacionada con el medio de vida del pez.

Las proteínas muestran una alta sensibilidad a la presión, experimentan una alteración del equilibrio entre las fuerzas que estabilizan la estructura conformacional de la proteína nativa. Se producen modificaciones a nivel de la estructura terciaria y cuaternaria, ya que las interacciones hidrofóbicas son las más sensibles a la presión; y pocas variaciones a nivel de la estructura primaria, debido a que los enlaces covalentes apenas se modifican con la presión (Okamoto *et al.*, 1990).

La disociación proteica puede ser reversible a presiones relativamente no muy elevadas (200 MPa); mientras que a presiones superiores a 500 MPa puede ser irreversible por modificación de los enlaces covalentes intramoleculares (Heremans, 1982; Farr, 1990).

Cuando la presión se incrementa alrededor de 100 MPa, la temperatura de desnaturalización proteica aumenta; mientras que a presiones superiores, normalmente disminuye. Esto se observa en el diagrama de fases de la proteína nativa-desnaturalizada Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

(Fig.2) en función de la presión y la temperatura (Hawley, 1971 en Balny y Masson, 1993).

Fig.2.- Diagrama de cambio de conformación proteica (Balny, 1992)

La desnaturalización proteica inducida por calor a presión atmosférica se origina por la agitación de las moléculas que conduce a la destrucción de enlaces covalentes; mientras que en el caso de la presión, se debe a la disminución del volumen que causa modificaciones, principalmente, en los enlaces hidrofóbicos (Farr, 1990; Balny y Masson, 1993).

Por medio de medidas termodinámicas, Iso *et al.* (1994) encontraron en músculo de carpa (*Cyprinus carpio*) que el mecanismo de desnaturalización por alta presión era, en parte, similar al mecanismo de desnaturalización térmica.

2.3.1.- Efecto sobre la actividad enzimática

Los efectos de la presión sobre las reacciones enzimáticas pueden deberse a su influencia directa sobre la reacción modificando las constantes cinéticas o bien por inducir cambios conformacionales en la estructura proteica y/o en el sustrato (Laidler, 1950; Morild, Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

1981; Cochet, 1991; Groß *et al.*, 1993 en Dufour *et al.*, 1996).

Dependiendo de las condiciones del tratamiento de presurización, la misma reacción puede activarse o inhibirse. La alteración de la parte proteica de las enzimas puede ser reversible o irreversible, parcial o completa, dependiendo de factores tales como presión, tiempo, temperatura, pH, agua (Müller *et al.*, 1982; Hara *et al.*, 1990; Balny y Masson, 1993; Defaye y Ledward, 1995).

Ashie y Simpson (1995) encontraron que la inactivación de enzimas *proteasas* presurizadas fue irreversible cuando se almacenaron a temperatura ambiente (20-25°C), mientras que se reactivaron al mantenerlas a 4-7°C.

Ejemplos de modificación enzimática son la inactivación de *aminopeptidasas* y *carboxipeptidasas* a 500 MPa y 400 MPa, respectivamente (Ohmori *et al.*, 1991); de las *proteasas* involucradas en la proteólisis del manto de calamar (*Loligo bleekeri*) con presiones superiores a 800 MPa aplicadas durante 20 min (Nagashima *et al.*, 1993); de las enzimas responsables de la hidrólisis del colágeno, *colagenasa* y *catepsina B*, con presiones de 300 MPa (Dufour *et al.*, 1996) y de la activación de las reacciones proteolíticas de la carne por tratamientos comprendidos entre 100-300 MPa (Macfarlane, 1985; Suzuki *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1992; Homma *et al.*, 1994).

Un índice de desnaturalización de la proteína de pescado es la modificación de la actividad *ATPásica* de actomiosina. En concreto, la actividad *ATPásica* calcio dependiente para la desnaturalización de la miosina y la *ATPasa* magnesio dependiente para la actina y la miosina (Ikeuchi *et al.*, 1992).

La actividad *ATPásica* de la miosina de sardina (*Sardinops melanostictus*) y de pez volador (*Gypselurus opisthopus*) se modificó por el efecto de presión (300 MPa, 20-30 min). La Ca^{2+} -*ATPasa* presentó menor grado de inactivación que sobre la Mg^{2+} -*ATPasa*, mientras que la actividad de la EDTA-*ATPasa* aumentó (Ko *et al.*, 1991).

Según Ko *et al.* (1990), la actividad *ATPásica* calcio dependiente de actomiosina de Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

sardina (*Sardinops melanostictus*) disminuyó linealmente al calentar a 35°C después del tratamiento con alta presión; mientras que la actividad de la $ATPasa$ magnesio dependiente mostró un máximo por activación térmica. La presión evitó, en cierto grado, la desnaturalización térmica de Ca^{2+} - $ATPasa$ y acentuó la activación térmica de la Mg^{2+} - $ATPasa$. Estos resultados sugieren que los mecanismos de desnaturalización por alta presión difieren de los térmicos. De la misma manera en sabalote (*Chano chanos*), la actividad Ca^{2+} - $ATPasa$ decreció linealmente con la magnitud de la presión y la duración del proceso (Ko, 1996), aunque el grado de inactivación en esta especie fue mayor que el observado en sardina (*Sardinops melanostictus*), debido a que depende de la especie (Ko *et al.*, 1990).

Asimismo, estas diferencias debidas al proceso de desnaturalización se reflejaron en la distinta evolución de la actividad Ca^{2+} - $ATPasa$ de miofibrillas de carpa frente al tiempo de tratamiento (Ohshima *et al.*, 1993).

Existen compuestos que modifican la sensibilidad de la proteína a la presurización. Por ejemplo, la lecitina influyó significativamente en la actividad $ATPásica$ de la actomiosina de atún (*Thunnus albacares*), en concreto, en la sensibilidad de la Mg^{2+} - $ATPasa$ (Ishizahi *et al.*, 1995a).

Ohshima *et al.* (1992, 1993) observaron que la actividad enzimática responsable de la degradación de los fosfolípidos en músculo de bacalao (*Gadus macrocephalus*) se inhibía al presurizar a 400 MPa durante 15 min, observándose una ligera aceleración de la oxidación lipídica.

La oxidación de lípidos de músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) aumentó con la presión dependiendo de la duración y la intensidad del tratamiento (Tanaka *et al.*, 1991; Wada e Ide, 1991; Wada, 1992). Sin embargo, no se modificaron los niveles de peróxidos ni de TBA cuando los lípidos se extraían del miosistema. Esto podría deberse a la liberación de proteínas y enzimas de la membrana, facilitándose su interacción con los lípidos (Orr *et al.*, 1990) o a la presencia de cofactores necesarios para la activación enzimática (Tanaka *et al.*, 1991). También Ashie y Simpson (1995) observaron diferencias de modificación enzimática entre músculo de pescado y el extracto purificado.

2.3.2.- Efecto sobre las proteínas aisladas del músculo

Las modificaciones originadas sobre la proteína son distintas según el tratamiento térmico o de presurización. En el primero, se produce un desdoblamiento de la porción de la cadena ligera de la miosina; mientras que en el segundo, a pesar de aplicar presión, la estructura α -hélice permanece invariable (Ishizaki *et al.*, 1995b).

Shoji y Saeki (1989) en Ohshima *et al.* (1993) observaron que las miofibrillas de carpa perdían la estructura estriada y aparecían pegadas unas a otras tras el tratamiento a 150 MPa durante 30 min; mientras que tratadas con calor a presión atmosférica mantenían el orden natural. Esta diferencia también fue observada en miofibrillas de músculo de caballa (Yoshioka *et al.*, 1992) y de conejo (Suzuki *et al.*, 1991). Sin embargo, la microestructura de los geles de miosina aislada apenas mostró diferencias por el tratamiento (Yamamoto *et al.*, 1990), tan sólo se apreció que los geles presurizados fueron más viscoelásticos (Yamamoto *et al.*, 1993, 1994).

Yamamoto *et al.* (1994) observaron la agregación irreversible de las moléculas de miosina de conejo por el tratamiento a presiones superiores a 300 MPa; al igual que Ishizaki *et al.* (1995b) en espadín negro (*Makaira mazara*) y en jurel (*Trachurus japonicus*).

Ko *et al.* (1990) encontraron diferencias en el efecto de la presión en la gelificación de la miosina aislada de sardina (*Sardinops melanostictus*) y de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) debidas a ser diferentes especies; y aumento de la fuerza hasta rotura del gel con la presión aplicada, siendo mayor con un tratamiento térmico posterior de 70°C.

La actomiosina aislada del miosistema mostró un comportamiento reológico similar al de la miosina, lo que indica que es la miosina la responsable principal de la gelificación. Los geles térmicos fueron muy débiles; mientras que si se presurizaban previamente, la firmeza aumentaba (Ikeuchi *et al.*, 1992 a,b). En geles de actomiosina de carpa, la dureza se incrementó con la presión aplicada, mientras que los valores de adhesividad disminuyeron (Okamoto *et al.*, 1990).

La Tecnología de Altas Presiones podría utilizarse para aprovechar las proteínas solubles eliminadas en las aguas de lavado del músculo picado. Okazaki y colaboradores estudiaron esta posibilidad, sometieron a presurización a las proteínas recogidas tras el lavado del músculo y las añadieron a *surimi* de abadejo de Alaska originándose geles muy flexibles (Okazaki, 1991; Okazaki y Sakamoto, 1992; Okazaki y Fukuda, 1995).

3.- GELIFICACIÓN

El fundamento de la fabricación de productos análogos a partir de músculo picado se basa en la gelificación de la proteína miofibrilar.

Según Tanaka (1981), un gel es un estado de la materia intermedio entre sólido y líquido que consta de una serie de cadenas entrecruzadas ordenadas en una red tridimensional. En el caso de geles de músculo de pescado picado, se trata de un hidrogel constituido por una matriz continua con agua atrapada en su interior (Ziegler y Foegeding, 1990; Niwa, 1992). Los geles inducidos por presión parecen presentar, según Carlez *et al.* (1995), un comportamiento más fluido que el de los geles obtenidos por tratamiento térmico.

Es imprescindible una buena homogeneización del músculo picado con sal (1-3% NaCl) para asegurar la completa solubilización de la proteína miofibrilar y la posterior polimerización en una red proteica que constituirá el gel (Suzuki, 1981). La concentración máxima de sal viene condicionada desde el punto de vista nutricional, y la mínima, por la fuerza iónica necesaria para la solubilización (Lanier, 1994; Wu *et al.*, 1991 a,b).

Para la gelificación de músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) por tratamiento térmico a presión atmosférica, Gómez-Guillén *et al.* (1996a) observaron que, independientemente de la calidad del músculo de sardina, los geles que presentaron los mayores valores en la prueba de plegado se obtenían tras la adición de 2,5% NaCl; mientras que el músculo de alta calidad no gelificaba con bajas concentraciones de NaCl. Por otra parte, son las concentraciones altas de NaCl las que originan los mayores valores de trabajo de Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

penetración (Rizvi, 1981; Burgarella *et al.*, 1985; Hamm, 1986).

La miosina se combina con los filamentos de actina formando actomiosina, esta interacción miosina-actina se ve afectada notablemente por la presión (Ikkai y Ooi, 1969). Ambas proteínas, y en especial la porción pesada de la miosina, son las responsables del proceso de gelificación y de las diferentes características resultantes (Niwa *et al.*, 1980; Shimizu *et al.*, 1983; Akahane *et al.*, 1984; Numakura *et al.*, 1985; Sano *et al.*, 1989 a,b; Shimizu *et al.*, 1983).

En algunas especies, si la pasta obtenida tras la homogeneización, con consistencia *sol*, se mantiene a temperaturas cercanas a los 40°C durante tiempos cortos (30 min-1 hora) o a temperaturas bajas durante tiempos largos (4-24 horas), se forma un gel traslúcido y débil denominado *suwari*. La sardina es en particular una especie con alta capacidad formadora de gel *suwari*. La contribución de la presión conlleva a cambios de la estructura del gel a bajas temperaturas, por ejemplo, el gel tipo *suwari* se produce a temperaturas inferiores a 40°C (Ko, 1996).

El asentamiento previo al proceso de presurización, a temperaturas relativamente altas (37°C 30 min) o a temperaturas bajas (5°C 24 horas) no originó modificaciones en los geles presurizados de *surimi* de besugo (*Nemipterus tambuloides*); mientras que en el caso del tratamiento a presión atmosférica, especialmente, el asentamiento a temperaturas altas, mejoró la fuerza hasta rotura y la deformación de gel (Carlez *et al.*, 1995). Gilleland *et al.* (1995) indican que este efecto se debe a la acción de las *transglutaminasas* y que en *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) se activó a 25°C independientemente de si se había presurizado o no.

En algunas especies, esta fase previa al calentamiento no resulta beneficiosa, siendo mejor el calentamiento directo a temperaturas superiores a 75°C (Lee, 1984); en otras ni favorece ni perjudica, como es el caso de los cefalópodos (Gómez-Guillén *et al.*, 1992, 1993, 1996; Nagashima *et al.*, 1992) y en otras especies, como en sardina, es imprescindible para obtener geles definitivos más elásticos (Montero *et al.*, 1992, 1996; Álvarez *et al.*, 1995).

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

Si este gel se somete a un calentamiento próximo a 60°C, se produce la destrucción irreversible de la estructura reticular, fenómeno denominado con el término japonés *modori*, impidiéndose la formación posterior del gel (Nagaisha *et al.*, 1981). Existen varias hipótesis que intentan explicar el mecanismo de acción de este proceso: la termocoagulación de la proteína miofibrilar, la degradación proteolítica de la miosina por acción de *proteasas* termoestables o por la acción de proteínas no enzimáticas (Makinodan e Ikeda, 1971; Kinoshita *et al.*, 1990; Toyohara *et al.*, 1990; Suwansakornkul *et al.*, 1993; Itoh *et al.*, 1995).

Por aplicación de alta presión sobre músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) en rangos amplios de presión y temperatura durante tiempos comprendidos entre 10-30 min no se inhibió el *modori* (Pérez-Mateos *et al.*, 1996a). Ko (1996) sí consiguió inhibir el *modori* del gel *suwari* de sabalote (*Chano chanos*) por presurización a 300 MPa durante 60 min.

Según Ferry (1984), el proceso de gelificación térmico se podría explicar por la desnaturalización proteica inducida por acción de la temperatura, provocándose cambios conformacionales que tras el equilibrio de fuerzas atractivas y repulsivas, se agregarían progresivamente en una red tridimensional (Hermansson, 1979).

En el proceso de gelificación por presurización, la transición *sol*-gel se ve afectada por la presión (Okamoto *et al.*, 1990; Gekko, 1992). Según algunos autores, se origina por el incremento de enlaces hidrofóbicos y, en concreto, a nivel de la cadena pesada de miosina (Yamamoto *et al.*, 1993; Ikeuchi *et al.*, 1992b; Shoji *et al.*, 1990, 1991, 1994; Ishizaki *et al.*, 1995b).

El grado de ordenación de la red depende de varios factores como son la especie, el pH, la concentración proteica, la fuerza iónica (Ferry, 1984; Kinsella, 1984; Yamamoto *et al.*, 1990; Lanier y Lee, 1992) y de la combinación de las variables presión-tiempo-temperatura (Yamamoto *et al.*, 1990; Okazaki, 1991; Okazaki y Nakamura, 1992).

Por lo general, los geles inducidos por presión son menos firmes y más deformables que

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

los obtenidos por tratamiento térmico. Presentan una apariencia más homogénea y translúcida; con mayor retención de agua. Además, mantienen el olor característico de la materia prima (Hayashi, 1989; Okamoto *et al.*, 1989; Farr, 1990; Shoji *et al.*, 1990; Chung *et al.*, 1994).

En el tratamiento por altas presiones, se puede gelificar con bajas concentraciones de NaCl e, incluso, con ausencia de sal, aunque en este caso, se originen geles débiles (Shoji *et al.*, 1990; Ishikawa *et al.*, 1991a; Carlez *et al.*, 1995). En función de la concentración de NaCl, Ishikawa *et al.* (1991b) observaron oscilaciones en los parámetros texturales de geles de *surimi* de sardina.

La presencia de crioprotectores en el músculo picado de pescado inhiben, parcialmente, el efecto de desnaturalización proteica y, especialmente, la inducida por presión. Esto se debe a que el efecto de la presión depende del volumen y los azúcares actúan modificando la hidratación del medio, lo que conlleva a una variación del volumen (Dumay *et al.*, 1994).

Como proceso alternativo, se pueden combinar ambos procesos, bien simultáneamente o bien de forma consecutiva. Los efectos de la combinación presión-temperatura sobre la desnaturalización proteica puede tener resultado sinérgico o inhibitor según las condiciones del tratamiento. Si el proceso de presurización se combina con tratamiento térmico, se contribuye a incrementar los enlaces de la cadena pesada de miosina y las interacciones hidrofóbicas, obteniéndose geles de buena calidad, con apariencia más translúcida que la presentada en geles obtenidos sólo por tratamiento térmico que suelen ser más opacos. Mientras que si el tratamiento térmico se realiza después de la presurización, se estabiliza la calidad de los geles durante su conservación y se minimiza la magnitud de la presión necesaria para obtener gelificación, aunque conlleva a una pérdida de la transparencia del gel (Ishikawa *et al.*, 1991b; Shoji *et al.*, 1992).

3.1.- Caracterización reológica de los geles formados

La reología es la ciencia que estudia las deformaciones permanentes de la materia bajo la influencia de tensiones deformantes. Principalmente, estudia la dinámica del flujo de los

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

líquidos y la deformación plástica de los sólidos. Su aplicación es muy diversa, dentro del área de Tecnología de Alimentos permite determinar la calidad del producto basándose en la textura (Bourne, 1982).

Una prueba muy sencilla, pero que ofrece una importante información sobre la calidad del gel, es la prueba de resistencia de gel al plegado. La calidad del *surimi* se clasifica en distintos grados según la puntuación obtenida en esta prueba (Suzuki, 1981):

Grado 5 (AA): después de plegar dos veces no existe rotura

Grado 4 (A): después de plegar una vez no existe rotura

Grado 3 (B): cuando se pliega una vez existe rotura gradual

Grado 2 (C): cuando se pliega se rompe inmediatamente

Grado 1 (D): se rompe con la sola presión de los dedos

El estudio reológico de los geles de pescado resulta muy útil para la determinación objetiva de la textura, ya que se correlaciona con la textura determinada por análisis sensorial; por lo que permite, en parte, conocer el grado de aceptabilidad comercial del producto (Hamann y Webb, 1979).

Por medio del ensayo de penetrometría se imitan las deformaciones que tiene lugar durante la masticación del alimento hasta la rotura del mismo. Este es el método instrumental estándar en el control de calidad del *surimi* según su valor de fuerza hasta rotura, deformación hasta rotura y el producto de ambos denominado comúnmente resistencia de gel o también trabajo de penetración (Hamann y MacDonald, 1992).

El ensayo de perfil de textura (TPA) es un método empírico de determinación de textura que permite caracterizar la dureza, la elasticidad, la adhesividad y la cohesividad de alimentos (Toda *et al.*, 1971; Bourne, 1978).

3.2.- Características texturales de gel

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

Hay algunos trabajos realizados sobre gelificación del músculo picado de pescado por alta presión en los que se comparan las características de estos geles presurizados con la de los geles inducidos por tratamiento térmico, las diferencias producidas según el tratamiento, se deben principalmente a los diferentes cambios conformacionales y de reordenación que sufre la proteína.

Según el trabajo de Ko (1996), la actomiosina de sabalote (*Chano chanos*) se mostró más sensible a la baja presión (100 MPa) que a la baja temperatura (35°C). No obstante, la desnaturalización inducida por tratamiento térmico a alta temperatura (90°C 10 min) fue mayor que la inducida a 100 MPa.

Serrenes (1994) estudió la influencia de la presión (200-600 MPa), del tiempo de aplicación (5-35 min), de la temperatura de trabajo (0-30°C) y de la concentración de NaCl (0-3%) sobre la gelificación de músculo de faneca plateada (*Pollachius virens*). La concentración de NaCl no fue un factor determinante, aunque fue necesaria su presencia para obtener gelificación; mientras que fueron influyentes la temperatura, el tiempo, la presión. Los mayores valores de fuerza hasta rotura se obtuvieron a 400 MPa, 35 min, 30°C con 3% NaCl. También llegó a la conclusión de que el asentamiento a 4°C durante 24 horas, previo a la presurización, favoreció la obtención de geles con mayores valores de fuerza hasta rotura.

También Pérez-Mateos *et al.* (1996a) estudiaron el efecto de la gelificación de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) en rangos amplios de presión (200-420 MPa), tiempo (10-30 min) y temperatura (0-75°C) con 5% almidón, 1-2,5% NaCl. El contenido de NaCl se mostró como un factor fundamental en esta especie, obteniéndose los mayores valores texturales con la concentración de NaCl inferior.

En un trabajo posterior, estos mismos autores (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b) compararon las características texturales de los geles presurizados de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) con las presentadas por el gel térmico. Los primeros presentaron valores mayores de deformación hasta rotura y de trabajo de penetración; menor dureza y

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

adhesividad, con valores similares de elasticidad; y menor capacidad de retención de agua. Observaron también que dependiendo del tratamiento aplicado, los geles presentaban diferentes características en cuanto al tipo de enlace formado.

En otras especies como, por ejemplo, *surimi* de besugo (*Nemipterus tambuloides*). Los geles presurizados (300 MPa, 5-10°C, 15 min) presentaron las mismas diferencias texturales respecto a los geles térmicos. En ausencia de NaCl por calentamiento a presión atmosférica (90°C 30 min), no se originaba gelificación; mientras que por presurización se originaron geles muy débiles (Carlez *et al.*, 1995).

La gelificación del músculo de pescado, se puede inducir por presiones relativamente bajas, así por ejemplo, *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) gelifica a presiones de 200 MPa aplicadas durante 10 min a 0°C, obteniendo los mayores valores de resistencia de gel a 300 MPa (Shoji *et al.*, 1990).

Por lo general, los valores de trabajo de penetración de los geles presurizados son superiores a los obtenidos en los geles elaborados por tratamiento térmico como en el caso de merluza (*Merluccius productus*) y de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Chung *et al.*, 1994). También, la fuerza hasta rotura aumentó con la presión en los geles de músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) (Ko *et al.*, 1990; Wada, 1992), de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Ko *et al.*, 1990) y de músculo de calamar (*Loligo bleekeri*) (Nagashima *et al.*, 1993).

Yoshioka *et al.* (1992) compararon los cambios de textura originados en *surimi* de carpa y de caballa por ambos tratamientos. Los geles presurizados sin NaCl, mostraron valores superiores de dureza, elasticidad y viscosidad que los obtenidos en los geles elaborados por tratamiento térmico. Aumentando el valor de estos parámetros con la adición de NaCl.

3.3.- Tratamiento consecutivo presión-temperatura

El doble tratamiento presión-temperatura permite estabilizar la calidad del gel inducido por presión (Shoji *et al.*, 1992); mejorar la gelificación de músculos con baja capacidad

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

gelificante, como es el caso del calamar (Nagashima *et al.*, 1993) y la del músculo picado ligeramente lavado, en comparación con la alta capacidad gelificante del *surimi* (Ishikawa *et al.*, 1991a); y reducir la presión necesaria para gelificar (Ishikawa *et al.*, 1991a).

Así por ejemplo, el calentamiento posterior de geles inducidos por presión de músculo de sardina y abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) incrementó la fuerza de ruptura del gel (Ko *et al.*, 1990). Respecto a la elasticidad de geles de *surimi* de sardina, también aumentó con la temperatura aplicada después del proceso de presurización siendo superior a la de los geles tratados sólo por calor o por presión (Ishikawa *et al.*, 1991 a,b). Mientras que la deformabilidad de geles de músculo de calamar (*Loligo bleekeri*) disminuyó frente a la de los geles inducidos sólo por presión (Nagashima *et al.*, 1993).

Gilleland *et al.* (1995) investigaron el mecanismo de gelificación de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) sometándolo a un tratamiento de presurización seguido de un asentamiento a 25°C 180 min y, por último, a un calentamiento a 90°C 30 min. El calentamiento posterior de los geles incrementó el trabajo de penetración; excepto en aquellos geles que no tuvieron asentamiento.

3.4.- Efecto sobre el color

Al presurizar el músculo de bacalao o caballa, estos adquirieron un aspecto opaco frente al músculo fresco sin tratar (Ohshima *et al.*, 1993). También se encontró diferencias de color debidas al tratamiento de alta presión y térmico en músculo de carpa y de caballa, así como en los geles de *surimi* de ambas especies (Yoshioka *et al.*, 1992).

El color de los geles presurizados de actomiosina de carpa fue más claro que el de los geles obtenidos por tratamiento térmico, incrementándose con la presión aplicada (Okamoto *et al.*, 1990).

Cambios similares fueron observados en músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) tras el tratamiento de alta presión (Wada e Ide, 1991; Wada, 1992). Al comparar con geles obtenidos por tratamiento térmico, los geles presurizados de *surimi* de

Pérez-Mateos, M. (1996) Universidad de Alcalá (Madrid)

Abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) se mostraron más blancos y translúcidos a medida que se incrementaba la presión (Shoji *et al.*, 1990).

En geles presurizados de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), la luminosidad se mostró influenciada por la temperatura y la presión (Pérez-Mateos *et al.*, 1996a). El gel con el valor superior de luminosidad se obtuvo a 375 MPa 38°C, el inferior en el gel elaborado a 200 MPa 0°C, situándose con un valor de luminosidad intermedio el gel elaborado térmicamente a presión atmosférica.

Nagashima *et al.* (1993) observaron que el gel presurizado fue más blanco que el manto de calamar (*Loligo bleekeri*), mientras que el gel obtenido por tratamiento térmico fue ligeramente amarillo. Un comportamiento semejante se observó en geles de *surimi* de besugo (*Nemipterus tambuloides*) (Carlez *et al.*, 1995).

Midiendo estos cambios cuantitativamente, se observó que con la presión, por lo general, aumenta la luminosidad (L^*), decrece la tendencia al rojo (a^*) y no muestra variaciones significativas la tendencia al amarillo (b^*) (Ohshima *et al.*, 1993).

II.- OBJETIVOS

El objetivo principal del trabajo ha sido estudiar la aplicación del tratamiento de altas presiones al proceso de gelificación de las proteínas del músculo picado y lavado de sardina a diferentes tiempos y temperaturas.

III.- DISEÑO DEL EXPERIMENTO

En el presente trabajo, se estudió el efecto de las altas presiones sobre el proceso de gelificación del músculo de pescado picado y lavado.

Para ello, se eligió sardina ya que es una especie muy abundante en nuestras costas y cuyas características de gelificación térmica a presión atmosférica han sido ampliamente estudiadas por diferentes autores.

Se realizó un diseño de experimento estadístico de Superficie de Respuesta en rangos amplios de presión, tiempo y temperatura, de tal forma, que permitiera estudiar el proceso de presurización a diferentes tiempos y temperaturas, ya que se desconocen las condiciones más adecuadas para el procesado.

Dada la información obtenida sobre el proceso de presurización sobre la gelificación en el primer experimento, se realizó un segundo diseño de Superficie de Respuesta reduciendo los márgenes de temperatura y ampliando ligeramente los de presión para poder apreciar mejor la influencia de la presión sobre la gelificación.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS

1.- MATERIALES

1.1.- Especie utilizada

Se utilizó sardina perteneciente a la especie *Sardina pilchardus* (Risso) capturada en el mar Mediterráneo en el mes de mayo. El tamaño y peso medio fueron de $14,38 \pm 0,88$ cm y $26,71 \pm 6,43$ g, respectivamente.

1.2.- Sustancias coadyuvantes y reactivos

Durante el procesado, se añadieron cloruro sódico (NaCl), sorbitol, bicarbonato sódico y tripolifosfato sódico, todos ellos suministrados por la firma comercial PANREAC (Montplet & Esteban S.A., Montcada i Reixac, Barcelona).

Para la realización de los análisis bioquímicos, se utilizaron reactivos de las casas comerciales PANREAC, MERCK (Merck Farma y Química, S.A., Mollet del Vallés, Barcelona) y PROBUS (Probus S.A., Badalona, Barcelona).

2.- MÉTODOS

2.1.- Preparación de la materia prima

El pescado picado se preparó según el siguiente procedimiento. Primeramente, se realizó el descabezado y eviscerado manualmente, eliminando restos de sangre y vísceras adheridas al músculo por medio de un somero lavado en agua fría. Se continuó con la eliminación de la piel y las espinas mediante una extrusionadora (Baader 694, Lübeck, Alemania).

El músculo picado así obtenido, se lavó con una solución fría (0-3°C) de bicarbonato al 0,5% (p/v) en una proporción de 3 partes de músculo por 3 partes de solución (v:p) en agitación continua durante 10 min. Posteriormente, se dejó reposar 10 min para separar el músculo por decantación. A continuación, se eliminó el exceso de agua por medio de una prensa tornillo (Baader 523, Lübeck, Alemania).

Después, se añadieron los crioprotectores: 4% sorbitol (p/p) junto a 0,2% tripolifosfato sódico (p/p). Por último, se empaquetó en bolsas de plástico (Criovac BB-1, Grace, Barcelona), que contenían alrededor de 600 g de músculo picado, a vacío (Multivac A 300, Wolfertschwenden, Alemania) y se congeló en un armario de placas a -40°C durante dos horas (Saabroe SMC, Dinamarca). Finalmente, se llevó a un arcón congelador a -80°C (Revco ULT, Giralt, Revco Scientific, Inc., Asheville, N.C., USA) donde se conservaron para evitar en lo posible modificaciones durante la conservación hasta el momento de la realización de las pruebas correspondientes.

2.2.- Análisis de los constituyentes mayoritarios de la materia prima y pH

2.2.1.- Determinación de humedad

Se determinó sobre, aproximadamente, 5 gramos de muestra por desecación en estufa hasta peso constante, siguiendo la técnica 24003 de la A.O.A.C. (1984). La humedad se expresó como pérdida de peso en tanto por ciento respecto a músculo picado (p/p). Los resultados fueron media de tres determinaciones.

2.2.2.- Determinación de cenizas totales

Se tomó una muestra de 5 gramos aproximadamente y se sometió a un calentamiento de 550°C según la técnica 18021 de la A.O.A.C. (1984). El residuo, media de tres determinaciones, se expresó en tanto por ciento respecto a músculo picado (p/p).

2.2.3.- Determinación de proteína bruta

Para valorar el nitrógeno proteico total, se utilizó el método Kjeldahl según la técnica oficial 24024 de la A.O.A.C. (1984). El contenido en proteína bruta se calculó multiplicado por el factor de conversión 6,25 (Lillevik, 1970). La digestión de la muestra y posterior destilación, se llevaron a cabo en un digestor (Büchi 425, Suiza) y en una unidad de destilación (Büchi 323, Suiza), respectivamente. Los resultados son media de tres determinaciones y se expresaron en tanto por ciento respecto a músculo picado (p/p).

2.2.4.- Determinación de grasa bruta

Los niveles de grasa en músculo se determinaron por el método de Bligh y Dyer (1959) modificado por Knudsen *et al.* (1985), usando como disolventes de grasa diclorometano y metanol en relación 1:2 (v/v). Los resultados son media de tres determinaciones y se expresaron en tanto por ciento respecto a músculo picado (p/p).

2.2.5.- Determinación de pH

Se determinó por triplicado según la técnica descrita por Vyncke (1981) en un pHmetro (MeterLab pHM 93, Radiometer Analytical, Dinamarca).

2.3.- Elaboración del gel

2.3.1.- Homogeneización del músculo

El músculo semidescongelado de sardina se picó durante un minuto a 3000 rpm en una picadora homogeneizadora a vacío y refrigerada (Stephan UM5, Stephan u. Söhne GmbH & Co., Alemania).

A continuación, se añadieron el cloruro sódico 2,5% NaCl (p/p) y el agua necesaria para ajustar el contenido final de humedad a un 78%. Se homogeneizó a 1500 rpm durante seis minutos en condiciones de vacío, asegurando el mantenimiento de la temperatura, durante

todo el proceso, por debajo de 10°C.

La masa resultante se embutió en tripas flexibles (Krehalon, Soplaril Hispania S.A., Barcelona) de 40 µm de espesor, 3,5 cm de diámetro y, aproximadamente, 20 cm de largo. Y posteriormente, las muestras se sometieron a los distintos tratamientos combinados de presión-tiempo-temperatura.

2.3.2.- Tratamiento

2.3.2.1.- Térmico

Como control se escogió el proceso de gelificación tradicional en músculo de sardina que consiste en un tratamiento térmico a presión atmosférica en dos etapas consecutivas de calentamiento: 37°C durante 30 minutos y 90°C durante 50 minutos (Gómez-Guillén, 1994) ambos realizados por inmersión en baños de agua (Unitronic S 320-100 de J.P.Selecta).

Para poder comparar el gel elaborado por tratamiento térmico a presión atmosférica con los geles presurizados en las mismas condiciones de estado de músculo y de homogeneización, se realizaron dos ensayos de gelificación térmica, denominándose T1 en el primer experimento y T2 en el segundo.

2.3.2.2.- Alta presión

Se desarrollaron dos ensayos de gelificación por presurización. El primero, con diferentes combinaciones de presión-tiempo-temperatura (Tabla 1) y el segundo, con combinaciones de presión-temperatura (Tabla 2) según diseño estadístico. Se realizó una instalación de prensado isostático alimentario de alta presión de tipo discontinuo (GEC ALSTHOM ACB, A.C.I.P n°665, Nantes, Francia) con una presión máxima de trabajo de 500 MPa, que se alcanza aproximadamente en 3 min y con un volumen de trabajo de 2 litros. La temperatura del medio de presurización se regula por un circuito que rodea a la cámara de presurización (-20°C/+90°C) conectado a un baño exterior (Haake K, Fisons, Alemania). Se programó que la presión de subida y de bajada se alcanzara en el menor

tiempo posible.

En un primer experimento se fijaron rangos de presión entre 200-420 MPa, de tiempo entre 10-30 min y de temperatura entre 0-75°C, con objeto de establecer las condiciones más adecuadas de gelificación de músculo picado para esta especie.

Para el primer experimento y de acuerdo con el diseño, se ensayaron cinco niveles diferentes de cada variable. El error experimental se obtuvo por la replica del punto central seis veces, con un total de veinte experiencias (Tabla 1).

Tras el análisis de los resultados obtenidos en este primer experimento, se realizó un diseño adicional para determinar si la presión influía sobre la textura. Para ello, se fijó el tiempo en 10 minutos, se acortó el rango de temperaturas (0-38°C) y se amplió ligeramente el rango de presione (150-500 MPa).

Se realizaron ocho combinaciones de presión-temperatura, determinando el error experimental por la repetición de la combinación central cinco veces, con un total de trece experiencias (Tabla 2).

Tabla 1.- Combinaciones de las variables presión-tiempo-temperatura según diseño experimental

presión (MPa)	tiempo (min)	temperatura (°C)
245	14	15
375	14	15
245	26	15
375	26	15
245	14	60
375	14	60
245	26	60
375	26	60
200	20	38
420	20	38
310	10	38
310	30	38
310	20	0
310	20	75
310	20	38
310	20	38
310	20	38
310	20	38
310	20	38
310	20	38
310	20	38
310	20	38

Tabla 2.- Combinaciones de las variables presión-temperatura según diseño experimental

¡Error! Marcador no definido.

presión (MPa)	temperatura (°C)
200	8
450	8
200	33
450	33
150	20
500	20
325	0
325	38
325	20
325	20
325	20
325	20
325	20
325	20

2.3.2.3.- Enfriamiento y conservación

Inmediatamente después del tratamiento, las muestras se enfriaron en agua con hielo y se mantuvieron en una cámara de refrigeración, a aproximadamente 4°C, durante 24 horas hasta la realización de los análisis correspondientes.

2.4.- Análisis de los geles

¡Error! Marcador no definido.

2.4.1.- Prueba de plegado

Para efectuar la prueba de resistencia al plegado al menos por triplicado, se cortaron los geles, extraídos previamente de las tripas, en rodajas de 3 mm de grosor. Se doblaron por la mitad y a su vez de nuevo por la mitad, con objeto de determinar la calidad del gel en un rango de puntuaciones comprendidas entre 1 y 5, tal y como indicó Suzuki (1981).

2.4.2.- Análisis reológico

Para los siguientes ensayos, los geles se cortaron en probetas de 3 cm de altura y se atemperaron a aproximadamente 20°C, envueltas en papel de aluminio para evitar posibles desecaciones.

2.4.2.1.- Ensayo de penetrometría

En un texturómetro universal (Instron 4501 de Instron Engineering Corp., Canton, MA, USA) se penetró el gel hasta rotura por medio de un vástago metálico de 5 mm de diámetro con extremo semiesférico, a una velocidad de 10 mm/min utilizando una célula de carga de 100 N.

La fuerza hasta rotura se expresa en newtons (N), la deformación hasta rotura se expresa en milímetros (mm) y el trabajo de penetración [N.mm] como producto de ambos valores. Todas las determinaciones se realizaron como mínimo por cuadruplicado.

2.4.2.2.- Ensayo del perfil de textura

Para la realización de esta prueba, el gel se somete al efecto de compresión de una célula plana de 58 mm de diámetro adaptada a una célula de carga de 5 KN con una velocidad de 50 mm/min. Se estableció realizar una compresión del 50% de la altura de las probetas, de tal forma que después de dos compresiones consecutivas la mayoría de las muestras no se fracturaran. Se determinaron los siguientes parámetros, al menos, por triplicado: dureza [N],

elasticidad [mm], adhesividad [g.cm] y cohesividad.

2.4.3.- Capacidad de retención de agua

Se utilizó la técnica descrita por Montero *et al.* (1996). Se introducen alrededor de 1,5 g de gel troceado en un tubo de centrifuga junto con dos filtros desecados de pipeta (Gilson, Villiers le Bel, Francia) que actúan como absorbentes. A continuación, se centrifuga a 4000g a temperatura ambiente (20°C) durante 15 minutos (Sorvall RT6000B, Du Pont Co., Delaware, USA). La capacidad de retención de agua (CRA), media de tres determinaciones, se expresa como el porcentaje de agua retenida por 100 gramos de agua presente inicialmente en el gel.

2.4.4.- Color

El color se midió usando una escala CIELab donde L^* es el parámetro que mide la luminosidad en un colorímetro (MiniScan MS/S-4000S, HunterLab, Hunter Associates Laboratory Inc., USA) con un luminosidad de D65 y un ángulo de incidencia de 10° (Young y Whittle, 1985), estandarizando las medidas con respecto a la placa de calibración blanca. El resultado es la media de seis medidas realizadas en distintos puntos de la superficie de la muestra a través de una placa Petri de plástico a temperatura ambiente.

2.5.- Análisis estadístico

2.5.1.- Modelo experimental

Se diseñó un experimento basado en la Metodología de Superficie de Respuesta (Cochran y Cox, 1957) para estudiar el efecto de la combinación presión-tiempo-temperatura sobre distintas propiedades funcionales y características físicas de los geles.

La Metodología de Superficie de Respuesta permite, partiendo de un número pequeño de ensayos, establecer un modelo de predicción de resultados con un grado de confianza

determinado por el coeficiente de correlación múltiple, ajustando el modelo por una técnica de regresión lineal múltiple (Programa estadístico Statgraphics, STSC Inc, Rockville MC. USA).

Cada parámetro estudiado se representa por una ecuación polinómica de segundo orden que predice el efecto de la combinación de las variables presión-tiempo-temperatura con un coeficiente de determinación (\bar{r}^2 1):

Y: respuesta estimada

$\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$: coeficientes estimados de la ecuación

β_0 : constante

β_i : coeficiente de los términos lineales: presión (P), tiempo (t) y temperatura (T)

β_{ii} : coeficiente de los términos cuadráticos (P^2, t^2 y T^2)

β_{ij} : coeficiente de los términos de interacción (P.t, P.T y t.T)

X_i, X_j : variables independientes o factores

K: número de variables independientes

e: término de error

La representación gráfica de la ecuación polinómica, se realiza en tres dimensiones, combinando dos a dos las variables independientes frente a cada una de las variables dependientes o respuestas. Esta gráfica de superficie de respuesta permite de una manera práctica representar los resultados y poder caracterizar así las condiciones más favorables.

El grado de significación de los parámetros de la ecuación para cada respuesta se calculó aplicando un test de la F, para contrastar todo el modelo en conjunto, fijando como variables significativas aquellas con $p \leq 0,05$.

2.5.2.- Test de Duncan

El análisis de la varianza para cada una de las variables respuestas, se realizó mediante un test de la F. La diferencia de medias entre pares, se resolvió mediante los intervalos de confianza realizados con el test de Duncan, tomando como variable independiente: la temperatura, y como covariables: la presión y el tiempo (Programa estadístico Statgraphics, STSC Inc, Rockville MC. USA).

V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

La sardina es una especie que presenta variaciones acusadas en la composición del músculo según la estación del año, la climatología y el estado fisiológico del pez.

Sólo se lavó una vez, con el fin de evitar pérdidas elevadas de proteínas. El rendimiento obtenido de la transformación del pescado entero en músculo picado y lavado fue de un 52% (p/p).

La composición en constituyentes mayoritarios y pH del músculo picado de sardina se representa en la tabla 3. Tras el lavado, el músculo presentó un contenido superior de humedad, lo que conlleva a una disminución relativa del resto de constituyentes.

Tabla 3.- Composición centesimal y pH

Músculo picado	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	pH
sin lavar	69,78 ±0,59	1,61 ±0,021	6,64 ±2,29	18,31 ±0,26	6,33 ±0,05
lavado	78,65 ±0,22	0,82 ±0,014	4,57 ±0,14	12,70 ±0,15	7,10 ±0,05

No figura el porcentaje de crioprotectores

El contenido de grasa es relativamente bajo si se compara con los valores máximos que se pueden alcanzar de hasta un 20% entre los meses de septiembre a octubre, aunque ya en el mes de mayo empieza a adquirir cierto nivel de contenido lípidico (Huidobro *et al.*, 1990;

Nunes *et al.*, 1990). Su porcentaje, como puede observarse en la tabla, disminuyó ligeramente tras el proceso del lavado.

El porcentaje de proteína total en el músculo lavado disminuyó debido a la pérdida de proteínas solubles en el agua de lavado, principalmente proteínas sarcoplásmicas. Si bien, como se comentó anteriormente, hay que tener en cuenta la disminución debida al aumento de humedad del músculo lavado.

El pH fue ligeramente ácido, debido a la formación *post mortem* de ácido láctico a partir de las reservas de glucógeno (Shimizu *et al.*, 1992). Posteriormente, se neutralizó durante el lavado por la presencia del bicarbonato en la solución.

Se observa que en el músculo lavado ($L^*=61,41\pm 0,55$) la luminosidad aumentó frente a la del músculo sin lavar ($L^*=49,23\pm 0,76$) debido a la eliminación de pigmentos en las aguas de lavado. Por tanto, se obtiene un músculo con una apariencia más clara que permite una mayor versatilidad en la elaboración de productos reestructurados.

2.- ESTUDIO DE LA GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO

2.1.- Características del gel térmico T1

El gel elaborado con calor (37°C 30 min/90°C 50 min) a presión atmosférica (T1) presentó una capacidad de retención de agua de $81,68\%\pm 1,90$ y la máxima puntuación en la prueba de plegado (5). En la tabla 4, se muestran los valores obtenidos en los parámetros reológicos de penetración y compresión que fueron relativamente altos en comparación con los valores obtenidos por otros autores en la misma especie en músculo de alta capacidad gelificante (Gómez-Guillén *et al.*, 1996a; Montero *et al.*, 1996).

En cuanto a la luminosidad del gel térmico ($L^*=67,28\pm 0,80$) aumentó respecto a la del músculo lavado ($L^*=61,41\pm 0,55$) debido al calentamiento a altas temperaturas (90°C).

Tabla 4.- Deformación hasta rotura (DR), fuerza hasta rotura (FR), trabajo de penetración (TP), dureza (DU), elasticidad (EL), adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de geles de sardina elaborados por tratamiento térmico (T1) con 2,5% NaCl y 78% humedad

DR	FR	TP	DU	EL	AD	CO
[mm]	[N]	[N.mm]	[N]	[%]	[g.cm]	
13,21	3,41	45,09	58,32	91,33	1650	0,68
±0,52	±0,07	±2,45	±5,29	±0,92	±194	±0,01

2.2.- Características de los geles inducidos por diferentes combinaciones de presión-tiempo-temperatura

2.2.1.- Prueba de plegado

La figura 3 presenta la prueba de plegado que muestra el efecto cuadrático y lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$) y un coeficiente de correlación ajustado de $\bar{r} = 30,93$. El calentamiento durante la presurización originó una fuerte tendencia de disminución del valor obtenido en la prueba de plegado. Este mismo efecto fue observado en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) sometidos a las mismas combinaciones de presión-tiempo-temperatura (Pérez-Mateos *et al.*, 1996a).

De las condiciones ensayadas, se deduce que sólo cuando se aplican tratamientos con temperaturas inferiores a 40°C, se obtiene la máxima puntuación en la prueba de plegado. El gel elaborado por tratamiento térmico a presión atmosférica (Tabla 4) también presentó la máxima puntuación en la prueba de plegado.

Esta disminución con la temperatura indica que, en las condiciones estudiadas, no se inhibió el *modori*, bien porque no se inactivaron las enzimas proteolíticas (Suzuki, 1981) o bien porque el mecanismo de gelificación térmica y el de presurización se interfirieron.

Fig. 3.- Prueba de plegado de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Sin embargo, con tratamientos de 300 MPa durante 60 min, se consiguió inhibir el *modori* en el gel *suwari* de sabalote (*Chano chanos*) (Ko, 1996). Otros autores también lograron la inactivación enzimática de proteínas sarcoplásmicas de bacalao (*Gadus macrocephalus*) y caballa (*Scomber japonicus*) al presurizar a 400 MPa, 15 min (Ohshima *et al.*, 1992); así como de *transglutaminasas* del extracto crudo de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) a 300 MPa, 0°C, 10 min y tras un almacenamiento a 5°C, 120 horas (Shoji *et al.*, 1994).

2.2.2.- Ensayo de penetrometría

En la figura 4, se representa la deformación hasta rotura ($\bar{r} = 40,87$) que muestra el efecto cuadrático y lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$). El calentamiento durante la presurización origina una notable tendencia de disminución de deformación hasta rotura.

No se observaron grandes diferencias de la deformación hasta rotura entre los geles presurizados a temperaturas inferiores a 38°C y los elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica. Sin embargo, Pérez-Mateos *et al.* (1996b) observaron en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) valores superiores de deformación en los geles inducidos por presión.

La fuerza hasta rotura de gel ($\bar{r} = 50,87$) que se representa en la figura 5, muestra el efecto lineal y cuadrático de la temperatura ($p \leq 0,05$). A medida que aumenta la temperatura, la fuerza hasta rotura tiende a decrecer.

Los geles presurizados a temperaturas inferiores a 10°C presentaron valores de fuerza hasta rotura superiores a los valores del gel térmico elaborado a presión atmosférica. Este mismo efecto también fue observado en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b) y de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Shoji *et al.*, 1991).

Fig. 4.- Deformación hasta rotura de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Fig. 5.- Fuerza hasta rotura de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Como se aprecia en la figura 6, el trabajo de penetración ($\bar{r} = 60,87$), con la temperatura en su componente lineal como variable significativa ($p \leq 0,05$), presentó una evolución similar a la de la fuerza hasta rotura disminuyendo notablemente con la temperatura.

La elaboración de geles de pescado mediante altas presiones se produce con temperaturas de trabajo bajas o moderadas frente a las temperaturas de calentamiento (90°C) en el proceso de gelificación térmica a presión atmosférica. Así para músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), los máximos valores de fuerza hasta rotura se obtuvieron a 200 MPa, $0-10^{\circ}\text{C}$ o bien 400 MPa, 30°C (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b); en faneca plateada (*Pollachius virens*) a 400 MPa, 30°C , 35 min (Serennes, 1994); y en *surimi* de besugo (*Nemipterus tambuloides*) a 300 MPa, $5-10^{\circ}\text{C}$, 15 min (Carlez *et al.*, 1995).

No se conoce, profundamente, el mecanismo de gelificación por alta presión; pero se sabe que difiere del térmico. Iso *et al.* (1994) determinaron por técnicas de calorimetría diferencial que parte del mecanismo de gelificación era similar en ambos procesos.

Los geles inducidos por presión a bajas temperaturas mostraron valores de trabajo de penetración superiores a los obtenidos en los geles elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica. Pérez-Mateos *et al.* (1996b) también observaron esta diferencia en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*).

2.2.3.- Ensayo de perfil de textura

En lo que se refiere a la dureza ($\bar{r} = 70,99$), con la presión en su componente lineal y la temperatura en su componente lineal y cuadrático como variables significativas ($p \leq 0,05$), muestra una tendencia de disminución de los valores, al aumentar la presión o la temperatura del tratamiento (Fig.7).

Fig. 6.- Trabajo de penetración de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Fig. 7.- Dureza de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Los valores de dureza de los geles inducidos por presión fueron inferiores a los presentados en el gel térmico elaborado a presión atmosférica, excepto a temperaturas inferiores a 10°C.

Okamoto *et al.* (1990) en geles de actomiosina de carpa encontraron que la dureza se incrementaba con la presión, y que era superior a la presentada en los geles elaborados con calor a presión atmosférica. Al contrario de lo observado por Pérez-Mateos *et al.* (1996b) en músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) y Carlez *et al.* (1995) en *surimi* de besugo (*Nemipterus tambuloides*), que encontraron que el tratamiento de presurización producía geles más débiles que los geles térmicos.

No se observaron diferencias en los valores de elasticidad ($\bar{r} = 80,42$) según el tratamiento de alta presión a distintas temperaturas o de calentamiento a presión atmosférica. Pérez-Mateos *et al.* (1996a,b) tampoco apreciaron diferencias de elasticidad en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*). Sin embargo, Ishikawa *et al.* (1991b) en geles de *surimi* de sardina observaron aumentó de las propiedades viscoelásticas en los geles térmicos (85°C 15 min) en comparación con los geles presurizados obtenidos por tratamiento de alta presión (500-400 MPa, 20 min) e inferiores a la de los geles sometidos a doble tratamiento de presión/temperatura.

En la figura 8, se muestra el efecto lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$) sobre la adhesividad ($\bar{r} = 90,93$). Se observa una tendencia de disminución con la temperatura del proceso de presurización.

Los geles inducidos por presurización se manifestaron menos adhesivos que los obtenidos por tratamiento térmico a presión atmosférica. Esta diferencia también fue observada en geles de actomiosina de carpa (Okamoto *et al.*, 1990) y en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b).

Fig. 8.- Adhesividad de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

En la figura 9, se representa la cohesividad ($\bar{r} = 100,94$) con el tiempo en su componente lineal, la temperatura en ambos componentes y la interacción temperatura-tiempo, como variables significativas ($p \leq 0,05$). Los valores inferiores de cohesividad tienden a obtenerse con tratamientos de presurización con calentamiento aplicado durante intervalos de tiempo grandes.

Los geles presurizados obtenidos a bajas temperaturas mostraron, por lo general, valores de cohesividad superiores a los presentados por los geles térmicos. Este mismo comportamiento también se apreció en geles de bacaladilla (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b).

2.2.4.- Capacidad de retención de agua

En la figura 10, se representa la capacidad de retención de agua ($\bar{r} = 110,86$) que muestra el efecto cuadrático de la temperatura ($p \leq 0,05$). Los máximos valores tienden a alcanzarse con temperaturas de calentamiento de alrededor de 40°C.

Okazaki (1991) indicó variaciones en la capacidad de retención de agua de proteínas solubles según la especie, con una disminución clara a partir de 500 MPa 20 min en el caso de las proteínas sarcoplásmicas de sardina.

El efecto de las altas presiones se pone de manifiesto en los mayores valores de capacidad de retención de agua en los geles presurizados a temperaturas cercanas a 40°C que en el gel elaborado por tratamiento térmico; mientras que si el proceso se realizaba a temperaturas bajas, se apreció una tendencia de disminución de la retención de agua. Por lo general, el tratamiento de alta presión permite reducir la pérdida de agua (Deuchi y Hayashi, 1991; Murakami *et al.*, 1994).

Sin embargo, Pérez-Mateos *et al.* (1996b) en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) que contenían 5% de almidón. Obtuvieron valores superiores de

CRA en los geles térmicos, pudiendo deberse a la gelatinización del almidón por el efecto de las altas temperaturas (90°C); mientras que en los geles presurizados, la

Fig. 9.- Cohesividad de geles de sardina elaborados, con 2,5% NaCl y 78% humedad, por

tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura.

Fig. 10.- Capacidad de retención de agua de geles de sardina elaborados por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura con 2,5% NaCl y 78% humedad.

gelatinización o bien no se produjo en las condiciones ensayadas o bien fue menor por lo cual la CRA no fue tan elevada.

2.2.5.- Luminosidad

La figura 11 muestra el efecto lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$) sobre la luminosidad ($\bar{r} = 120,67$). Al aumentar la temperatura, se observa una tendencia de incremento del valor de L^* . El incremento de la luminosidad con la presión fue observando en geles presurizados respecto a los geles elaborados por calor que se mostraron más amarillos (Shoji *et al.*, 1990; Okamoto *et al.*, 1990; Wada e Ide, 1991; Nagashima *et al.*, 1993).

Los geles presurizados presentaron, por lo general, mayor luminosidad que los obtenidos por tratamiento térmico a presión atmosférica. Al igual que lo observado en geles de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), de carpa y de caballa, por otros autores que señalaron, además, su aspecto menos brillante y con oquedades (Pérez-Mateos *et al.*, 1996b; Yoshioka *et al.* 1992).

2.3.- Efecto de la temperatura sobre la influencia de la presión en los parámetros de textura

A la vista de que en la mayoría de los parámetros analizados, el efecto de la temperatura se mostró muy diferente al aplicar temperaturas bajas o altas, se decidió realizar un análisis de varianza para determinar si el efecto tan acusado de la temperatura en rango tan amplios (0-75°C), podría influir para que no se apreciara la influencia de la presión. Porque a pesar de que la presión no se mostró significativa en la mayoría de los parámetros analizados, su comportamiento no fue constante.

El análisis de varianza se realizó mediante un test de la F y la diferencia de medias entre

pares, se resolvió mediante los intervalos de confianza realizados con el test de Duncan (Tabla 5) considerando a la temperatura como variable independiente y como covariables a la presión y al tiempo.

Fig. 11.- Luminosidad de geles de sardina elaborados por tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura con 2,5% NaCl y 78% humedad.

Tras analizar los resultados indicados en la tabla 5, se observó que en el rango de temperaturas entre 38-75°C, la mayoría de los parámetros determinados presentaban un comportamiento diferente frente al rango de temperaturas inferiores. Consecuentemente, se procedió a realizar un segundo experimento con rango de temperaturas inferiores a 38°C para poder comprobar el posible efecto de la presión sobre los distintos parámetros estudiados.

Tabla 5.- Prueba de plegado (PP), deformación (DR) y fuerza (FR) hasta rotura, trabajo de penetración (TP), dureza (DU), elasticidad (EL), adhesividad (AD) y cohesividad (CO) de geles de sardina elaborados bajo condiciones de presión-tiempo-temperatura según el diseño estadístico

	PP	DR	FR	TP	DU	EL	AD	CO
0°C	a	a	a	a	a	a	a	a
15°C	a	a	a	a	b	ab	b	a
38°C	a	a	b	b	c	ab	b	a
60°C	b	b	b	b	d	ab	c	b
75°C	c	b	b	b	d	b	c	b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las temperaturas de tratamiento.

El rango de presiones se amplió ligeramente (150 MPa-500 MPa) para poder así apreciar mejor la posible influencia. Respecto al tiempo de procesado, se tomó como óptimo

10 min, ya que los parámetros texturales o mejoraban a tiempos cortos o no variaba de forma acusada. Gilleland *et al.* (1995) también encontraron que el tiempo de presurización (30-120 min) modificaba poco los resultados obtenidos en la gelificación de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) a 300 MPa.

2.4.- Características del gel térmico T2

Se elaboró otro ensayo de gelificación térmica a presión atmosférica (T2): 37°C 30 min/90°C 50 min (Tabla 6) para poder comparar con el proceso de gelificación por alta presión en las mismas características de estado del músculo y de homogeneización.

Tabla 6.- Deformación hasta rotura (DR), fuerza hasta rotura (FR), trabajo de penetración (TP), dureza (DU), elasticidad (EL) y cohesividad (CO) de geles de sardina elaborados por tratamiento térmico (T2) con 2,5% NaCl y 78% agua tras la conservación del músculo picado y lavado

DR	FR	TP	DU	EL	AD	CO
[mm]	[N]	[N.mm]	[N]	[%]	[g.cm]	
15,21	4,48	68,16	47,35	97,67	1061	0,76
±0,44	0,30	±6,12	±2,48	±0,04	±116	±0,02

Al confrontar este gel con el gel térmico anterior (tabla 5), se observó una mejoría de la capacidad gelificante tras la conservación en congelación del músculo picado. Esto pudiera deberse a fenómenos de desnaturalización y agregación que favorezcan la gelificación o a la inactivación de enzimas que posteriormente intervendrían en la degradación del gel durante el calentamiento (Montero *et al.*, 1996).

Una tendencia similar fue también observada en músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) refrigerada durante tres días (Huidobro *et al.*, 1992). Sin embargo, Scott *et al.* (1988) describen, en músculo de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*), la

disminución de los parámetros texturales por el efecto de la congelación-descongelación siendo más acusada tras períodos de conservación prolongada.

La luminosidad del gel térmico ($L^* = 67,63\% \pm 0,83$) no sufrió modificaciones por la conservación en congelación del músculo picado y lavado.

2.5.- Características de los geles inducidos por diferentes condiciones de presión-temperatura

2.5.1.- Prueba de plegado

En todas las condiciones ensayadas de presión-temperatura, incluida la de presión atmosférica, se obtuvieron geles con la máxima puntuación (5) en la prueba de plegado.

2.5.2.- Ensayo de penetrometría

En la figura 12, se representa la deformación hasta rotura ($\bar{r} = 130,80$) que muestra el efecto cuadrático de la presión y de la temperatura, así como el efecto lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$). Se observa una tendencia de disminución al presurizar a temperaturas próximas a la ambiente y con presiones extremas (150 MPa, 500 MPa). Los mayores valores se obtienen con procesos de alrededor 300-400 MPa, 0-10°C. También los geles presurizados de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) mostraron los valores mayores de deformación hasta rotura al presurizar entre 200-300 MPa, 0°C, 10 min; siendo superiores a los presentados por el gel térmico (Shoji *et al.*, 1991).

La fuerza hasta rotura ($\bar{r} = 140,88$) y el trabajo de penetración ($\bar{r} = 150,88$) muestran el efecto cuadrático de la presión y, el efecto lineal y cuadrático de la temperatura ($p \leq 0,05$). De tal forma, que también presiones intermedias de alrededor 300-400 MPa originan los mayores valores de ambos parámetros texturales. Respecto a la influencia de la temperatura, se observa una tendencia de disminución a temperaturas próximas a los 20°C, siendo las temperaturas de refrigeración las que originan los mayores valores.

Respecto al tratamiento térmico a presión atmosférica, se obtuvieron valores intermedio en los parámetros obtenidos en el ensayo de penetrometría con respecto al tratamiento de presurización.

Fig. 12.- Deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración de geles de sardina elaborados por tratamiento combinado de presión-temperatura con 2,5% NaCl y 78% humedad.

Los geles presurizados de músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) y de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) presentaron valores de fuerza hasta rotura superiores con el aumento de la presión aplicada (Ko *et al.*, 1990).

Al estudiar márgenes más estrechos de temperatura y ampliando ligeramente las cotas de presión, se observó un evidente efecto significativo de la presión sobre los parámetros de penetrometría.

2.5.3.- Ensayo de perfil de textura

En relación con los parámetros obtenidos en el ensayo del perfil de textura (Fig.13). La dureza ($\bar{r} = 160,77$), la adhesividad ($\bar{r} = 170,74$) y la cohesividad ($\bar{r} = 180,81$) mostraron el efecto absolutamente lineal de la temperatura ($p \leq 0,05$).

Se observó una tendencia de disminución de los valores de estos parámetros en tratamientos de gelificación por altas presiones en las cotas superiores (500 MPa) con calentamiento (40°C). Okamoto *et al.* (1990) en geles de actomiosina de carpa inducidos por presión observaron disminución de los valores de adhesividad con el aumento de la presión.

Los geles presurizados mostraron valores superiores de dureza, adhesividad y cohesividad que los del gel elaborado térmicamente a presión atmosférica, excepto en las condiciones extremas de 500 MPa 40°C.

Según los datos experimentales, la elasticidad ($\bar{r} = 190,53$) no presentó diferencias debidas al tratamiento de presurización a distintas temperaturas o al tratamiento térmico a presión atmosférica, siendo en todos los casos muy elevada.

Fig. 13.- Dureza, adhesividad y cohesividad de geles de sardina elaborados por tratamiento combinado de presión-temperatura con 2,5% NaCl y 78% humedad.

2.5.4.- Luminosidad

En la figura 14, se representa la luminosidad ($\bar{r} = 200,62$) con el efecto de la interacción presión-temperatura significativa ($p \leq 0,05$). Los mayores valores de luminosidad tienden a obtenerse con presiones de 400 MPa y temperaturas de calentamiento moderadas (40°C) o con presiones relativamente bajas (200 MPa) a temperaturas de refrigeración (0-10°C).

La luminosidad de los geles presurizados fue similar a la obtenida en el gel elaborado térmicamente a presión atmosférica.

Fig. 14.- Luminosidad de geles de sardina elaborados por tratamiento combinado de presión-temperatura con 2,5% NaCl y 78% humedad.

VI.- CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en los geles elaborados con músculo picado y lavado de sardina se establecen las siguientes conclusiones:

Primera.- La presión y temperatura mostraron una influencia significativa sobre los parámetros determinados mediante el ensayo de penetrometría: deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración. Mientras que sólo la temperatura mostró efecto significativo sobre los parámetros de dureza, cohesividad y adhesividad, determinados en el ensayo de compresión.

Segunda.- La alta presión, en los rangos ensayados no inhibió el efecto de *modori* en la gelificación del músculo picado de sardina, observándose una destrucción irreversible del gel.

Tercera.- Las condiciones de presión, tiempo y temperatura más adecuadas para obtener los mayores valores texturales se sitúan en tratamientos entre 300-400 MPa, 0-10°C, 10 min.

Cuarta.- Los geles presurizados mostraron una superficie de aspecto más uniforme y brillante en comparación con la presentada por el gel térmico elaborado a presión atmosférica.

Quinta.- Los geles presurizados no mejoraron de forma acusada la elevada capacidad gelificante del músculo de sardina de los elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica.

VII.- BIBLIOGRAFÍA

Akahane, Y.; Chihara, S.; Yoshida, Y.; Tsuchiya, T.; Noguchi, S; Ookami, H. y Matsumoto, J.J. (1984). Roles of constituent proteins in gel properties of cooked meat gels. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50, 1029-1033.

Álvarez, C.; Couso, I. y Tejada, M. (1995). Sardine *surimi* gels as affected by salt concentration blending, heat treatment and moisture. *J. Food Sci.*, 60 (3) 622-626.

AOAC (1984). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Washington, DC, USA.

Ashie, I.N.A. y Simpson, B.K. (1995). Changes during storage of pressure-treated fish tissue. En: IFT Annual Meeting, Chicago, USA, 168.

Balny, C. y Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Rev. Int.*, 9, 611-628.

Balny, C.; Heremans, K. y Masson, P. (1992). Haute pression et biologie: une démarche d'avenir. *Biofutur*, 37-42.

Bligh, E. G. y Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.*, 37, 911-917.

Borderías, A.J. (1995). Aplicación de altas presiones en la tecnología de alimentos. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 109-111.

Borderías, A.J. y Pérez-Mateos, M. (1996). Productos pesqueros reestructurados. *Alimentaria*, 269, 53-62.

Bourne, M.C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technol.*, 32 (7) 62-65.

Bourne, M.C. (1982). *Food texture and viscosity: concept and measurement*; Stewart, G.; Schweigert, B.; Harwthorn, J. (Ed.); Academic Press: Nueva York, USA.

Bridgman, P.W. (1912). Water in the liquid and five solid forms under pressure. *Proc. Am. Acad. Arts Sci.*, 47 (13) 439-558.

Burgarella, J.C.; Lanier, T.C.; Hamann, D.D. y Wu, M.C. (1985). Gel strength developments during heating of *surimi* in combination with egg white or whey protein concentrate. *J. Food Sci.*, 50, 1595-1597.

Butz, P.; Habison, G. y Ludwing, H. (1992). Influence of high pressure on lipid-coated virus. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/ Londres, Francia/Inglaterra 224, 61-64.

Carlez, A.; Rosec, J.P.; Richard, N. y Cheftel, J.C. (1993). High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 26, 357-363.

Carlez, A.; Borderías, A.J.; Dumay, E. Cheftel, J.C. (1995). High pressure gelation of fish myofibrillar proteins. En: *Food macromolecules and colloids*; Dickinson, E. y Lorient, D. (Eds.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, Inglaterra, 400-409.

Cheftel, J.C. (1991). Application des hautes pressions en technologie alimentaire. *Industries Alimentaries et Agricoles*, 108, 141-153.

Cheftel, J.C. (1992). Effects of high pressure on foods constituents: an overview. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 195-207.

Cheftel, J.C. (1995a). Perspectives d'applications industrielles. En: *Simposio Europeo Effects of high pressure on foods*; Universidad de Montpellier: Montpellier, Francia.

Cheftel, J.C. (1995b). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Tech. Int.*, 1, 75-90.

Chung, Y.C.; Gebrehiwot, A.; Farkas, D.F. y Morrissey, M.T. (1994). Gelation of *surimi* by high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.*, 59 (3) 523-524.

Cochet, N. (1991). Les enzymes de l'extrême. *Biofutur*, 98, 51-53.

Cochran, W.G. y Cox, G.M. (1957). *Experimental Designs*; Wiley International: Nueva York, USA.

Defaye, A.B. y Ledward, D.A. (1995). Pressure-induced dimerisation of metamyoglobin. *J. Food Sci.*, 60, 262-265.

Denda, A. y Hayashi, R. (1992). Emulsifying properties of pressure-treated proteins. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 333-335.

Deuchi, T. y Hayashi, R. (1991). Pressure application to thawing of frozen foods and to food preservation under subzero temperature. En: *High Pressure Science for Food*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 101-110.

Deuchi, T. y Hayashi, R. (1992). High pressure treatments at subzero temperature: application to preservation, rapid freezing and rapid thawing of foods. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 353-355.

Dufour, E.; Dalgalarondo, M.; Hervé, G.; Goutefongea, R. y Haertlé, T. (1996). Proteolysis of type III collagen by *collagenase* and *cathepsin B* under high hydrostatic pressure. *Meat Sci.*, 42 (3) 261-269.

Dumay, E.M.; Kalichevsky, M.T. y Cheftel, J.C. (1994). High-pressure unfolding and aggregation of β -lactoglobulin with polysaccharides. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1861-1868.

Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci. Tech.*, 1, 14-16.

Ferry, J.D. (1984). Protein gels. *Adv. Prot. Chem.*, 3, 1-78.

Galazka, V.B. y Ledward, D.A. (1995). Developments in high pressure food processing. *Food Technol. Int. Eur.*, 123-125.

Gekko, K. (1992). Effects of pressure on the *sol-gel* transition of food macromolecules. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J.Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 105-113.

Gelé, C. (1994). Conservation: La haute pression stérilise en douceur. *L'usine nouvelle*, 30-32.

Gilleland, G.; Lanier, T.C. y Hamann, D.D. (1995). Investigation into the mechanism of gelation of *surimi* pastes treated by high isostatic pressure. En: IFT Annual Meeting, Chicago, USA, 227.

Gola, S.; Maggi, A.; Carpi, G.; Pirazzoli, P.; Incerti, I. y Rovere, P. (1996). High pressure treated shrimp cream: microbiological, chemical and sensorial shelf-life evaluation at refrigeration temperature. En: *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality-Proceedings of the International Seafood Conference*; Luten, J.B. (Ed.); Elsevier Science: Amsterdam, Holanda.

Gómez-Guillén, C. (1994). Gelificación del músculo de sardina (*Sardina pilchardus* W.) y dosidicus (*Dosidicus gigas*): estudio de la incorporación de ingredientes. *Tesis Doctoral*, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España.

Gómez-Guillén, M.C.; Montero, P. y Borderías, A.J. (1992). Gelation of muscle of Giant squid (*Dosidicus gigas*) for use in processed products. En: 22nd Annual WEFTA Meeting, 8-12 septiembre, Lisboa, Portugal.

Gómez-Guillén, M.C.; Montero, P.; Solas, M.T.; Ramírez, A. y Borderías, A.J. (1993). Chemical and physical effects of salt content and processing temperature on gelation of chephalopod muscle. En: 23rd Annual WEFTA Meeting, 12-15 septiembre, Göteborg, Suecia.

Gómez-Guillén, C.; Borderías, A.J. y Montero, P. (1996a). Rheological properties of gels made from high and low quality sardine (*Sardina pilchardus*) mince with added nonmuscle proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 746-750.

Gómez-Guillén, M.C.; Solas, M.T.; Borderías, A.J. y Montero, P. (1996b). Ultrastructure and rheological changes during the gelation of giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Z. Lebensm Unters Forsch*, 202, 215-220.

Hamann, D.D. y MacDonald, G.A. (1992). Rheology and texture properties of *surimi* and *surimi*-based foods. En: *surimi* Technology; Lanier, T.C. y Lee, C.M. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA, 429-500.

Hamann, D.D. y Webb, N.B. (1979). Sensory and instrumental evaluation of material properties of fish gels. *J. Texture Stud.*, 10, 117-130.

Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. En: *Muscle as Food*; Bechtel, P.J. (Ed.); Academic Press: Nueva York, USA, 135-199.

Hara, A.; Nagahama, G; Ohbayashi, A. y Hayashi, R. (1990). Effects of high pressure on inactivation of enzymes and microorganisms in nonpasteurized rice wine (Namazake). *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 64, 1025.

Hayakawa, I.; Kanno, T.; Tomita, M. y Fujio, Y. (1994). Application of high pressure for spore inactivation and protein denaturation. *J. Food Sci.*, 59, 159-163.

Hayashi, R. (1989). Application of high pressure to food processing and preservation: philosophy and development. En: *Use of high pressure to food processing and preservation; Engineering and Food II*; Spiess, W.E.L. y Schubert, H. (Ed.); Elsevier Appl. Sci.: Inglaterra, Inglaterra, 815-826.

Heremans, K. (1982). High pressure effects on proteins and other biomolecules. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 11, 1-21.

Heremans, K. (1992). From living systems to biomolecules. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J.Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 37-44.

Hermansson, A.M. (1979). Aggregation and denaturation involved in gel formation. En: *Functionality and Protein Structure*; PourEl, A. (Ed.); ASC Symposium Series 92, Am. Chem. Soc.: Washington, DC, USA, 81-103.

Homma, N.; Ikeuchi, Y. y Suzuki, A. (1994). Effects of high pressure treatment on the proteolytic enzymes in meat. *Meat Sci.*, 38, 219-228.

Hoover, D.G. (1993). Pressure effects on biological systems. *Food Technol.*, 47 (6) 150-154.

Hoover, D.G.; Metrick, G.; Papineau, A.M.; Forkas, D.F. y Knorr, D. (1989). Biological effects of high pressure on food microorganisms. *Food Technol.*, 43 (3) 99-107.

Horie, Y.; Kimura, K.; Ida, M.; Yosida, M. y Ohki, K. (1991). Jam preparation by pressurization. *Nippon Nogikagaku Kaishi*, 65, 975-980.

Huidobro, A.; Montero, P.; Tejada, M.; Jiménez-Colmenero, F. y Borderías, A.J. (1990). Changes in protein function of sardines stored in ice with and without added salt. *Z. Lebensm Unters Forsch.*, 190, 195-198.

Huidobro, A.; Pardo, M.V.; Borderías, A.J. y Tejada, M. (1992). Effect of different storage methods on some functional properties of sardine muscle. *Z. Lebensm Unters Forsch.*, 194, 17-20.

Gould, G.W. (1995). The microbe as a high pressure target. En: *High Pressure Processing of Foods*; Ledward, D.A.; Earnshaw, R.G.; Johnson, D.E.; Hasting, A.P.M. (Eds.); Nottingham University Press: Nottingham, Inglaterra, 81-98.

Ikeuchi, Y.; Tanji, H.; Kim, K. y Suzuki, A. (1992a). Dynamic rheological measurements on heat-induced pressurized actomyosin gels. *J. Agric. Food Chem.*, 40 (10) 1751-1755.

Ikeuchi, Y.; Tanji, H.; Kim, K. y Suzuki, A. (1992b). Mechanism of heat-induced gelation of pressurized actomyosin: Pressure-induced changes in actin and myosin in actomyosin. *J. Agric. Food Chem.*, 40 (10) 1756-1761.

Ikkai, T. y Ooi, T. (1969). The effect of pressure on actomyosin systems. *Biochem.*, 8, 2615-2622.

Ishikawa, M.; Sakai, K.; Yamaguchi, T. y Rachi, S. (1991a). Rheological properties of gel formed by pressure→heat treatment of various fish-*surimi*. *High Pressure Sciences for Food*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 184-190.

Ishikawa, M.; Sakai, K.; Yamaguchi, T. y Rachi, S. (1991b). Changes of physical properties of sardine-*surimi* by hydrostatic pressurization. *High Pressure Sciences for Food*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 309-315.

Ishizaki, S.; Hayashi, T.; Tanaka, M. y Taguchi, T. (1995a). High-pressure effects on

lecithin-added yellowfin tuna actomyosin *ATPase* activities. *Fish. Sci.*, 61 (4) 703-705.

Ishizaki, S.; Tanaka, M.; Takai, R. y Taguchi, T. (1995b). Stability of fish myosins and their fragments to high hydrostatic pressure. *Fish. Sci.*, 61 (6) 989-992.

Iso, S.; Mizuno, H.; Ogawa, H.; Mochizuki, Y.; Mihori, T. e Iso, N. (1994). Physico-chemical properties of pressurized carp meat. *Fish. Sci.*, 60 (1) 89-91.

Itoh, Y.; Maekawa, T.; Suwansakornkul, P. y Obatake, A. (1995). Seasonal variation of gel-forming characteristics of three lizardfish species. *Fish. Sci.*, 61 (6) 942-947.

Johnston, D.E. (1992). High pressure. En: *The Chemistry of muscle-bared food*; Johnston (Ed.); The Royal Society of Chemical: Cambridge, Inglaterra, 298-307.

Kalichevsky, M.T.; Knorr, D. y Lillford, P.J. (1995). Potencial food applications of high-pressure effects on ice-water transitions. *Trends Food Sci. Tech.*, 6, 253-259.

Kanda, Y.; Aoki, M. y Kosugi, T. (1992). Freezing of tofu (*Soybean curd*) by pressure-shift freezing and its structure. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 39 (7) 608-614.

Karmas, E. y Lauber, E. (1987). Novel products from underutilized fish using combined processing technology. *J. Food Sci.*, 52 (1), 7-9.

Kim, K.; Ikeuchi, Y. y Suzuki, A. (1992). Pressure-induced conversion of α -connectin to β -connectin. *Meat Sci.*, 32, 237-243.

Kinoshita, M.; Toyohara, H. y Shimizu, Y. (1990). Diverse distribution of four distinct types of *modori* (gel degradation) inducing *proteinase* among fish species. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 56, 1485-1492.

Kinsella, J.E. (1984). Functional properties of food proteins: thermal modification involving denaturation and gelation. En: *Research in Food Science and Nutrition*; Mcloughlin, J.

(Ed.); Boole Press: Dublín, Irlanda, 226.

Knorr, D.; Böttcher, A.; Dörnenburg, H.; Eshtiaghi, M.; Oxen, P.; Richwin, A. y Seyderhelm, I. (1992). High pressure effects on microorganisms, enzyme activity and food functionality. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J.Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 211-218.

Knudsen, L.B.; Reimers, K.; Berner, L. y Jensen, N.C. (1985). A modification of Bligh and Dyer's oil method reducing chloroform vapour outlet. En: OEA/II 85 WEFTA, Hamburgo, Alemania.

Ko, W.C. (1996). Effect of high pressure on gelation of meat paste and inactivation of actomyosin *Ca-ATPase* prepared from milkfish. *Fish. Sci.*, 62 (1) 101-104.

Ko, W.C.; Tanaka, M.; Nagashima, Y.; Taguchi, T. y Amano, K. (1990). Effect of high pressure treatment on the thermal gelation of sardine and Alaska pollack meat and myosin pastes. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37 (8) 637-642.

Ko, W.C.; Tanaka, M.; Nagashima, Y.; Taguchi, T. y Amano, K. (1991). Effect of pressure treatment on actomyosin *ATPases* from flying fish and sardine muscles. *J. Food Sci.*, 56, 338-340.

Kühne, K. y Knorr, D. (1990). Effects of high pressure carbon dioxide on the reduction of microorganisms in fresh cellery. *Z.F.L. Europ. Food Sci.*, 41, 55-57.

Laidler, KJ. (1950). The influence of pressure on the rates of biological reactions. *Arch Biochem. Biophys.*, 30, 226-236.

Lanier, T.C. (1994). Functional food protein ingredients from fish. En: *Seafood Proteins*; Sikorski, Z.E.; Pan. B.S. y Shahidi, F. (Ed.); Chapman & Hall: Londres/ Nueva York, Inglaterra/USA, 127-159.

Lanier, T. y Lee, C. (1992). *Surimi* Technology. Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA.

Ledward, D.A. (1994). High pressure processing-the potencial. En: *High Pressure Treatment of Foods*, Ledward, D.A.; Johnston, D.E.; Earnshaw, R.G. y Hastings, A.P.M. (Ed.); Nottingham University Press: Loughborough, Inglaterra 1-5.

Lee, C.M. (1984). *Surimi* process technology. *Food Technol.*, 38 (11) 69-80.

Lillevik, H.A. (1970). The determination of total organic nitrogen. En: *Methods in food analysis: physical, chemical and instrumental methods of analysis*; Joslyn, M.A. (Ed.); Academic Press: Nueva York, USA.

Lüdemann, H.D. (1992). Water and aqueous solutions under high pressure. En: *High and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 371-379.

Ludwing, H.; Bieler, C.; Hallbauer, K. y Scigalla, W. (1992). Inactivation of microorganisms by hydrostatic pressure. En: *High and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 25-32.

Macfarlane, J.J. (1985). High pressure technology and meat quality. En: *Developments in Meat Science-3*; Lawier, R. (Ed.); Elsevier Applied Science Pub.: Londres, Inglaterra, 155-184.

Makinodan, Y. e Ikeda, S. (1971). Studies on fish muscle *protease-IV*. Relation between *himodori* of kamaboko and muscle *proteinase*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 37, 518-523.

Masson, P. (1992). Pressure denaturation of proteins. En: *High and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 89-99.

Miyao, S.; Shindoh, T.; Miyamori, K. y Arita, T. (1993). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 40, 478-484.

Montero, P.; Pardo, M.V.; Gómez-Guillén, M.C. y Borderías, A.J. (1992). Improvement of minced sardine gelation with hydrocolloids and proteins. En: International Conference Upgrading and Utilization of Fishery Products; 12-14 mayo, Holanda.

Montero, P.; Gómez-Guillén, M.C. y Borderías, A.J. (1996). Influencia de la subespecie, estacionalidad y procedimientos de estabilización en la aptitud gelificante del músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) congelado. *Food Sci. Tech. Int.*, 2 (1) 53-64.

Moor, H. (1987). Theory and practice of high pressure freezing. En: *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy*; Steinbrecht, R.A. y Zierold, K. (Eds.); Springer, Berlín, Alemania, 175-191.

Morild, E. (1981). The theory of pressure effects on enzyme. *Adv. Prot. Chem.*, 34, 93-166.

Müller, K.; Lüdemann, H.D. y Jaenicke, R. (1982). Thermodynamics and mechanism of high-pressure deactivation and dissociation of *lactic dehydrogenase*. *Biophys. Chem.*, 16, 1-7.

Murakami, T.; Kimura, I.; Yamagishi, T.; Yamashita, M.; Sugimoto, M. y Satake, M. (1992). Thawing of frozen fish by hydrostatic pressure. En: *High and Biotechnology*; Balny, C., Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 329-331.

Murakami, T.; Kimura, I.; Miyakawa, H.; Sugimoto, M. y Satake, M. (1994). En: *High Pressure Bioscience*; Hayashi, R.; Kunugi, S.; Shimada, S. y Suzuki, A. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 304-311.

Nagaisha, E.; Nishimoto, S.; Fujimoto, S. y Fujita, T. (1981). Kamaboko-forming ability of the jellied meat of Pacific hake. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 41, 901-906.

Nagashima, Y.; Ebina, H.; Tanaka, M. y Taguchi, T. (1992). Proteolysis affects thermal gelation of squid mantle muscle. *J. Food Sci.*, 57 (4) 916-17, 22.

Nagashima, Y.; Ebina, H.; Tanaka, M. y Taguchi, T. (1993). Effect of high hydrostatic pressure on the thermal gelation of squid mantle meat. *Food Res. Int.*, 26, 119-123.

Niwa, E. (1992). Chemistry of *surimi* gelation. En: *surimi* Technology; Lanier, T. y Lee, C. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA, 389-428.

Niwa, E.; Koshiba, K.; Matsuzaki, M.; Nakayama, T. y Hamada, I. (1980). Species-specificities of myosin heavy chain in setting and returning. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 46, 1497-1500.

Numakura, L.; Seki, N; Kimura, I.; Toyoda, K; Fujita, T.; Takama, K. y Arai, K. (1985). Cross-linking reaction of myosin in the fish paste during setting (*suwari*). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 1559-1565.

Nunes, L.; Mendes, R.; Campos, R. y Bandarra, N. (1990). Characterization of fatty acids and lipid classes of sardine (*Sardina pilchardus*) and its variation with season. En: *Chilling and freezing of new products*; IIF (Ed.); París, Francia, 339-344.

Obuchi, K.; Iwahashi, H.; Kaul, S.C.; Ishimura, M.; Fujii, S.; Satoh, A. y Komatsu, Y. (1993). En: *High Pressure Bioscience and Food Science*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 147-156.

Ohmori, T.; Shigehisa, T.; Taji, S. y Hayashi, R. (1991). Effect of high pressure on the *protease* activities in meat. *Agric. Biol. Chem.*, 55 (2) 357-361.

Ohshima, T.; Nakagawa, T. y Koizumi, C. (1992). Effect of high hydrostatic pressure on the degradation of phospholipids in fish muscle during storage. En: *Seafood Science and Technology*; Graham Bligh, E. (Ed.); Fishing News Books: Oxford, Inglaterra, 64-75.

Ohshima, T.; Ushio, H. y Koizumi, C. (1993). High-pressure processing of fish and fish products. *Trends Food Sci. Tech.*, 4, 370-375.

Okamoto, M.; Deuchi, T. y Hayashi, R. (1989). *Use of high pressure in food*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 89-102.

Okamoto, M.; Kawamura, Y. y Hayashi, R. (1990). Application of high pressure to food processing: textural comparison of pressure and heat induced gels of food proteins. *Agric. Biol. Chem.*, 54 (1) 183-189.

Okazaki, E. (1991). Texturization of water soluble proteins of fish meat by high pressure treatment. En: *High Pressure Science for Foods*; Hayashi, R. (Ed.); Kyoto Univer: Uji Kyoto, Japón, 307-313.

Okazaki, E. y Fukuda, Y. (1995). Effect of water-soluble protein on pressure-induced gelation of Alaska pollack *surimi*. En: International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology; Kyoto, Japón.

Okazaki, E. y Nakamura, K. (1992). Factors influencing texturization of sarcoplasmic protein of fish by high pressure treatment. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (11), 2197-2206.

Okazaki, E. y Sakamoto, M. (1992). An inquiry as to actual conditions of wastewater treatment at plants for processing Alaska pollack frozen-*surimi*. *Bull. Natl. Res. Inst. Fish. Sci.*, 4, 59-70.

Ooide, A.; Kameyana, Y.; Iwata, N.; Uchio, R.; Karino, S. y Kanyama, N. (1994). En: *High Pressure Bioscience*; Hayashi, R.; Kunugi, S.; Shimada, S. y Suzuki, A. (Ed.); San-Ei Pub. Co.: Kyoto, Japón, 344-351.

Orr, N.; Yavin, E.; Shinitzky, M. y Lester, D.S. (1990). Application of High-Pressure to subfractionate membrane protein-lipid complexes: a case study of protein *Kinase C*. *Anal.*

Biochem., 191, 80-85.

Pérez-Mateos, M.; Lourenço, H.; Montero, P. y Borderías, A.J. (1996a). Gelling of blue whiting muscle under the combined effects of high pressure-time-temperature. En: *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality-Proceedings of the International Seafood Conference*; Luten, J.B. (Ed.); Elsevier Science (Ed): Amsterdam, Holanda.

Pérez-Mateos, M.; Lourenço, H.; Montero, P. y Borderías, A.J. (1996b). Rheological and chemical studies on high pressure induced gels from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle proteins (en prensa).

Philippon, J. y Voldrich, M. (1994). Les hautes pressions: un adjuvant du froid. En: *Contribution du froid à la préservation de la qualité des fruits, légumes et produits halieutiques*; Lahmam, A. y Messaho, D. (Ed.); Actes Editions: Rabat, Marruecos, 39-52.

Rizvi, S. SH. (1981). Rheological properties of comminuted meat systems. *Food Tech.*, 5, 238-243.

Roussel, H. y Cheftel, J.C. (1988). Characteristics of *surimi* and kamaboko from sardines. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 23, 607-623.

Roussel, H. y Cheftel, J.C. (1990). Mechanisms of gelation of sardine proteins: influence of thermal processing and of various additives on the texture and protein solubility of kamaboko gels. *Int. J. Food Tech.*, 25, 260-280.

Rovere, P. y Maggi, A. (1995). High pressure processing: a new technology for use in the food industry. *Industria Conservera*, 70 (1) 45-54.

Sano, T.; Noguchi, S.F.; Matsumoto, J.J. y Tsuchiya, T. (1989a). Dynamic viscoelastic behaviour of F-actin on heating. *J. Food Sci.*, 54, 231-232.

Sano, T.; Noguchi, S.F.; Matsumoto, J.J. y Tsuchiya, T. (1989b). Role of F-actin in thermal gelation of fish actomyosin. *J. Food Sci.*, 54, 800-804.

Scott, D.N.; Porter, R.W.; Kudo, G.; Miller, R. y Koury, B. (1988). Effect of freezing and frozen storage of Alaska pollack on the chemical and gel forming properties of *surimi*. *J. Food Sci.*, 53 (2) 353-358.

Serrenes, F. (1994). Étude de l'influence des hautes pressions sur la texturation de la pulpe de lieur noir et sur son evolution au cours du temps. Diplôme d'ingénieur en agro-alimentaire, Nantes, Francia.

Seyderhelm, I. y Knorr, D. (1992). Reduction of *Bacillus stearothermophilus* spores by combined high pressure temperature treatments. *Z.F.L. Europ. Food Sci.*, 43 (4) 17-20.

Shimada, K. (1992). Effect of combination treatment with high pressure and alternating current on the lethal damage of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* spores. En: *High pressure and Biotechnology*. Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 49-51.

Shimada, A.; Kasai, M.; Yamamoto, A. y Hatae, K. (1990). Changes in the palatability of foods by hydrostatic pressure. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37 (7) 511-519.

Shimizu, Y.; Nishioka, F.; Machida, R. y Shien, C.M. (1983). Gelation characteristics of salt-added myosin sol. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 49, 1239-1243.

Shimizu, Y.; Toyohara, H. y Lanier, T.C. (1992). *Surimi* production from fatty and dark-fleshed fish species. En: *surimi Technology*; Lanier, T.C. y Lee, C.M. (Ed.); Marcel dekker, Inc.: Nueva York, USA, 181-207.

Shoji T.; Saeki, H.; Wakameda, A.; Nakamura, M. y Nonaka, M. (1990). Gelation of salted paste of Alaska Pollack by high hydrostatic pressure and change in myofibrillar protein in it.

Nippon Suisan Gakkaishi, 56 (12) 2069-2076.

Shoji T.; Saeki, H.; Wakameda, A. y Nakamura, M. (1991). Change in physical properties of high pressure-induced gels of Alaska pollack *surimi* during storage. En: *High Pressure Science for Foods*; Hayashi, R. (Ed.); Kyoto Univer.: Uji Kyoto, Japón, 300-307.

Shoji, T.; Saeki, H.; Wakameda, A. y Nonaka, M. (1992). Control of quality of pressure-induced gel from walleye pollack *surimi* by heat-treatment. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (11) 2055-2061.

Shoji, T.; Saeki, H.; Wakameda, A. y Nonaka, M. (1994). Influence of ammonium salt on the formation of pressure-induced gel from Walleye Pollack *surimi*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 60 (1) 101-109.

Suwansakornkul, P.; Itoh, Y.; Hara, S. y Obatake, A. (1993). Identification of proteolytic activities of gel-degrading factors in three lizardfish species. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1039-1045.

Suzuki, T. (1981). *Tecnología de las proteínas de pescado y krill*. Acribia: Zaragoza, España.

Suzuki, A.; Watanabe, M.; Iwamura, K.; Ikeuchi, Y. y Saito, M. (1990). Effect of high pressure treatment on the ultrastructure and myofibrillar protein of beef skeletal muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 3085-3091.

Suzuki, A.; Suzuki, N.; Ikeuchi, Y. y Saito, M. (1991). Effects of high pressure treatment on the ultrastructure and solubilization of isolated myofibrils. *Agri. Biol. Chem.*, 55 (10) 2467-2473.

Takahashi, K. (1992). Sterilization of microorganisms by hydrostatic pressure at low temperature. En: *High pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 303-307.

Takai, R.; Kozhima, T.T. y Suzuki, T. (1991). Low temperature thawing by using high pressure. En: Les Actes du XVIIIeme Congrès International du Froid; Montreal, Québec, Canada, 4, 1951-1955.

Taki, Y.; Awao, T.; Toba, S. y Mitsuura, N. (1991). Sterilization of *Bacillus sp.* spores by hydrostatic pressure. En: *High pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J. Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 217-224.

Tamaoka, T.; Itoh, N. y Hayashi, R. (1991). High pressure effect on Maillard reaction. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2071-2074.

Tanaka, T. (1981). *Gels*. Scientific American, 244, 124-138.

Tanaka, M.; Xueyi, Z.; Nagashima, Y. y Taguchi, T. (1991). Effect of high pressure on lipid oxidation in sardine meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (5) 957-963.

Toda, J.; Wada, To.; Yasumatsu, K. y Ishii, K. (1971). Application of principal component analysis to food texture measurements. *J. Texture Stud.*, 2, 207.

Toyohara, H.; Sakata, T.; Yamashita, K.; Kinoshita, M. y Shimizu, Y. (1990). Degradation of oval-filefish meat gel caused by myofibrillar *proteinase*. *J. Food Sci.*, 55, 364-368.

Venugopal, V. y Shahidi, F. (1995). Value-added products from underutilized fish species. *Critical Rev. in Food Sci. and Nutrition*, 35 (5) 431-453.

Vyncke, W. (1981). pH of fish muscle: comparison of methods. En: Western European Fish Technologists' Asociation (WEFTA), Copenhagen, Dinamarca.

Wada, S. (1992). Quality and lipid change of sardine meat by high pressure treatment. En: *High and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J.

Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 235-238.

Wada, S. e Ide, S. (1991). Effect of high pressure treatment on fish muscle lipid. En: *High Pressure Science for Foods*; Hayashi, R. (Ed.); Kyoto Univer.: Uji Kyoto, Japón, 293-298.

Watanabe, M. y Arai, S. (1994). Bacterial ice-nucleation activity and its application to freeze concentration of fresh foods for modification of their properties. *J. Food Eng.*, 22, 453-473.

Winter, R. (1995). High pressure effects on the structure, phase behaviour and dynamics model membranes systems. En: International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology; Kyoto, Japón.

Wu, Y.J.; Atallah, M.T. y Hultin, H.O. (1991a). The proteins of washed, minced fish muscle have significant solubility in water. *J. Food Biochem.*, 15, 209-218.

Wu, Y.J.; Atallah, M.T.; Hultin, H.O. y Bakir, H. (1991b). Relation of water solubility of fish muscle proteins to gel formation in the absence of salt. En: *Proc. Tropical Subtropical Fish. Technol. Conf.*; Florida, USA, 275-284.

Yamamoto, K.; Miura, T. y Yasui, T. (1990). Gelation of myosin filament under hydrostatic pressure. *Food Struct.*, 9, 269-277.

Yamamoto, K.; Hayashi, S. y Yasui, T. (1993). Hydrostatic pressure-induced aggregation of myosin molecules in 0.5M KCl at pH 6.0. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57 (3) 383-389.

Yamamoto, K.; Yoshida, J.; Moria, J. y Yasui, T. (1994). Morphological and physicochemical changes in the myosin molecules induced by hydrostatic pressure. *J. Biochem.*, 116, 215-220.

Yoshioka, K.; Kage, Y. y Omura, H. (1992). Effect of high pressure on texture and ultrastructure of fish and chicken muscles and their gels. En: *High pressure and Biotechnology*. Balny, C.; Hayashi, R.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); J.

Libbey/INSERM: París/Londres, Francia/Inglaterra, 224, 325-327.

Yoshioka, K.; Yamada, A. y Maki, T. (1995). Application of high pressurization to fish meat: Changes in physical properties of carp skeletal muscle resulting from high pressure thawing. En: International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology; Kyoto, Japón.

Young, K.W. y Whittle, K.J. (1985). Colour measurement of fish minces using Hunter L, a, b values. *J. Sci. Food Agric.*, 36, 383-392.

Ziegler, G.R. y Foegeding, E.A. (1990). The gelation of proteins. En: *Advances in Food and Nutrition Research*; Kinsella, J.E. (Ed.); Academic Press: Nueva York, USA, 34, 203-298.

ZoBell, C.E. (1970). Pressure effects on cellular processes. En: *High pressure effects on cellular processes*; Zimmerman, A.M. (Ed.); Academic Press: Nueva York, USA, 85-130.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

AD: adhesividad

CO: cohesividad

CRA: capacidad de retención de agua

DR: deformación hasta rotura

DU: dureza

EL: elasticidad

FR: fuerza hasta rotura

P: presión

PP: prueba de plegado

t: tiempo

T: temperatura

T1: gel térmico elaborado en el primer ensayo

T2: gel térmico elaborado en el segundo ensayo

TP: trabajo de penetración

