

**Breve resumen de la Tesis Doctoral de Miriam Pérez-Mateos
hidrocoloides en la gelificación del músculo de bacaladilla (*poutassou*) inducida térmicamente y por alta presión**

**“Estudio de
*Micromesistius***

El músculo picado de pescado por sí sólo presenta un rango de propiedades funcionales limitado que depende principalmente de la calidad de la proteína miofibrilar. Mediante la adición de aditivos gelificantes o coadyuvantes de la gelificación o por la aplicación de diferentes tratamientos de gelificación (presión-tiempo-temperatura) se puede ampliar las características de los geles. El objetivo general de este trabajo es definir texturas que sirvan de base para la fabricación de nuevos productos de pescado por medio de adición de diferentes hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato iota, carragenato kappa, carboximetilcelulosa, alginato sódico) y por diferente tratamiento de gelificación (térmico y de alta presión) a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*).

Se determinaron las características reológicas (prueba de plegado, ensayo de penetración y de compresión), propiedades físico-químicas (capacidad de retención de agua y color), calorimetría diferencial y análisis estructural tanto óptica como electrónica. En primer lugar, se optimizaron las condiciones de gelificación del músculo sin adición de hidrocoloides; ya que las condiciones de presión-tiempo-temperatura varían según la especie. Después, se realizó el estudio comparativo de las características de los geles con adición de los diferentes hidrocoloides junto con diversos cationes. Se observó, en la mayoría de los casos, los geles inducidos por presión a 375 MPa y calentamiento moderado se caracterizaron, principalmente, por ser muy elásticos, poco cohesivos y poco adhesivos. Los inducidos a 200 MPa en frío se caracterizaron por ser muy cohesivos, poco elásticos y poco adhesivos. Mientras que los geles elaborados térmicamente a presión atmosférica fueron muy adhesivos y elásticos, pero poco cohesivos. Estructuralmente los hidrocoloides se distribuyen con diferente morfología dentro de la matriz proteica tanto debido al tipo de hidrocoloide como al tratamiento de gelificación.

Así, el efecto de los hidrocoloides es diferente según las condiciones de gelificación, lo cual permite aumentar las posibles aplicaciones industriales para la elaboración de productos reestructurados de pescado.

The general objective of the work carried out for this thesis was to study thermally or high-pressure induced gelation in muscle of blue whiting (*Micromesistius poutassou*), and the incorporation of hydrocolloids in this process in order to produce varying gel characteristics.

This was approached by way of two partial objectives: 1) gelation by thermal treatment at atmospheric pressure and 2) gelation by high pressure at various different temperatures and comparison with heat-induced gels. The procedure in the first case was to determine the effect of adding various hydrocolloids (namely locust bean, guar, xanthan, iota and kappa carrageenan, carboxymethylcellulose and alginate) at different concentrations and in the form of binary mixtures, and to determine the influence of addition of salts.

Procedure in the second case was to study the gelation conditions for blue whiting muscle: pressure (200-420 MPa)-time (10-30 min)-temperature (0-37 °C). A comparative study was also made of the characteristics induced in hydrocolloid-containing gels by different pressure-time-temperature conditions.

M^a PILAR MONTERO GARCÍA, INVESTIGADORA CIENTÍFICA DEL INSTITUTO DEL FRÍO DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC), COMO DIRECTORA DE LA TESIS DOCTORAL

Y AMALIA HERNANDEZ GARCÍA COMO DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALA

CERTIFICAN: Que el presente trabajo titulado "Estudio de hidrocoloides en la gelificación del músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso) inducida térmicamente y por alta presión", que constituye la Memoria que presenta la Licenciada en Farmacia Miriam Pérez Mateos para optar al Grado de Doctor, reúne los requisitos necesarios para su defensa y aprobación.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Alcalá de Henares a 20 de mayo de mil noventa y ocho.

Dra. M^a Pilar MONTERO GARCÍA

Dra. Amalia HERNANDEZ GARCÍA

M^a PILAR MONTERO GARCÍA, INVESTIGADORA CIENTÍFICA DEL INSTITUTO DEL FRÍO DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC), COMO DIRECTORA DE LA TESIS DOCTORAL

Y AMALIA HERNANDEZ GARCÍA COMO DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALA

CERTIFICAN: Que el presente trabajo titulado "Estudio de hidrocoloides en la gelificación del músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso) inducida térmicamente y por alta presión", que constituye la Memoria que presenta la Licenciada en Farmacia Miriam Pérez Mateos para optar al Grado de Doctor, reúne los requisitos necesarios para su defensa y aprobación.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Alcalá de Henares a 20 de mayo de mil noventa y ocho.

Dra. M^a Pilar MONTERO GARCÍA

Dra. Amalia HERNANDEZ GARCÍA

DR. TAISIR MASOUD MUSA, VICEDECANO DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ COMO PONENTE DE LA TESIS DOCTORAL

RATIFICA:Que el presente trabajo titulado "Estudio de hidrocoloides en la gelificación del músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso) inducida térmicamente y por alta presión", que constituye la Memoria que presenta la Licenciada en Farmacia Miriam Pérez Mateos, cumple los requisitos establecidos por la Normativa Reguladora de los Estudios de Doctorado para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Madrid a 20 de mayo de mil noventa y ocho.

Dr. Taisir MASOUD MUSA

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
FACULTAD DE FARMACIA

ESTUDIO DE HIDROCOLOIDES
EN LA GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE
BACALADILLA (*Micromesistius poutassou*, Risso)
INDUCIDA TÉRMICAMENTE Y POR ALTA PRESIÓN

TESIS DOCTORAL

Miriam PÉREZ MATEOS
1998

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
FACULTAD DE FARMACIA

**ESTUDIO DE HIDROCOLOIDES
EN LA GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE
BACALADILLA (*Micromesistius poutassou*, Risso)
INDUCIDA TÉRMICAMENTE Y POR ALTA PRESIÓN**

Memoria presentada por Miriam Pérez Mateos
para optar al **Grado de Doctor 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
SKW BIOSYSTEMS, Rubí (Barcelona)
Mayo 1998

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a la Dra. Pilar Montero por la dirección de esta Tesis, así como por su ayuda y constantes orientaciones en el transcurso de estos años.

Al Dr. Taisir Masoud, Vicedecano de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá, mi gratitud por aceptar la ponencia de esta Tesis y por su amable disposición en todo momento.

Asimismo, deseo destacar al Dr. Roberto Xalabarder, Director de I+D de SKW Biosystems S.A., por su generosa ayuda y accesibilidad para el buen desarrollo del trabajo.

A Laura Barrios, Jefe del Servicio de Estadística e Investigación Operativa del Centro Técnico de Informática del CSIC, por la realización del tratamiento estadístico de los datos.

A la Dra. M^a Teresa Solas, del Departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, por su colaboración en el estudio de microscopía electrónica.

Al Instituto del Frío, por brindarme sus instalaciones, y a todo el personal, por su afabilidad y colaboración. En particular, un reconocimiento especial a José-Luís Hurtado, por su contribución en la parte de microscopía óptica. Al Dr. Fernando Fernández-Martín, por el estudio calorimétrico de las muestras.

A la Dra. Carmen Gómez-Guillén, por estar a mi disposición especialmente en los últimos momentos. A la Dra. Paloma Fernández, por su ayuda en la presentación de la Tesis. A Carmen de la Mata y a José-Luís Corbí, por su ayuda en el laboratorio. A Montse Jara, por la nota de color en las gráficas. También dejo expresa constancia de mi gratitud al Dr. A. Javier Bordenías, por su continuo

estímulo y apoyo constante, además de por proporcionarme consejos científicos y técnicos durante estos cuatro años.

A todos mis compañeros que lograron aficionarme, con ayuda de alguna que otra cervecita, a los partidos de futbito. Muy especialmente, a los que " echaron una mano " a tantos y tantos kilos de bacaladilla. Finalmente, quiero mencionar especialmente a mis compañeros y amigos: Garbi, Paloma y José-Luís.

Este trabajo ha sido financiado por los siguientes proyectos:

- Interacción de las altas presiones y del tratamiento térmico sobre las características de diversos alimentos y su conservación (ALI97-07-59)*
- Estudio de las altas presiones en distintos tipos de alimentos (06G-053-96)*
- Interacción entre ingredientes y constituyentes del músculo. Estudio de los mecanismos y desarrollo de productos (ALI97-06-84).*

Agradezco la concesión de una beca predoctoral del Programa Nacional de Formación de Personal Investigador durante el período 1994-1998 a la Dirección General de Investigación Científica y Técnica del Ministerio de Educación y Cultura.

I.- INTRODUCCION	1
1.- PRODUCTOS REESTRUCTURADOS DE PESCADO.....	3
2.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE PESCADO.....	7
2.1.- GELIFICACIÓN PROTEICA.....	8
2.2.- CARACTERÍSTICAS DE LOS GELES.....	16
3.- INCORPORACIÓN DE HIDROCOLOIDES.....	19
3.1.- CARACTERÍSTICAS DE LOS HIDROCOLOIDES.....	20
3.2.- GELIFICACIÓN.....	31
II.- OBJETIVOS	47
III.- DISEÑO DEL EXPERIMENTO	51
IV.- MATERIALES Y METODOS	57
1.- MATERIALES.....	59
1.1.- ESPECIE UTILIZADA.....	59
1.2.- ADITIVOS Y REACTIVOS.....	59
2.- MÉTODOS.....	60
2.1.- PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	60
2.2.- ANÁLISIS DE LOS CONSTITUYENTES MAYORITARIOS.....	61
2.3.- ELABORACIÓN DEL GEL.....	62
2.4.- ANÁLISIS DE LOS GELES.....	64
2.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	71

V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	81
1.- GELIFICACIÓN TÉRMICA A PRESIÓN ATMOSFÉRICA.....	83
1.1.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO.....	83
1.2.- GELIFICACIÓN CON ADICIÓN DE HIDROCOLOIDES.....	88
1.3.- INFLUENCIA DE CATIONES.....	115
1.4.- CARACTERÍSTICAS DE LAS FÓRMULAS SELECCIONADAS.....	190
1.5.- MEZCLAS BINARIAS DE HIDROCOLOIDES.....	215
2.- GELIFICACIÓN INDUCIDA POR ALTA PRESIÓN.....	249
2.1.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO POR ALTA PRESIÓN.....	249
2.2.- GELIFICACIÓN POR ALTA PRESIÓN CON HIDROCOLOIDES.....	261
VI.- SUMARIO	341
VII.- CONCLUSIONES	349
VIII.- BIBLIOGRAFIA	357

1.- PRODUCTOS REESTRUCTURADOS DE PESCADO

La captura mundial de pescado fue de unos 110 millones de toneladas métricas en 1994, según los últimos datos de la FAO (Food and Agriculture Organization) (1996). Las capturas infrautilizadas llegan a alcanzar un volumen de un 30 % de la pesca total, del cual, tan sólo un 42 % se destina al consumo humano (Venugopal y Shahidi, 1995). En el caso de la bacaladilla, su captura es fortuita, por lo cual, su volumen mundial tan sólo alcanzó 0,5 millones de toneladas métricas, de las cuales, un 10 % corresponden a capturas españolas.

Uno de los objetivos de la FAO y de la Unión Europea es mejorar la utilización de las capturas infrautilizadas destinándolas al consumo humano; es decir, potenciar el aprovechamiento de especies infravaloradas como fuente de proteínas, siendo uno de los mejores ejemplos es la elaboración de productos reestructurados de pescado (Niwa *et al.*, 1988a,b; Stone y Stanley, 1992; Lanier, 1994; Hall y Ahmad, 1997).

Actualmente, se estima un aumento de la demanda de productos derivados del pescado en los países desarrollados, por ser éstos una fuente rica de proteínas de fácil digestibilidad, con un importante contenido en ácidos grasos insaturados, vitaminas y minerales. La bacaladilla es una de estas especies de gran interés para la preparación de productos reestructurados de pescado (Moral y Borderías, 1981; Ofstad *et al.*, 1992; MacDonald *et al.*, 1994; Venugopal y Shaidi, 1995).

En las últimas décadas, la demanda del consumo de alimentos ha estado dirigida a productos de fácil preparación, buena digestibilidad y bajo contenido calórico, sin aditivos artificiales. La incorporación de hidrocoloides de origen natural y la aplicación de nuevas tecnologías como la alta presión, menos drásticas que el tratamiento térmico, ofrecen productos distintos con una gran diversidad de texturas (Ohlsson, 1994; Pérez-Mateos y Borderías, 1997).

Respecto a los aditivos, existe en el mercado una serie de productos como son proteínas, hidrocoloides y diversas sales. Se consideran aditivos aquellos productos, no naturales del alimento, adicionados intencionadamente, sin considerar su valor nutritivo, con la función de mejorar las características

organolépticas o su conservación o como sustancias coadyuvantes del proceso tecnológico. Los aditivos gelificantes o coadyuvantes de la gelificación más utilizados son las proteínas no musculares (como la albúmina de huevo, proteína bovina, aislado de soja) y algunos hidrocoloides como almidones, ι -carragenato (Borderías *et al.*, 1996; Gómez-Guillén y Montero, 1996, 1997; Gómez-Guillén *et al.*, 1996c, 1997a,c) y diversas sales como el tripolifosfato que actúa como coadyuvante de la gelificación por facilitar la disociación del complejo actomiosina contribuyendo favorablemente en el proceso (Okunaga y Nishioka, 1987).

Muchos de los hidrocoloides se extraen de algas o de semillas, comúnmente denominados gomas, seleccionados por sus propiedades funcionales de alta capacidad de retención de agua, propiedades espesantes o gelificantes. Su aplicación industrial resulta interesante por mostrar su acción incluso a bajas concentraciones (Tolstoguzov y Braudo, 1983; Dziezak, 1991; Towle, 1995; Trius y Sebranek, 1996; Armengol, 1997), así como las mezclas de hidrocoloides, por dar lugar a productos reestructurados con nuevas características sensoriales (Morris, 1986; Doublier *et al.*, 1993; Ma y Barbosa-Cánovas, 1993; Hart *et al.*, 1994; Izzo *et al.*, 1995).

Además, el interés de la industria alimentaria en los últimos años está enfocado al desarrollo de "alimentos funcionales", esto es, alimentos procesados que contengan ingredientes naturales con efectos beneficiosos para la salud (Goldberg, 1994). Dentro de este grupo podrían incluirse los productos alimenticios con hidrocoloides, ya que las gomas presentan efectos beneficiosos para la salud por actuar como fibras dietéticas.

1.1.- BACALADILLA

La bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso 1826), conocida vulgarmente también como bacaladitos (Fig.1), de la misma familia que el bacalao (*Gádidos*) pero más pequeña y alargada (30 cm, 130-180 g).

El músculo de esta especie es bastante blanco, magro y con un sabor agradable, pudiéndose utilizar para la fabricación de *surimi* de bastante buena calidad gelificante (Whittle y McDonald, 1982; Connell y Hardy, 1987; Suzuki, 1981; Ofstad

et al., 1992; MacDonald *et al.*, 1994). Es común en el Atlántico Norte y en el Mediterráneo. Se captura en superficie y también a profundidades de 300-400 m, por lo cual, podría considerarse como semipelágica. Se trata de una especie estacional, con una gran variabilidad según la época del año y de rápida degradación (Smith *et al.*, 1980; Whittle y McDonald, 1982). Así en febrero, se encuentra en fase de predesove con un contenido de agua de alrededor el 80 %; en marzo, la mayoría de la bacaladilla está en fase de desove; y a partir de abril, tras el desove, se encuentra depauperada con un elevado contenido de humedad de hasta un 84 % y, por tanto, menor contenido en el resto de constituyentes (grasa, proteína), lo cual, origina un músculo blando y más susceptible a alteraciones que el capturado en invierno (Afolabi *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1980; Huidobro y Tejada, 1995).

1.2.- ALTAS PRESIONES

La aplicación de las altas presiones hasta finales del siglo XIX estuvo limitada al sector de la metalurgia y la cerámica. La utilización de la alta presión en Tecnología Alimentaria está enfocada, principalmente, a la preservación y procesado de alimentos (Farr, 1990; Cheftel, 1992; Johnston, 1992; Ledward, 1994; Galazka y Ledward, 1995), a la destrucción de microorganismos y a la inactivación de enzimas. La acción de la presión se produce por igual en todo el producto, independientemente del tamaño o de la forma del producto, sin la degradación obtenida por los tratamientos clásicos (térmicos, químicos, ionización) (Hayashi, 1989; Shimada *et al.*, 1990, Horie *et al.*, 1991; Tamaoka *et al.*, 1991; Philippon y Voldrich, 1994; Knorr *et al.*, 1992).

La muestra se coloca en un envase cerrado y flexible, que permite 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, se mantiene constante durante todo el proceso sin aporte extra de energía al mantenerse en estanqueidad el vaso de presurización. Los equipos actuales trabajan en discontinuo, lo cual supone un inconveniente para su aplicación industrial que requiere procesos de fabricación en continuo; tan sólo,

4 Altas presiones

existen algunos equipos que trabajan en semicontinuo para muestras líquidas bombeables. Los equipos de alta presión constan básicamente (Fig.2): de una cámara de presurización, de un circuito de regulación de temperatura y de un sistema generador de presión (bomba hidráulica).

El tratamiento de alta presión surge como proceso alternativo a la gelificación térmica a presión atmosférica. La presión induce cambios conformacionales en la proteína, en las características organolépticas y la textura resultando un producto, con apariencia más fina y uniforme que la obtenida por tratamientos más drásticos como son las temperaturas elevadas.

En los últimos años, se han realizado algunos trabajos sobre la gelificación del músculo picado de pescado por medio de alta presión. Dichos geles se caracterizan, generalmente, por presentar una superficie lisa y brillante, por ser más deformables que los obtenidos por tratamiento térmico a presión atmosférica, por mantener el olor característico de la materia prima (Hayashi, 1989; Okamoto *et al.*, 1989; Farr, 1990; Shoji *et al.*, 1990; Chung *et al.*, 1994; Pérez-Mateos *et al.*, 1997a,b) y por mejorar la gelificación de las proteínas miofibrilares que poseen baja capacidad gelificante cuando la gelificación se realiza a presión atmosférica (Pérez-Mateos y Montero, 1997). Algunos autores han encontrado ventajas en el uso combinado de presión y temperatura simultánea o consecutivamente (Ko *et al.*, 1990; Ishikawa *et al.*, 1991; Dumoulin *et al.*, 1997). Ikeuchi *et al.* (1992) y Fernández-Martín *et al.* (1998) observaron que la presión originó la desnaturalización de las principales proteínas miofibrilares: actina y miosina.

2.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO DE PESCADO

Los productos reestructurados se elaboran partiendo de restos de músculo de especies nobles o de músculo de especies infrautilizadas, tanto en forma de trozos de filetes, como de pequeños filetes enteros o bien de músculo picado, lo cual, permite valorizar estas especies con bajo valor comercial. Algunas de las causas de su escaso aprovechamiento son: su pequeño tamaño, alto número de espinas, color de la piel, sabores extraños o muy fuertes, textura excesivamente blandas o, por el contrario, muy duras (Karmas y Lauber, 1987; Whittle y Hardy, 1990; Venugopal y Shahidi, 1995).

Se requiere una manipulación tecnológica adecuada para la obtención del músculo picado (Suzuki, 1981; Borderías y Pérez-Mateos, 1996). Primeramente, se procede a eliminar la cabeza y las vísceras, fuente importante de microorganismos y de enzimas proteolíticas que afectarían a la capacidad gelificante de la proteína miofibrilar. A continuación, se elimina 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, nitrógeno no proteico, restos de sangre, pigmentos y grasa que interferirían en el proceso de gelificación. Además, de esta manera se obtiene una materia prima más homogénea en constituyentes básicos, color y sabor, independientemente del estado fisiológico del animal. Tras el lavado y gracias al prensado, se consigue concentrar la proteína miofibrilar. Se añaden crioprotectores para prolongar el tiempo de conservación del músculo picado en estado congelado, que actúan principalmente por tensión superficial y retención de agua (Moral y Borderías, 1981; MacDonald y Lanier, 1991).

La obtención de *surimi* sería el caso más extremo de procesado del pescado, ya que se trata de un músculo picado lavado varias veces y refinado (Lee, 1994; Spencer y Tung, 1994). Por tanto, la utilización de músculo de pescado picado, en vez de *surimi*, da lugar a una reducción de costes de fabricación (por su mayor rendimiento, menor procesado, menor volumen de aguas de vertido, etc); aunque también con una menor capacidad gelificante ya que no se eliminan en su totalidad proteínas sarcoplásmicas, tejido conectivo, grasa.

2.1.- GELIFICACIÓN PROTEICA

La fabricación de productos análogos a partir de músculo picado se basa fundamentalmente en la gelificación de la proteína miofibrilar (Lee, 1994; Stone y Stanley, 1992; Tejada, 1994; Borderías y Pérez-Mateos, 1996). Primeramente, se lleva a cabo una etapa de solubilización de la proteína por medio de la homogeneización del músculo picado con diversas sales hasta obtener un estado de *sol* y, seguidamente, la etapa propia de gelificación en la que se produce la agregación ordenada de la proteína miofibrilar, habitualmente inducida térmicamente y, recientemente en fase de investigación y desarrollo, por alta presión (Hayashi, 1989; Ko *et al.*, 1990; Yamamoto *et al.*, 1990; Chung *et al.*, 1994).

La etapa de homogeneización del músculo picado de pescado con sal para solubilizar la proteína miofibrilar, es fundamental para lograr una adecuada gelificación. El músculo adquiere un aspecto de pasta viscosa al pasar la actomiosina a estado de *sol* (Fig.3). La concentración máxima de sal viene condicionada desde el punto de vista nutricional, y la mínima, por la fuerza iónica necesaria para la solubilización, habitualmente 1-3 % NaCl (Janier, 1994; Wu *et al.*, 1991; Hultin *et al.*, 1995).

La concentración de sal para la homogeneización puede ser menor, e incluso nula, si posteriormente se somete a un tratamiento de alta presión (Shoji *et al.*, 1990; Ishikawa *et al.*, 1991; Cheftel y Culioli, 1997). Aunque según otros autores (Serrenes *et al.*, 1996; Carlez *et al.*, 1995) es aconsejable unos niveles mínimos de sal para asegurar la solubilización proteica por alta presión e imprescindible en la gelificación térmica a presión atmosférica.

En este sentido, los geles presurizados de *surimi* de carpa y de caballa sin adición de NaCl mostraron valores superiores de dureza que los obtenidos en los geles elaborados por tratamiento térmico (Yoshioka *et al.*, 1992). Pérez-Mateos *et al.* (1997a) observaron que el contenido de NaCl fue decisivo en la gelificación por alta presión del músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) con adición de

almidón, obteniéndose mayores características reológicas con una concentración baja de NaCl (1%).

Una vez solubilizada la proteína miofibrilar, se añaden los ingredientes y/o aditivos que forman parte de la formulación del gel, procediendo nuevamente a la homogeneización hasta obtener una masa homogénea. El proceso se suele realizar a vacío para evitar la aparición de burbujas en el producto y, además, reducir así la oxidación de las proteínas e incrementar la capacidad de formación del gel; todo ello con control riguroso de la temperatura, que no debe superar los 10 °C, evitando de este modo que se produzca la desnaturalización de la proteína y, consecuentemente, el comienzo antipado de la gelificación proteica.

La baja funcionalidad que a veces presenta el músculo picado puede ser modificada por la adición de agentes gelificantes o coadyuvantes de la gelificación. Dichos aditivos modifican notablemente las características del gel dependiendo de la calidad de la proteína miofibrilar (Foegeding y Ramsey, 1987; Kim y Lee, 1987; Lee *et al.*, 1992; Gómez-Guillén y Montero, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1996a, 1997a; Huang *et al.*, 1997). Cuando el músculo picado es de buena calidad, la adición de agentes gelificantes o coadyuvantes de la gelificación disminuye las propiedades reológicas del producto, siendo sólo interesante, si se desea debilitar la excesiva elasticidad y firmeza que generalmente presenta. Cuando es de baja calidad, la incorporación de estos aditivos pretende mejorar las características del producto aumentando la funcionalidad de las proteínas, principalmente, su capacidad gelificante y la capacidad de retención de agua (Lee, 1994).

La etapa de asentamiento es un paso previo a la formación del gel definitivo, se trata de la aplicación de un calentamiento moderado a temperaturas inferiores a 40 °C durante tiempos cortos (30 min-1 hora) o a temperaturas de refrigeración (<10 °C) durante tiempos largos (4-24 horas), se origina un gel traslúcido y elástico denominado con el término japonés *suwari* (Suzuki, 1981). Los enlaces que se forman durante el asentamiento son principalmente interacciones hidrofóbicas (Wu *et al.*, 1985a; Niwa, 1992) y, también, enlaces covalentes por la acción de la *transglutaminasa* (Seki *et al.*, 1990; Niwa, 1992; Nowsad *et al.*, 1996; Imai *et al.*, 1996).

¡Error! Marcador no definido. Gelificación proteica

En algunas especies, esta fase previa de asentamiento no resulta benéfica, siendo mejor el calentamiento directo a temperaturas superiores a 75°C; en otras ni favorece ni perjudica, como es en el caso de los cefalópodos (Gómez-Guillén *et al.*, 1996b, 1997c; Nagashima *et al.*, 1992); y en otras especies, como en abadejo de Alaska y sardina, resulta imprescindible para obtener geles definitivos más elásticos (Shimizu *et al.*, 1981; Álvarez *et al.*, 1995; Montero y Gómez-Guillén, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1997b; Álvarez y Tejada, 1997). Shimizu *et al.* (1981) clasificaron varias especies según las características del asentamiento y la desintegración de la red a temperaturas elevadas.

La contribución de la presión conduce a cambios de la estructura del gel a bajas temperaturas durante tiempos cortos, así el gel tipo *suwari* se produce presurizando a temperaturas inferiores a 40 °C durante una hora (Ko, 1996). Aunque los geles inducidos por presión presentan una apariencia de gel tipo *suwari*, sus características reológicas, físicas y estructurales son diferentes (Montero *et al.*, 1997b).

El asentamiento previo al proceso de presurización, a temperaturas moderadas (37 °C, 30 min) o a temperaturas bajas (5°C, 24 horas) no originó modificaciones en los geles presurizados de *surimi* de *Nemipterus tambuloides*, mientras que en el caso del tratamiento a presión atmosférica, especialmente, el asentamiento a temperaturas moderadas, mejoró la fuerza hasta rotura y la deformación del gel (Carlez *et al.*, 1995). Por el contrario, el asentamiento a 4 °C durante 24 horas, previo a la presurización del músculo de faneca plateada (*Pollachius virens*), favoreció la obtención de geles con mayores valores de fuerza hasta rotura (Serrennes *et al.*, 1996). Gilleland *et al.* (1997) indicaron que este efecto se debía a la acción de las *transglutaminasas* a 25 °C, independientemente del proceso de presurización, ya que sólo se incrementó el trabajo de penetración en los geles de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) inducidos por alta presión con una etapa de asentamiento (a 25 °C durante 180 min) previa al calentamiento final a 90 °C durante 30 min. Esto pone nuevamente en evidencia que las diversas etapas del proceso de gelificación y, en este caso, el asentamiento dependen de las características intrínsecas de cada especie.

Al calentar durante un tiempo prolongado a temperaturas entre 50-60 °C, se produce la destrucción irreversible de la estructura reticular del gel, fenómeno denominado con el término japonés de *modori*, y que depende en gran medida de la especie de pescado (Nagaisha *et al.*, 1981). Existen varias hipótesis que intentan explicar el mecanismo de acción de este proceso: la termocoagulación de la proteína miofibrilar y/o la degradación proteolítica de la miosina por acción de *proteasas termoestables* (Makinodan e Ikeda, 1971; Kinoshita *et al.*, 1990; Toyohara *et al.*, 1990; Suwansakornkul *et al.*, 1993; Itoh *et al.*, 1995).

Todos los cambios reológicos en el proceso de gelificación se traducen en modificaciones observables en microscopía electrónica. Barbut *et al.* (1996) realizaron un seguimiento de los cambios morfológicos del homogeneizado de carne en función de la temperatura de gelificación. Así tras la homogeneización con sal, se produce la pérdida de la estructura estriada del músculo. Después, se observó la formación de la estructura del gel debida a gelificación a bajas temperaturas durante tiempos prolongados; distinguiéndose mejor las fibras proteicas por calentamiento a 40 °C. La matriz proteica aparece densa con reducción del tamaño de las cavidades por calentamiento a temperaturas elevadas (70 °C).

Ko (1996) estudió la inhibición del *modori* de geles *suwari* de sabalote (*Chano chanos*) tras someter al homogeneizado a tratamiento de presurización de 300 MPa, 0 °C, 60 min previo al calentamiento. Por otra parte, el *modori* se produce a temperaturas superiores a 40 °C bajo el efecto de la presión (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a; Pérez-Mateos y Montero, 1997) frente a los 60°C a presión atmosférica.

Por último, cuando se somete al músculo homogeneizado con sal a un tratamiento térmico con temperaturas superiores a 60-70 °C, se produce un incremento en la firmeza del gel al adoptar este una estructura ordenada y de aspecto opaco, que da lugar al gel definitivo denominado gel tipo *kamaboko*.

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

¡Error! Marcador no definido. Gelificación proteica

hidrogel constituido por una matriz continua con agua atrapada en su interior (Ziegler y Foegeding, 1991; Niwa, 1992).

El grado de ordenación de la red depende de varios factores como son la especie, las condiciones de procesado (pH, concentración proteica, fuerza iónica) (Ferry, 1984; Kinsella, 1984; Yamamoto *et al.*, 1990; Lanier y Lee, 1992; Dalgleish y Hunt, 1995; Dickinson y McClements, 1996) y las condiciones del tratamiento (presión-tiempo-temperatura) (Yamamoto *et al.*, 1990; Okazaki, 1991; Okazaki y Nakamura, 1992).

El perfil de gelificación permite mediante un barrido térmico conocer las temperaturas más adecuadas para la correcta gelificación, resultando muy sensible a las transiciones de transformación *sol-gel*. Sin embargo, existe una limitación en este método por realizarse a temperatura no constante, y es la de no mantener las distintas temperaturas durante períodos de tiempo suficientemente prolongados para permitir la formación de los enlaces característicos a dichas temperaturas (Wu *et al.*, 1991). Por otro lado, se emplean pequeñas deformaciones de la muestra de las que no se puede predecir algunas propiedades reológicas determinadas por los ensayos hasta rotura (Hamann y Webb, 1979).

Ferry (1984) explicó el proceso de gelificación térmica mediante la desnaturalización proteica inducida por acción de la temperatura, que provoca cambios conformacionales que, tras el equilibrio de fuerzas atractivas y repulsivas, se agregarían progresivamente en una red tridimensional (Hermansson, 1979).

La miosina se combina con los filamentos de actina formando actomiosina. 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; Numakura *et al.*, 1985; Sano *et al.*, 1989 a,b; Shimizu *et al.*, 1983). La actomiosina de sabalote (*Chano chanos*) se mostró más sensible a la baja presión (100 MPa) en frío que a la temperatura moderada (35 °C) a presión atmosférica. No obstante, la desnaturalización inducida por tratamiento térmico a alta temperatura (90 °C, 10 min) fue mayor que la inducida por la presión a 100 MPa (Ko, 1996).

En el proceso de gelificación por presurización, la transición sol-gel se ve afectada por la presión (Okamoto *et al.*, 1990; Gekko, 1994) siendo la interacción miosina-actina la que se ve afectada principalmente (Kawai y Ooi, 1969). 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); y, en concreto, a nivel de la cadena pesada de miosina (Yamamoto *et al.*, 1990, 1993; Ikeuchi *et al.*, 1992; Shoji *et al.*, 1990, 1991, 1994; Ishizaki *et al.*, 1995). Aunque no se conoce profundamente el mecanismo de gelificación por alta presión, Iso *et al.* (1994) determinaron, por técnicas de calorimetría diferencial, que el mecanismo de gelificación en ambos procesos era en parte similar al de gelificación térmica.

La presencia de crioprotectores en el músculo picado de pescado inhibe, parcialmente, el efecto de desnaturalización proteica en la gelificación (d'Almeida *et al.*, 1987; Yoon *et al.*, 1991) 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).

Algunos autores describieron las diferentes características de los geles inducidos por presión respecto a los elaborados térmicamente: de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Ko *et al.*, 1990); de músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) (Ko *et al.*, 1990; Wada, 1992); de músculo de calamar (*Loligo bleekeri*) (Nagashima *et al.*, 1993); de merluza (*Merluccius productus*) y de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Chung *et al.*, 1994); de surimi de *Nemipterus tambuloides* (Carlez *et al.*, 1995); de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (Pérez-Mateos *et al.*, 1997b); de sardina (*Sardina pilchardus*) (Pérez-Mateos y Montero, 1997; Montero *et al.*, 1997b). Por lo general, los geles inducidos por alta presión son menos firmes y más deformables que los geles inducidos a presión atmosférica; pero con diferentes características según las condiciones de procesado y el estado de la materia prima.

¡Error! Marcador no definido. Gelificación proteica

La gelificación del músculo de pescado se puede inducir a presiones relativamente bajas, así por ejemplo, a 300 MPa 0°C 10 min para el *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Shoji *et al.*, 1990) y para el músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*) (Pérez-Mateos y Montero, 1997); a 200 MPa para el músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*). Sin embargo, condiciones de presurización superiores (400 MPa, 30 °C, 35 min) para músculo de faneca plateada (*Pollachius virens*) (Serrennes *et al.*, 1996). Además, se ha observado que para una misma especie, las características del gel son muy diferentes dependiendo de la materia prima. El tratamiento de alta presión aumenta, en general, las características reológicas de los geles elaborados con músculo picado de baja capacidad gelificante; mientras que en comparación las diferencias son menos apreciables o, incluso, el efecto se invierte si la capacidad gelificante por tratamiento térmico a presión atmosférica es elevada (Pérez-Mateos y Montero, 1997).

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 un resultado potenciador o inhibidor según las condiciones del tratamiento. Si el proceso de presurización se combina con tratamiento térmico, se contribuye a incrementar los enlaces covalentes de la cadena pesada de miosina y las interacciones hidrofóbicas, obteniéndose geles de buena calidad. Mientras que si el tratamiento térmico se realiza después de la presurización, se estabilizan los geles durante su conservación y se minimiza la magnitud de la presión necesaria para obtener la gelificación, aunque conlleva a una pérdida de la transparencia del gel (Ishikawa *et al.*, 1991; Shoji *et al.*, 1992).

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 gelificante, como en el caso del calamar (Nagashima *et al.*, 1993) y la del músculo picado ligeramente lavado, frente a la alta capacidad gelificante del *surimi*, y reducir la magnitud de la presión necesaria para gelificar (Ishikawa *et al.*, 1991). 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 rotura 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; Montero *et al.*, 1997b); mientras que la deformabilidad de geles de músculo de calamar (*Loligo bleekeri*) disminuyó frente a la de los geles inducidos sólo por presión (Miyagashima *et al.*, 1993).

Las diferentes características reológicas de los geles se corresponden con distintas estructuras. Así, los geles fuertes y elásticos presentan a nivel microscópico regiones muy densas y uniformes; en cambio, en geles débiles y poco elásticos, la distribución y tamaño de estas zonas es más irregular (Sato y Tsuchiya, 1992).

Según Couso (1994) se puede diferenciar dos tipos de estructuras (fibrosa y globular) en los geles de *surimi* de sardina (*Sardina pilchardus*), con predominio de una de ellas según las condiciones de elaboración del gel. Álvarez *et al.* (1993) observaron que la estructura fibrosa desapareció en geles de *surimi* de sardina (*Sardina pilchardus*) por calentamiento directo a 90 °C; mientras que coexistieron ambas estructuras en los geles elaborados por calentamiento en dos etapas. También Montero y Gómez-Guillén (1996), en geles de *surimi* de sardina (*Sardina pilchardus*) apreciaron una red más ordenada en el gel obtenido por doble tratamiento que el elaborado por calentamiento directo. Respecto a los geles inducidos por alta presión, los geles de músculo de sardina presentaron una matriz más densa y compacta que la matriz de los geles elaborados por tratamiento térmico (Pérez-Mateos y Montero, 1997).

Por otra parte, la adición de hidrocoloides modifica la estructura de los geles. Según DeFreitas *et al.* (1997a), la adición del κ -carragenato junto con las proteínas solubles de cerdo dio lugar a una matriz muy bien estructurada con una red altamente interconectada. La estructura de los hidrocoloides (goma garrofín, goma guar y goma xantana) al 0,5 % en sistema modelo aparece hinchada con algunas áreas fibrosas (Nnanna y Dawkins, 1996). Murayama *et al.* (1995a) describieron las estructuras de geles del κ -carragenato. En sistema puro forma estructuras densas con cavidades muy pequeñas y fibras largas; mezclado con goma garrofín forma una red de fibras finas distribuidas uniformemente y fibras más gruesas envolviendo

¡Error! Marcador no definido. *Gelificación proteica*

al resto de fibras; y con goma guar, una matriz con grandes cavidades y una red más débil y no muy estructurada.

A la vista de todos estos estudios, los tratamientos de presión y calor, ya sean aplicados individualmente o en combinación, y la adición de hidrocoloides ofrecen una mayor diversidad de características sensoriales en el producto gelificado.

2.2.- CARACTERÍSTICAS DE LOS GELES

2.2.1.- Reología

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 líquidos y la deformación plástica de los sólidos. Algunos autores utilizan indistintamente los términos de propiedades mecánicas y reológicas; sin embargo, hay que puntualizar que todas las propiedades reológicas son propiedades mecánicas pero no a la inversa, ya que no todas las propiedades mecánicas implican deformación.

Los alimentos se consideran sistemas heterogéneos, ya que se trata de mezclas de constituyentes químicos combinados en una estructura física compleja. La importancia de las propiedades reológicas en tecnología de alimentos es fundamental, por lo que, se utiliza como sistema de control de calidad, siendo muy útil para conocer la influencia de factores tales como la formulación de productos, las condiciones de procesado y el tratamiento de elaboración.

La textura es una de las propiedades sensoriales más importante de los geles de pescado, ya que determina el grado de aceptabilidad por parte del consumidor. El estudio reológico de los geles de pescado resulta muy útil para su determinación objetiva, ya que se correlaciona con la textura determinada por análisis sensorial; lo que permite, en parte, conocer el grado de aceptabilidad comercial del producto (Hamann y Webb, 1979; Borderías *et al.*, 1983).

Uno de los métodos para la evaluación de la textura está basado en el ensayo de penetración, mediante el cual se imitan las deformaciones que tienen lugar durante la masticación del alimento hasta la rotura del mismo. Las propiedades determinadas son la fuerza y deformación hasta rotura y el producto de ambos parámetros, trabajo de penetración, que comúnmente se denomina resistencia de gel (Bourne, 1982; Hamann y MacDonald, 1992). Lee *et al.* (1997) presentaron un nuevo método para la evaluación de la capacidad gelificante del *surimi* en fábrica, mediante la determinación de los cambios de trabajo de penetración con el tiempo. El *surimi* de alta calidad se caracteriza por presentar una evolución diferente

¡Error! Marcador no definido. Características de los geles

durante los 30 minutos primeros del asentamiento; mientras que el de inferior calidad gelificante presenta un comportamiento homogéneo durante todo el tiempo del asentamiento (4 horas a 40°C).

El ensayo del módulo de rigidez determina el perfil de gelificación mediante un barrido térmico, detecta cambios en las propiedades físicas del gel que se correlacionan con cambios moleculares (desdoblamiento de proteínas, formación y destrucción de determinados tipos de enlaces químicos).

Otros métodos para caracterizar texturalmente los geles están basados en los ensayos de compresión uniaxial, entre ellos, el ensayo de perfil de textura (TPA) y el de tensión por compresión. El primero es un ensayo imitativo de la masticación, se comprime dos veces la muestra del tamaño del mordisco; determina características del producto que se asimilan a términos de carácter sensorial como la dureza, la adhesividad, elasticidad y la cohesividad (Toda *et al.*, 1971; Bourne, 1982). El segundo, es un ensayo reológico fundamental, se basa en mantener durante cierto tiempo la muestra comprimida a un determinado porcentaje de deformación, permite explicar el comportamiento viscoelástico del producto mediante la determinación de la elasticidad del gel.

2.2.2.- Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua se puede definir como la habilidad que tiene la estructura de mantener el contenido en agua. Presenta gran interés desde el punto de vista industrial para evitar pérdidas de peso, mantener la calidad del producto, jugosidad y textura durante el período de conservación, y mostrar estabilidad suficiente frente al proceso de congelación/descongelación (Fout, 1988).

Para su interpretación es necesario conocer la microestructura del producto, saber si el agua se encuentra retenida en capilares o poros y tamaño de éstos: grandes poros pueden retener mayor cantidad de agua que las cavidades pequeñas, pero también la libera más fácilmente (Hermansson, 1986; Gómez-Guillén *et al.* 1997d; Montero *et al.*, 1997a). Las cavidades se pueden observar a bajos aumentos (< 500), según su diámetro se pueden clasificar en: microporos o microcavidades,

cavidades medianas y cavidades grandes o macrocavidades. La gelificación no se produce en una única orientación en el gel, por lo cual, se encuentran secciones diferentes de dichas cavidades según el corte de la muestra. La presencia de cavidades irregulares puede también deberse a la coalescencia de algunas cavidades adyacentes de menor tamaño.

Esta propiedad funcional depende del pH, concentración de sales, tipo de músculo (animal, especie), concentración proteica, presencia de hidrocoloides, condiciones del procesado de gelificación (tiempo, temperatura, presión), ya que todos estos factores influyen en la formación del gel (Hermansson, 1986; Foegeding y Ramsey, 1987).

Se modifica por la concentración y tipo de sales, ya que el agua se retiene dentro del gel por capilaridad y por puentes de hidrógeno, los cuales se ven afectados por las variaciones de carga de los grupos positivos y negativos de la estructura del gel (Bernal *et al.*, 1987). En geles de proteína de suero y de plasma, la pérdida de agua fue superior al incrementar el contenido de sal, lo cual se explica por el aumento del grado de agregación y engrosamiento de la matriz (Hermansson, 1986).

Es frecuente la adición de almidón u otro hidrocoloide para retener el agua que libera la proteína miofibrilar, quedando de este modo retenida en el conjunto de la matriz. Borderías *et al.* (1996) pusieron de manifiesto la necesidad de adición de hidrocoloides para proporcionar una buena capacidad de retención de agua, sobre todo si se utiliza proteína con baja capacidad funcional. También DeFreitas *et al.* (1997a) expusieron que el incremento de la capacidad de retención de agua por la adición del κ -carragenato, se debía probablemente a la formación de una matriz altamente interconectada y bien estructurada que era capaz de retener físicamente mayor cantidad de agua. Los geles inducidos por presión de homogeneizado de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) con 5 % almidón presentaron menor capacidad de retención de agua que los elaborados por tratamiento térmico, pudiendo ser debido a que las condiciones de presurización no fueron lo suficientemente elevadas para lograr la gelatinización del almidón (Pérez-Mateos *et al.*, 1997b).

¡Error! Marcador no definido. Características de los geles

Además de las condiciones de elaboración del gel, es fundamental el tipo de congelación. Así, Martí de Castro *et al.* (1997) observaron modificaciones en la capacidad de retención de agua de geles de sardina (*Sardina pilchardus*) debidas, por una parte, al proceso de congelación y, por otra, a la temperatura de conservación. Cuando la congelación fue lenta (-18 °C), se perdió parte de la capacidad de retención de agua; mientras que cuando fue rápida (-40 °C) no se produjeron cambios significativos. Respecto a la conservación de los geles, se detectaron pérdidas de retención de agua, especialmente, durante el primer mes de conservación a -18°C.

2.2.3.- Color

El tratamiento de gelificación provoca cambios en el color según las condiciones de presión, tiempo y temperatura, debido a las diferencias en el proceso de desnaturalización y agregación proteica. La determinación de las propiedades de luminosidad (L^*), tendencia a ciertas tonalidades como rojo (a^*) o amarillo (b^*) son de gran importancia en el análisis externo de los productos gelificados (Park, 1995).

Según sea el tratamiento de gelificación por alta presión o por tratamiento térmico, se han encontrado diferencias en el color, tanto en el músculo de carpa y de caballa, como en los geles de *surimi* de ambas especies (Yoshioka *et al.*, 1992); en músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) (Wada e Ide, 1991; Wada, 1992); en geles del manto de calamar (*Loligo bleekeri*) (Nagashima *et al.*, 1993); en geles de *surimi* de *Nemipterus tambuloides* (Carlez *et al.*, 1995); en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a); en geles de músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) (Pérez-Mateos y Montero, 1997). Por lo general, se observa que con la presión aumenta la luminosidad (L^*), decrece la tendencia al rojo (a^*) y no muestra variaciones significativas en la tonalidad amarilla (b^*) (Ohshima *et al.*, 1993; Okamoto *et al.*, 1990; Shoji *et al.*, 1990).

3.- INCORPORACIÓN DE HIDROCOLOIDES

Dentro de los hidrocoloides, los más utilizados son los distintos tipos de almidones, así como algunos carragenatos y alginatos. No obstante, los alginatos se emplean

principalmente como productos que al gelificar incluyen en su interior una cantidad de músculo de pescado. En cuanto a las proteínas, la más utilizada es la clara de huevo; la proteína aislada de soja y la proteína de plasma bovino están comenzando a utilizarse por analogía a su uso en los productos cárnicos, si bien, su incorporación viene limitada por su excesivo sabor.

Existen diversos estudios del comportamiento viscoelástico de los hidrocoloides en dispersión o el de mezclas de hidrocoloides (Ma y Barbosa-Cánovas, 1993, 1996) y de su interacción con proteínas en sistema modelo: por determinaciones calorimétricas (Tolstoguzov, 1986, 1988), por turbidez (Ohashi *et al.*, 1990a,b; Ambjerg Pedersen y Jørgensen, 1991; Ohashi *et al.*, 1991), por determinaciones reológicas (Ipsen, 1995, 1997). La interacción de la proteína miofibrilar dentro del miosistema se estudia de manera indirecta a través de la modificación de las características reológicas del gel (Lee y Kim, 1986; Niwa *et al.*, 1988b; Borderías *et al.*, 1996; Gómez-Guillén y Montero, 1996, 1997; Gómez-Guillén *et al.*, 1996c, 1997a,c). Cuando se usan varios gelificantes o espesantes simultáneamente, el efecto es diferente al obtenido cuando se utiliza por separado. Cada uno compete de diferente manera por el agua y sales disponibles, por lo cual, el resultado final puede diferir del observado individualmente.

3.1.- CARACTERÍSTICAS DE LOS HIDROCOLOIDES

Son polisacáridos que al ser disueltos o dispersados en agua manifiestan alta capacidad de retención de agua y de modificación de las características reológicas en distinto grado según las condiciones de elaboración del gel como por ejemplo: pH, temperatura, presión, hidratación y fuerza iónica.

En general, los hidrocoloides se utilizan como espesantes, gelificantes, estabilizantes y emulsificantes (Sanderson, 1981; Igoe, 1982; Maga y Fapojuwo, 1988; Niwa *et al.*, 1988a; Xalabarder, 1992; Phillips y Williams, 1995). Además de utilizarse como modificadores de la textura, presentan otras muchas funciones como, por ejemplo, la formación de recubrimientos naturales, actuando como barreras frente al aire y a la humedad (Subhashchandra-Shetty *et al.*, 1996) y como agentes sustitutos de la grasa (Lawless *et al.*, 1996; Fernández *et al.*, 1996).

Los **hidrocoloides espesantes** (galactomananas, λ -carragenato, alginatos alcalinos, goma xantana): son muy solubles, no gelifican por sí mismos. Los **hidrocoloides gelificantes** (pectinas de bajo metoxilo, κ -carragenato, ι -carragenato): son solubles en agua caliente, gelifican al enfriarse a temperatura ambiente y son termorreversibles. Además, pueden ser solubles en agua fría en presencia de sales.

Sin embargo, forman geles no termorreversibles los que son solubles en caliente en medio ácido. En el caso de los alginatos alcalinos en medio ligeramente ácido o en presencia de sales cálcicas, el gel presentará una ligera tendencia a ser termorreversible o, por el contrario, totalmente irreversible según la concentración de iones calcio. Un comportamiento similar muestran también las pectinas de alto metoxilo en presencia de azúcar en medio ácido; y las pectinas de bajo metoxilo en presencia de calcio.

El origen de los hidrocoloides es variado:

- * de extracción natural
 - de algas: alginatos, carragenatos, agar
 - de semillas: goma garrofín, goma guar, goma tara
 - de exudados de plantas: goma arábica, goma tragacanto, goma karaya
 - de tubérculos: almidón, konjac
- * como derivado de productos vegetales modificado químicamente:
carboximetilcelulosa, pectinas modificadas
- * como producto de la fermentación microbiana: xantana, goma gellán, dextranos.

Cada hidrocoloide presenta unas propiedades diferentes definidas por su estructura, que permiten su selección según el producto deseado (Clicksman, 1982; Shand *et al.*, 1993). Son macromoléculas cuyo peso molecular (P_m) varía según la técnica con la que se mida; ya que tienden a dispersarse, por lo cual, no pueden describirse realmente como una molécula simple (Dea y Morrison, 1975; Sanderson, 1996). La estructura secundaria es la conformación adoptada por una cadena, por ejemplo, el esqueleto de D-manosas; la terciaria es la formada por unión de dos cadenas, como la formación de la doble hélice del κ -carragenato; y la

cuaternaria es la debida a la asociación de diferente polisacáridos, como la interacción de los galactomananas (goma guar, garrofín) con el carragenato.

3.1.1.- Galactomananas

Se obtienen de semillas de leguminosa s. La goma garrofín o goma de algarrobo con un peso molecular de 310 kDa, se extrae de *Ceratonia siliqua* y la goma guar con un peso molecular estimado de 220 kDa, procede de *Cyamopsis tetragonoloba* (Dea y Morrison, 1975; Herald, 1986a,b). Se utilizan ampliamente en las industria alimentaria por su aplicación como espesantes, con un comportamiento pseudoplástico, originando mayor viscosidad cuanto mayor sea el grado de polimerización del hidocoloide.

Estas galactomananas (Fig.4) se diferencian entre sí por la relación galactosa:manosa (G:M). A mayor G:M, mayor solubilidad ya que la presencia de unidades galactosa sobre la cadena de manosa previene la asociación y favorece la solubilidad. Por esta razón, la goma guar (1:2) es más soluble que la goma garrofín (1:4) que requiere calentamiento (85 °C) para romper los agregados (Doublier y Launay, 1981).

Ambas gomas se usan en productos congelados (como helados), ya que evitan la formación de cristales grandes y controlan el crecimiento de éstos durante la conservación; y en gran variedad de productos, por mejorar la capacidad de retención de agua y evitar la sinéresis. La goma garrofín facilita la extrusión y embutido del producto y origina una chiclosidad típica de algunos productos cárnicos (Herald, 1986b). La goma guar, en comparación con otros hidocoloides a la misma concentración, confiere mayor viscosidad, da lugar a una textura blanda y, también, presenta propiedades de formación de películas protectoras (Herald, 1986a).

3.1.2.- Goma xantana

Es un polisacárido de origen microbiano, obtenido por fermentación de *Xanthomonas campestris*. Con un peso estimado de alrededor 5.000-10.000 kDa (Milas *et al.*, 1990; Bezemer *et al.*, 1993). Las aplicaciones de la goma xantana son

¡Error! Marcador no definido. Características de los hidrocoloides

muy diversas, se ha utilizado ampliamente como espesante y estabilizante: junto con carboximetilcelulosa como estabilizante de pulpa de cítricos; con goma guar o goma garrofín como estabilizante en productos lácteos; con alginato como estabilizante de batidos, salsas (Pettitt, 1982; Hart *et al.*, 1994).

La estructura de la goma xantana se muestra en la figura 5.1, se trata de una modificación de la celulosa, cinco residuos de azúcar: dos glucosas, dos manosas y un ácido glucurónico. Debido a su carácter aniónico y a la presencia de cadenas laterales es soluble en agua fría; sin embargo, en leche o medios con presencia de calcio se requiere agitación para conseguir su disolución.

La estructura celulósica de la xantana es compatible con la estructura básica de las galactomananas pero no con el κ -carragenato. Es sorprendente que la goma xantana pueda interactuar con la goma garrofín y que, sin embargo, no gelifique por sí misma (Cairns *et al.*, 1987). La goma xantana no gelifica pero forma agregados o microgeles. Las cadenas laterales tienden a inhibir la asociación molecular, sólo se forma dímeros que dan lugar a la formación de dobles hélices (Fig.5.2.a). La formación de microgeles podría explicarse por la asociación intermolecular de varias cadenas (Fig. 5.2.b). En solución, se encuentra en disposición lineal de vara rígida, estabilizada por interacciones entre la cadena de celulosa y las cadenas de azúcar laterales (Norton *et al.*, 1984). A baja concentración, presenta una estructura similar a la de un gel con una alta viscosidad (Sanderson, 1996; Xuewu *et al.*, 1996).

3.1.3.- Carragenatos

Denominados también carrageninas o carragenanos ($P_m = 100-500$ kDa). Están constituidos por polímeros sulfatados de unidades de D-galactosa unidas alternativamente por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 3)$ y $\beta(1 \rightarrow 4)$; en posición 4, pueden unirse el residuo 3,6-anhidro-D-galactosa y en posición 3, grupos sulfatos (Fig.6.1).

En un trabajo de revisión sobre los carragenatos, Ruitter y Rudolph (1997) presentan una nomenclatura alternativa a la comúnmente utilizada con letras griegas, desarrollada por Knutsen *et al.* (1994) más acorde con la normativa de la

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Donde el ι -carragenato se denominaría 2,4'-disulfato-carragenosa y el κ -carragenato: 4'-sulfato-carragenosa, siendo la estructura básica una secuencia alternativa de 3,6-anhidro-D-galactopiranososa unida por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y D-galactopiranososa unida por enlaces $\beta(1 \rightarrow 3)$.

Los carragenatos se clasifican en función del número y disposición de los grupos sulfato (Fig.6.1). Se denominan *kappa* (κ) cuando presenta un grupo sulfato por cada dos unidades de galactosa, es soluble en caliente (65 °C), requiriéndose mayor temperatura a mayor contenido en sales. *Iota* (ι) tiene dos sulfatos por cada dos residuos de galactosa, parcialmente soluble en frío y totalmente soluble en caliente (50 °C). *Lambda* (λ) exhibe tres grupos sulfatos por cada dos galactosas. La única diferencia entre *iota* y *kappa* es, por tanto, que el ι -carragenato contiene un grupo sulfato más en posición 2 del 3,6-anhidro galactosa.

A mayor grado de sulfatación, mayor solubilidad en frío (Glicksman, 1983; Morris, 1986; Gelymar, 1997; Ruitter y Rudolph, 1997). Los carragenatos *iota* y *kappa* forman geles termorreversibles; mientras que el λ -carragenato no gelifica, sólo presenta capacidad espesante con un comportamiento pseudoplástico. El κ -carragenato presenta sinéresis, mientras que el ι -carragenato es estable a la congelación/descongelación. Otras fracciones menos importantes son: *my* (μ) precursor de *kappa*, *ny* (ν) precursor de *iota*, *theta* (θ) derivado de *lambda* y *xi* (ξ).

Se extraen de las algas rojas (*Rhodophyceae*): *Gelidium*, *Chondrus*, *Gigartina*, *Eucheuma*, se obtienen mezclas de varios tipos de carragenatos, aunque predomine uno de ellos, esto es debido a que algas diferentes se recolectan juntas y no a que diferentes carragenatos estén presentes en la misma planta.

Los carragenatos tienen un carácter fuertemente aniónico, debido a la presencia de los grupos sulfatos, por lo que reaccionan con las proteínas a través de sus cargas eléctricas positivas, precipitando cuando el pH del medio es inferior al punto isoelectrico. El κ -carragenato presenta alrededor de un 25 % de grupo sulfatos y el ι -carragenato alrededor de un 32 % (Lanto *et al.*, 1990).

¡Error! Marcador no definido. Características de los hidrocoloides

Después del calentamiento para lograr la solubilización, las macromoléculas tienden a agregarse espontáneamente durante el enfriamiento. Los grupos sulfatos se localizan en la parte exterior de la cadena, permitiendo la agregación por la parte interior dando lugar a los dobles hélices interrumpidas en algunos puntos que actúan a modo de "bisagras"; gracias a estas zonas, las cadenas de carragenato pueden interaccionar con otras cadenas (Fig.6.2).

La gelificación del κ -carragenato se produce a través de zonas de unión de la doble hélice (Fig.6.3.b); sin embargo, en el ι -carragenato no se produce dicha agregación (Fig.6.3.a). La estructura de la doble hélice está estabilizada por puentes de hidrógeno, que se destruyen por el incremento de la temperatura, lo cual conduce a la formación de geles termorreversibles.

La gelificación con el ι -carragenato se ve favorecida por la presencia de calcio, originando un incremento de las características reológicas en geles de músculo de pescado (Bullens *et al.*, 1990; Llanto *et al.*, 1990; Lee y Chung, 1990). Parece ser que el ι -carragenato forma su propia red con apariencia transparente que en determinados puntos se une a la matriz proteica, reforzando así el gel (Gómez-Guillén *et al.*, 1996c). Presenta mejor capacidad de retención de agua que el κ -carragenato, por lo cual, previene la sinéresis durante el proceso de congelación - descongelación en los geles de pescado (Ponte *et al.*, 1985).

El κ -carragenato posee poca afinidad por la proteína miofibrilar, por lo que contribuye parcialmente a la formación de la red favoreciendo la gelificación (Niwa *et al.*, 1988b). Los iones alcalinos, en particular potasio por su pequeño tamaño en su forma hidratada, se unen a la hélice neutralizando parcialmente los grupos sulfatos, de este modo las dobles hélices se agrupan incrementando la rigidez del gel, aunque produce cierto grado de sinéresis y opacidad en el gel. Con los cationes calcio, se origina la agregación de las hélices dando lugar a geles débiles y quebradizos; sin embargo, el catión sodio en su estado hidratado es de mayor tamaño y no puede adentrarse en las hélices (Rees, 1969; Watase y Nishinari, 1982; Piculell, 1991; Fernandes *et al.*, 1991b; Braudo, 1992).

La adición de KCl, según el trabajo de Trius *et al.* (1994a), puede inducir la agregación de las dobles hélices del κ -carragenato resultando en una textura más blanda y con sinéresis. Según Braudo (1992), la conformación helicoidal no es un requisito para la gelificación, sino que los iones K^+ son los que inducen la formación de los enlaces intermoleculares. Piculell (1991) encontró que el efecto de los iones monovalentes sobre el ι -carragenato se debía a que contiene impurezas del κ -carragenato, ya que el ι -carragenato no presenta puntos de unión de iones específicos sino sólo debido a interacciones electrostáticas.

En la elaboración de productos análogos de pescado, se usan cantidades que oscilan entre 0,5 y 4 % (Llanto *et al.*, 1990; Lee *et al.*, 1992; Montero *et al.*, 1992; Borderías *et al.*, 1996; Gómez-Guillén y Montero, 1996, 1997; Gómez-Guillén *et al.*, 1996c, 1997c). También se utilizan en productos lácteos para mejorar la viscosidad de productos líquidos (Glicksman, 1983); en la fabricación de derivados de carne (Pedersen, 1977; Trius y Sebranek, 1996; Hughes *et al.*, 1997); y en la obtención de productos de confitería (Izzo *et al.*, 1995).

Los carragenatos son uno de los estabilizantes más utilizados en combinación con otros hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, carboximetilcelulosa); por ejemplo, en helados donde las galactomananas se utilizan, como se ha comentado anteriormente, para incrementar la capacidad de retención de agua y evitar la formación de cristales; en mezcla con goma xantana y goma guar en diversos postres; el κ -carragenato con goma garrofín aumenta la resistencia y la capacidad de retención de agua (Glicksman, 1983; Hart *et al.*, 1994).

3.1.4.- Carboximetilcelulosasódica

Comúnmente denominada goma de celulosa, es uno de los más importantes derivados de la celulosa, su estructura es una modificación de la celulosa con glicolato sódico (Fig.7.1). Presentan diferentes propiedades según el grado de modificación que muestran los productos comerciales ($P_m = 40-1.000$ kDa). Es soluble en agua fría y forma soluciones viscosas rápidamente. Los grupos carboxilo confieren carga negativa a la molécula. La propiedad espesante se debe, en parte, a las repulsiones entre los grupos cargados negativamente (Sanderson, 1996).

Error! Marcador no definido. Características de los hidrocoloides

Se ha utilizado como espesante, estabilizante y como modificador de las características reológicas de soluciones y suspensiones; y en combinación con otras gomas como agentes sustitutos de la grasa; disminuye la sinéresis del producto al captar el agua y, además, forma películas protectoras (Keller, 1986; Dziezak, 1991).

La figura 7.2.A ilustra la agregación de la carboximetilcelulosa en estado seco. Al disolverse en agua, interactúa con el medio abriendo las cadenas (Fig.7.2.B). El aumento de la solubilización del polímero, se produce cuando se embebe con el solvente y se rompen algunas de las asociaciones intermoleculares (Fig.7.2.C).

3.1.5.- Alginatos

Se emplean las sales alcalinas del ácido algínico. El ácido algínico es un polímero de los ácidos manurónico y gulurónico (Fig.8.1) cuyo peso molecular oscila entre 30 y 200 kDa.

Se obtienen a partir de las algas pardas (*Fucus, Laminaria*), en donde llegan a constituir el 40 % del mucílago. En la naturaleza, se encuentran como ácido algínico (forma insoluble); utilizándose como sal (sódica, potásica o amónica) por ser soluble. Los grupos carboxílicos se encuentran ionizados lo que origina una fuerte repulsión de las cadenas; son insolubles en aguas duras (ricas en calcio) ya que las cadenas de alginato se asocian, por lo que en estos casos, se requiere añadir un secuestrante de iones calcio o aplicar calentamiento para su solubilización. El alginato sódico es soluble en agua y en alcohol hasta el 30 %; pero insoluble en los disolventes orgánicos y en líquidos con acidez mayor a pH 3.

Se emplean variedades que, en solución al 1-2 %, abarcan desde 30 hasta 3.000 cP; aunque depende mucho de diversos factores como pH, temperatura y presencia de sales. El alginato sódico tiene aplicación como estabilizante de emulsiones y suspensiones; como aglutinante en la granulación; como gelificante en frío o en caliente, asentamiento en molde o en extrusionadora, gelificación instantánea o prolongada en el tiempo (King, 1983).

Los alginatos forman geles termorreversibles o irreversibles según la concentración de cationes polivalentes, especialmente, calcio y de la longitud de las zonas

regulares de gulurónico en un modelo de gelificación que se denomina de "caja de huevo" (Fig.8.2). Según Morris *et al.* (1973), el calcio interactúa preferentemente con los bloques de gulurónico más que con las regiones de manurónico. Por variación del grado de polimerización o por cambios en el entorno iónico, es posible obtener geles de rigidez variable, friables y quebradizos (Morris, 1986).

Se han utilizado fundamentalmente como gelificantes, englobando una cierta cantidad de músculo de pescado en el interior de la película que forman; pero muy poco como agentes coadyuvantes de la gelificación de la proteína miofibrilar del pescado. A pesar de la capacidad de formación de geles firmes en sistema modelo, al mezclarse con *surimi* debilitan la fuerza del gel. Sin embargo, pueden emplearse para texturizar y obtener una amplia variedad de productos (Clark, 1980; Rockower *et al.*, 1983; Bennett, 1989; Truong *et al.*, 1995), y de reestructurados fibrosos de pescado, elaborando las fibras por extrusión del alginato sobre un baño de sal cálcica (Carpenter *et al.*, 1975; Nakayama *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1992).

3.2.- GELIFICACIÓN DE LOS HIDROCOLOIDES

Existen muchos trabajos sobre la interacción de los hidrocoloides con las proteínas en sistema acuoso (Tolstoguzov, 1986; Ipsen, 1995). Son menos numerosos los trabajos en los que se estudie el efecto de la asociación hidrocoloide-proteína en miosistema (Lee y Kim, 1986; Niwa *et al.*, 1988b; Borderías *et al.*, 1996; Gómez-Guillén y Montero, 1996, 1997; Gómez-Guillén *et al.*, 1996c, 1997a,c) en los cuales el nivel de agua es inferior al necesario para su completa hidratación.

Los métodos de detección de la interacción hidrocoloide-proteína sólo determinan dicha asociación cuando se halla fuera del alimento (Tolstoguzov, 1986, 1988; Ohashi *et al.*, 1990a,b; Ambjerg Pedersen y Jørgensen, 1991; Ohashi *et al.*, 1991; Tolstoguzov, 1991; Ipsen, 1995). Las propiedades funcionales de la proteína del músculo del pescado picado dependen de las interacciones con otros componentes (proteína-agua, proteína-lípidos, proteína-proteína) produciendo un gel con determinadas propiedades texturales y de capacidad de retención de agua. El comportamiento de dicha asociación en el músculo picado de pescado difiere al del sistema modelo; por ejemplo, la goma guar es compatible con el alginato en

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloideos

sistema acuoso pero en cambio, interfiere en el desarrollo de la matriz del alginato cuando se encuentra en el sistema (Shand *et al.*, 1993).

La interacción de la proteína con el hidrocoloide es principalmente de naturaleza electrostática entre los grupos carboxílicos del hidrocoloide y los grupos positivos de la proteína (Imeson *et al.*, 1977; Bernal *et al.*, 1987; Ambjerg Pedersen y Jørgensen, 1991; Ohashi *et al.*, 1990a, 1991; Ustunol *et al.*, 1992). Pueden darse otro tipo de interacciones; pero si el tratamiento de gelificación favorece la agregación proteica, se pueden ver afectadas la formación de interacciones proteína-hidrocoloide (Bernal *et al.*, 1987). La interacción depende de la concentración y de la proporción entre hidrocoloideos (Arnaud *et al.*, 1989; Dea y Morrison, 1975; Tolstoguzov, 1986; Fernandes *et al.*, 1991b; Murayama *et al.*, 1995a,b; Artignan *et al.*, 1997). Según Fernandes y Raemy (1996), la interacción proteína-polisacárido se debe a la formación de enlaces mediante los grupos de carga opuesta de la proteína y de los hidrocoloideos aniónicos, especialmente con el κ -carragenato dicha interacción se refleja en un incremento del módulo viscoelástico.

La adición de sales pueden modificar estas interacciones por la presencia de cationes, como Na^+ , K^+ y Ca^{2+} (Rees, 1969; Miyoshi *et al.*, 1996; Sudhakar *et al.*, 1996). Según los trabajos de Ohashi *et al.* (1990a), los grupos sulfatos de los carragenatos quedan bloqueados por dichos iones, impidiendo que el hidrocoloide se una con la proteína mediante interacciones electrostáticas o iónicas.

La presencia de hidrocoloideos puede modificar el desarrollo de la etapa de asentamiento. Ma *et al.* (1996) hallaron un efecto antagónico entre la etapa de asentamiento y la presencia de almidón. Los polisacáridos sufren procesos de orden-desorden por el efecto de la temperatura y/o de la presión, observables por las modificaciones de la transición sol-gel (Heremans, 1982).

3.2.1.- Modelos de gelificación

A lo largo del tiempo, se han realizado diferentes clasificaciones de los geles. Así Tolstoguzov y Braudo (1983) distinguieron: geles de relleno, geles mixtos y geles

complejos. En los primeros, uno de los componentes se encuentra disperso por la matriz sin llegar a formar una red tridimensional. Mientras que en los geles mixtos, los aditivos forman sus propias redes tridimensionales sin interacción entre ellas, pudiendo distribuirse de manera separada o superpuesta a lo largo de la matriz. Y en los geles complejos, la red tridimensional está formada por la interacción de varios de los componentes.

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

La mayoría de los aditivos quedan atrapados dentro de la matriz "rellenando" el gel; ejercen su acción coadyuvante, física o químicamente, al modificar la viscosidad, la concentración de la proteína miofibrilar, pH, fuerza iónica, disponibilidad de agua, interacciones con la proteína miofibrilar y/o por influir en la distribución, propiedades reológicas y volumen relativo de la fracción del gel (Lanier, 1990; Lee, 1990; Mills, 1990; Okada, 1974; Ring y Stainsby, 1982; Ziegler y Foegeding, 1991).

Aguilera y Kessler (1989) clasificaron los geles según las estructuras que formaban los aditivos gelificantes en: simples, mixtos, de relleno o bien mixtos con relleno (Fig.9). En el modelo de geles mixtos (Fig.9.A), dos o más tipos de diferentes macromoléculas forman una estructura que puede ser incompatible, compatible o sinérgica en la formación del gel. En el modelo de agentes gelificantes que actúan como relleno (Fig.9.B), el aditivo a baja concentración presenta una función de simple relleno de la estructura del gel pudiendo interferir y debilitar dicha estructura básica o bien reforzarla. En el modelo mixto (Fig.9.C), los agentes gelificantes o coadyuvantes de la gelificación pueden actuar a la vez como relleno y como gel mixto.

En la figura 10, se muestra el modelo de Ziegler y Foegeding (1991) en el que por medio de cinco representaciones, los autores explicaron la posible disposición espacial de la proteína gelificada y de los agentes gelificantes y no gelificantes en la matriz del gel. En los dos primeros (Fig.10.A y 10.B), el aditivo se encuentra solubilizado o disperso por todo el espacio intersticial de la matriz del gel. En ninguno de los dos modelos existe asociación con la proteína miofibrilar gelificada, por lo que se denominan aditivos "pasivos" o geles "simples" (Ring y Stainsby, 1982).

Por otro lado, en los siguientes modelos existe una asociación con la red de la proteína, son los geles "complejos" o aditivos "activos". En el tercer modelo (Fig.10.C), el aditivo no gelificante se asocia de forma no específica a la red en puntos aislados, lo que provoca una variación en la estructura de la red y, por tanto, en la textura. En la Fig.10.D, el aditivo forma parte de la propia red de la proteína miofibrilar formándose una red heterogénea, si bien es poco frecuente, ya que es difícil que el aditivo y la proteína muscular posean las mismas condiciones de

gelificación. Un modelo con más posibilidades de formación es aquel en el que el agente gelificante forma su propia red que coopera estructuralmente con la proteína miofibrilar (Fig.10.E) o bien, una mezcla de estos dos últimos modelos, siendo relativamente más frecuente que el aditivo forme una red uniendo zonas donde la proteína miofibrilar no esté conexas o débilmente.

Shand *et al.* (1993) estudiaron el efecto de diversos hidrocoloides en un producto embutido de vacuno con ácido alginico. Encontraron que el ι -carragenato, a diferencia del κ -carragenato, se mostr6 incompatible con el mecanismo de gelificación del alginato. Esto puede ser debido a que el ι -carragenato tiene mayor contenido en éster sulfato que el κ -carragenato y, por tanto, más repulsión electrostática por el mayor número de carga negativa. También podría ser debido a que el contenido de sodio del ι -carragenato interfiere en el sistema ácido alginico/calcio o por encontrarse el Ca^{2+} ligado al ι -carragenato y, de ésta manera, no estar disponible en el medio para la formación del alginato cálcico.

Otros aditivos, distintos a los hidrocoloides, como son las proteínas globulares (clara de huevo, proteínas de soja) forman una red de gel por dos mecanismos diferentes (Fig.11), bien en agregados sin estructura definida o bien ordenadamente a modo de cadena o "cuentas de collar" dependiendo del pH y la fuerza iónica del medio (TombsWatase, 1974).

3.2.2.- Asociación hidrocoloidehidrocoloide

La estructura del gel, según Ross-Murphy (1995), consiste en un red de cadenas de macromoléculas de gran tamaño, muy ramificadas con infinitos puntos de unión consecuencia del equilibrio entre las interacciones de los distintos componentes. Según Hermans (1949), los puntos de unión entre cadenas pueden variar desde pequeñas regiones de contacto a grandes regiones entre varias cadenas (Fig.12). Dicha interacción entre las cadenas de los polisacáridos depende de la estructura química del polímero.

Existen varios modelos que intentan explicar la interacción hidrocoloide-hidrocoloide (Tako y Nakamura, 1986; Fiszman *et al.*, 1987; Cairns *et al.*, 1987; Fernandes *et al.*,

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

1991b, 1992; Rochas *et al.*, 1990; Williams *et al.*, 1991) pero no se conoce si los geles mixtos consisten en unas redes interconectadas, separadas o acopladas. Morris (1991) describe un modelo de gel binario (Fig. 13) que consta de cuatro tipos de asociaciones básicas.

En la Fig.13.a, se representa un gel formado sólo por uno de los polisacáridos y el otro polisacárido queda entrelazándose en la red formado por el primero, sería el caso de la mezcla de hidrocoloide gelificante con otro no gelificante. En la Fig.13.b, ambos polisacáridos forman redes independientes. En la Fig.13.c, se observa una red de fases separadas cuando se produce una separación parcial de los polisacáridos antes de la gelificación. En la Fig.13.d. una red compuesta cuando uno de los polisacáridos se une al otro formando una misma red, un ejemplo sería la mezcla de agentes no gelificantes formando redes acopladas.

Las mezclas de goma garrofín con goma xantana interaccionan sinérgicamente dando lugar a geles firmes y elásticos; mientras que sólo se logra un aumento de la viscosidad con adición de goma guar. Cuando la goma guar interacciona con la goma xantana, no llega a gelificar, pero presenta un efecto sinérgico sobre la viscosidad. En cambio, la interacción es más fuerte con la goma garrofín dando lugar a geles elásticos aunque individualmente no gelifiquen (Dea y Morrison, 1975; Tako y Nakamura, 1986; Doublier y Llamas, 1991; Williams *et al.*, 1991; Ma y Barbosa-Cánovas, 1993; Sanderson, 1996).

La goma xantana exhibe hélices que pueden enlazar con las regiones no sustituidas de la goma garrofín, formando una red tridimensional que da lugar al gel (Fig.14). Dea *et al.* (1979) sugirieron que la interacción específica ocurre entre las cadenas ordenadas de las galactomananas y la goma xantana. Sin embargo, Brownsey *et al.* (1988) plantearon la hipótesis de que se origina en forma desordenada, ya que la gelificación se produce a temperaturas inferiores a la temperatura de transición de la xantana.

La interacción de la goma xantana con la goma garrofín dio lugar a geles más firmes cuando ambos hidrocoloides se encontraron en una relación 1:3 con una

concentración de hidrocoloide total superior al 0,5 % (Dea y Morrison, 1975). La estructura de la goma xantana se compone de repetición de unidades de D-glucosa, esta uniformidad de la macromolécula permite lograr una fuerte interacción con las galactomananas que también parece producirse a través de la zona escasamente sustituida con grupos D-galactosa. Por tanto, dicha interacción se ve inhibida con el aumento de grupos D-galactosa y con el número de sustituciones en la goma xantana. Parece ser que a menor grado de ramificación, la molécula de galactomanana se encuentra más agregada que aislada (Doublier y Launay, 1981).

De un modo similar, el κ -carragenato que presenta dobles hélices puede asociarse a las regiones no sustituidas de la goma garrofín. Existen diferentes modelos que intentan explicar la interacción de los carragenatos con las galactomananas, todos ellos asumen que la interacción se produce entre las dobles hélices del κ -carragenato y las regiones menos sustituidas de la cadena de la galactomanana. Esta interacción produce una red similar a la del ι -carragenato, resultando un gel elástico y transparente. Se puede considerar que un equilibrio entre todos los modelos descritos podría ser lo más razonable (Phillips y Williams, 1995). Es conocido el efecto sinérgico de goma garrofín con el κ -carragenato (Fernandes *et al.*, 1994; Murayama *et al.*, 1995a,b). Los geles firmes y quebradizos característicos del κ -carragenato, se hacen más cohesivos y elásticos, presentando menor sinéresis. Sobre el ι -carragenato ejerce también un efecto similar (Arnaud *et al.*, 1989; Dea y Morrison, 1975; Glicksman, 1983); pero no con goma guar, debido a la relación G:M.

El modelo de redes acopladas de Rees en 1972, las zonas sin sustituciones de la goma garrofín se disponen paralelamente a las dobles hélices del carragenato aportando mayor número de entrecruzamientos a la red. Según los estudios de Carroll *et al.* (1984) por difracción de rayos X, el comportamiento de las mezclas de goma garrofín con carragenato se debían al carragenato, aunque no descartaron que la goma garrofín se asociara a la superficie de los cristales de carragenato. Por último, el modelo de redes de fases separadas de Morris (1986), según el cual, la principal característica es que las propiedades del mismo dependen de la proporción relativa entre los componentes del sistema gelificado.

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

El κ -carragenato en presencia de goma garrofín ensancha la región en espiral, lo que indica que como consecuencia de la interacción se forma una estructura de la doble hélice más estable. La red formada por la mezcla de carragenato-galactomanana está unida por enlaces no covalentes. Las zonas sin o con escaso número de grupos D-galactosa en la molécula de las galactomananas favorece la asociación con el κ -carragenato por puentes de hidrógeno; ya que la unión se produce entre las regiones lisas o escasamente sustituidas, y la región de la doble hélice del carragenato (Fig.15).

Dea y Morrison (1975) describieron el modelo de la doble red por medio de interacciones específicas entre la doble hélice y las regiones no sustituidas de la cadena de la galactomanana, de tal forma que se refuerza la red del carragenato. Cairns *et al.* (1987) propusieron un modelo alternativo, ya que no encontraron evidencias de dichas interacciones. Estos autores supusieron que la red del carragenato contiene en su interior a la galactomanana en solución. Sin embargo, sí hallaron evidencias de formación de enlaces intermoleculares entre la goma xantana y las galactomananas, que según los autores formaría una red doble como la descrita en la Fig.13.d.; aunque xantana no gelifica, tan sólo forma agregados tras desnaturalizarse.

Según Tako y Nakamura (1986), la interacción se produce entre la doble hélice del κ -carragenato y la región no sustituida de la goma garrofín dependiente de la presencia de cationes potasio. No encontraron sinergismo ni con iones sodio ni con calcio ya que dichos cationes no son capaces de formar puentes intramoleculares en el κ -carragenato debido al tamaño del ion. Rochas *et al.* (1990) encontraron evidencias de interacción y unión intermolecular por análisis espectrofotométrico en los geles binarios del κ -carragenato y las galactomananas.

Fernandes *et al.* (1991a) encontraron que el máximo efecto sinérgico entre el κ -carragenato y goma garrofín se obtenía cuando los hidrocoloides, en concentración total de 1 % en el gel, se hallaba en la relación 80:20. Los mecanismos de gelificación del κ -carragenato y la mezcla de hidrocoloides fue muy diferente: para el κ -carragenato solo, la transición sol-gel toma lugar lentamente; mientras que en

la mezcla, el gel se forma inmediatamente. El κ -carragenato establece la red en presencia de goma garrofín sin modificar el proceso de gelificación, ya que la temperatura de gelificación del κ -carragenato apenas varía en la mezcla binaria.

Fernandes *et al.* (1991b) sugirieron que el mecanismo de sinergismo podría atribuirse a las regiones no sustituidas en la molécula de la galactomanana y al tamaño o peso molecular. Con la goma guar no se produce sinergismo ya que las regiones no sustituidas son muy cortas. Los autores sugirieron la formación de una red interpenetrada por la agregación de las galactomananas y por la gelificación del κ -carragenato con unas propiedades diferentes a las presentadas individualmente. El máximo efecto sinérgico lo obtuvieron con la relación 4:1 (κ -carragenato:garrofín) donde la galactomanana forma una red secundaria que se interpenetra con la red primaria del κ -carragenato. Las moléculas de las galactomananas se agregan a través de las regiones libres formando una red secundaria cuya reología depende del peso molecular. Este modelo está de acuerdo con Cairns *et al.* (1987) pero no con el modelo propuesto por Dea y Morrison (1975) ya que no explicaría del todo el fuerte efecto de la interacción.

Fernandes *et al.* (1992) determinaron que las galactomananas interferían en la gelificación del κ -carragenato y que dependiendo de la relación galactosa:manosa presentaban distinta tendencia a formar agregados que conducían a la formación de una red secundaria que interpenetraba la principal formada por el carragenato.

Según Fernandes *et al.* (1994) las propiedades reológicas fueron resultado del κ -carragenato que presentó un efecto reológicamente dominante al de las galactomananas. El mecanismo de gelificación se basa en la formación de dos fases bicontinuas, según la composición de cada fase puede ser solución o gel. Por tanto, dependiendo de la composición de la mezcla se producen gran variedad de texturas.

Según Dubkier *et al.* (1993) el hecho de que la interacción entre las hélices de la goma xantana o el κ -carragenato con las regiones no sustituidas de las galactomananas, se produzca igual, independientemente de la concentración de hidrocoloide, hace descartar esta interpretación. Dichos autores propusieron que la

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

mezcla de hidrocoloides da lugar a un sistema de fases separadas, cada una de ellas con uno de los polisacáridos: la galactomanana en solución y una red del otro polisacárido. Cada uno de los hidrocoloides influye en las propiedades del otro originando gelificación o precipitación según las propiedades termodinámicas. Un ejemplo de geles mixtos de fase separadas es el formado por el κ -carragenato y la goma gellán a alta concentración, se produce una interacción entre las conformaciones ordenadas (Nishinari *et al.*, 1996).

Según Artignan *et al.* (1997), a partir de la interacción de las zonas de unión de la galactomanana con el κ -carragenato, las concentraciones superiores de goma garrofín sólo impiden la formación de la red del κ -carragenato. La doble hélice del carragenato se une más a la zona escasamente ramificada con grupos D-galactosa o bien se enlaza también por medio de la agregación de la doble hélice; pero a mayor número de zonas de unión de ambos polisacáridos menor formación de la doble hélice. Por tanto, esta unión entre el κ -carragenato y las gomas galactomananas se ve impedida estéricamente por la presencia de grupos D-galactosa y por grupos sulfatos. Las cadenas de goma garrofín actúan como puntos de unión flexibles entre las dobles hélices del κ -carragenato produciendo un incremento en la deformación del gel.

3.2.3.- Interacción hidrocoloide-proteína

Las proteínas y los polisacáridos son los principales responsables de las propiedades físico-químicas y características reológicas de los alimentos (Tolstoguzov, 1991; Dickinson y McClements, 1996). Los estudios más frecuentes de la asociación hidrocoloide-proteína son los de almidón con proteína no muscular (Dickinson, 1993). La interacción de carragenatos con la proteínas de la leche (Kieran *et al.*, 1995) han sido ampliamente estudiadas, pero son pocos los trabajos con proteína miofibrilar (Bernal *et al.*, 1987; Trius y Sebranek, 1996).

La adición de xantana o alginato no originó cambios apreciables en la agregación de las proteínas aisladas de pollo, lo cual indica que dichos hidrocoloides no interfirieron en la asociación miofibrilar; aunque, sin embargo, sí se modificaron las características reológicas, debido probablemente a su efecto en la última fase de la

gelificación, esto es, durante la formación gradual de enlaces de la red que da lugar al gel (Xiong y Blanchard, 1993). Según las observaciones de Niwa *et al.* (1988b), parece ser que el efecto del κ -carragenato no se debe a su interacción con la red de la proteína miofibrilar del *surimi* de Alaska pollack, sino a un incremento de la densidad de la matriz proteica al retener el hidocoloide agua de la red.

Las proteínas miofibrilares y el alginato cálcico interactúan por medio de fuerzas electrostáticas y de puentes de hidrógeno. Pero en cambio, se ha observado que cuando se adiciona carragenato con goma garrofín para aumentar la capacidad de retención de agua del reestructurado de carne de vaca, estos hidocoloides no mostraron interacción con la red del alginato, ya que probablemente actuaron como agentes de relleno (Nielsen *et al.*, 1996).

DeFreitas *et al.* (1997a) sugirieron que la función almidón del κ -carragenato en los geles elaborados con proteína soluble de cerdo fue debida al propio carragenato y no a la interacción molecular entre las proteínas y el hidocoloide. En otro trabajo, estos mismos autores (DeFreitas *et al.*, 1997b) deducen que tampoco hay interacción en sistema modelo ya que se producen tan solo ligeros cambios en la desnaturalización térmica.

En un principio, se consideró que las fuerzas electrostáticas eran las encargadas de estabilizar los enlaces de proteína miofibrilar-polisacárido aniónico (Imeson *et al.*, 1977; Bernal *et al.*, 1987; Dickinson y Pawlowsky, 1997); pero aunque son importantes, no son las responsables de dicha asociación, ya que en sistema acuoso no serían capaces de mantenerse tras la hidratación (Ledward, 1979). Rourke *et al.* (1997) encontraron que los enlaces iónicos juegan un papel muy importante en la gelificación de sistemas alginato-proteína miofibrilar entre los grupos negativos del polisacárido y los grupos positivos de los aminoácidos de la proteína.

En cuanto al tratamiento de alta presión, existen muy pocos trabajos sobre el efecto de la alta presión en la interacción proteína-polisacárido (Dickinson y Pawlowsky, 1996). La presión modifica las condiciones de gelificación tanto del hidocoloide como de la proteína miofibrilar. A presión atmosférica, la gelificación de los carragenatos se produce a temperaturas superiores a 70 °C. Las condiciones

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

óptimas de presurización del carragenato, se situaron en tratamientos de alrededor 300 MPa, 45 °C, 20 min (Tsen y King, 1994). En otras condiciones de presurización y en el sistema proteína-carragenato, la combinación óptima fue de 600 MPa, 30 °C, 10 min (Fernandes y Raemy, 1996). Sobre el almidón, la presión logra disminuir la temperatura de gelatinización (Thevelein *et al.*, 1981; Muhr y Blanshard, 1982; Hibi *et al.*, 1993; Douzlas *et al.*, 1996). Shioya *et al.* (1994) elaboraron geles de alginato aplicando presiones de 900 MPa, 20°C durante 30 min.

Los aditivos se añaden después de la homogeneización con sal, una vez se ha favorecido la solubilización de la proteína muscular y antes del tratamiento de gelificación. Ya que los hidrocoloides presentan afinidad por el agua, el orden de incorporación es fundamental para permitir la hidratación tanto de la proteína miofibrilar como del hidrocoloide (Dexter *et al.*, 1993). La textura obtenida depende de la integridad y de las propiedades de la red, de los aditivos y de las interacciones aditivos-red (Lee y Chung, 1990). Por todo esto, las propiedades de los hidrocoloides observadas en sistema modelo puede diferir de las propiedades observadas en el miosistema.

Lee y Kim (1986) observaron que la incorporación de un 10 % de la combinación almidón-albúmina de huevo en homogeneizado de músculo de merluza originó una disminución de las características reológicas al incrementar la proporción de albúmina. Pero también, se observó esta disminución en formulaciones sin almidón, por tanto, no se debe a dicha asociación. En las formulaciones con proteína como único aditivo coadyuvante de la gelificación, se obtuvo mayor dureza que en aquellas en las que se combinó con almidón.

Asimismo, otros autores tampoco observaron el efecto potenciador entre el almidón y la clara de huevo añadidos simultáneamente en la gelificación de calamar (*Dosidicus gigas*) (Gómez-Guillén y Montero, 1997); ni el ι -carragenato combinado con el almidón sobre el músculo de sardina (Gómez-Guillén y Montero, 1996). Sin embargo, sí se observó incremento de las características de gelificación de músculo de calamar (*Dosidicus gigas*) al incorporar en la fórmula una combinación de ι -carragenato, con o sin almidón, con una proteína no muscular como, por ejemplo, la clara de huevo (Gómez-Guillén y Montero, 1997; Gómez-Guillén *et al.*,

1997c). Ultraestructuralmente, este efecto sinérgico se puede explicar ya que parece ser que el carragenato forma una red independiente que refuerza a la matriz proteica, el almidón se incorpora dentro de la red y retiene el agua; y la clara de huevo, forma una red suplementaria (Gómez-Guillén *et al.*, 1996c). Al incorporar caseína conjuntamente con el ι -carragenato y el almidón en músculo de calamar (*Dosidicus gigas*), se observó una mejora de la textura debida al efecto sinérgico de la asociación proteína-hidrocoloide Gómez-Guillén *et al.*, 1996c; Gómez-Guillén *et al.*, 1997c).

3.2.4.- Adición de diferentes sales

La adición de sal afecta por una parte a la proteína miofibrilar, facilita la solubilización proteica, fase necesaria para la posterior desnaturalización y agregación proteica para dar lugar a la formación del gel. Por otra parte, también afecta a la funcionalidad del hidrocoloide. La fuerza iónica es uno de los parámetros tecnológicos más importante sobre la estructura y conformación de la proteína miofibrilar, además de la temperatura y el pH (Ferry, 1984; Kinsella, 1984). Por otro lado, la actividad enzimática se ve influida por diversas sales, en el caso concreto de la *transglutaminasa* sólo actúa durante el asentamiento sólo ocurre en presencia de NaCl; las zonas reactivas de la miosina resultan inaccesibles a la enzima en presencia de KCl (Wan *et al.*, 1992). La sal de cloruro cálcica (CaCl_2) incrementa los enlaces de la cadena pesada de miosina durante el asentamiento (Saeki *et al.*, 1992).

Las sales de cloruro son las más usadas, principalmente, la sódica y también la cálcica y la potásica. Según los estudios de Rosett *et al.* (1996), los hidrocoloides iónicos presentan elevada capacidad de unión de iones, especialmente calcio o potasio, preferentemente al sodio. A veces, se requiere que estos sean secuestrados para favorecer la hidratación del hidrocoloide. La adición de sales incrementa la capacidad de retención de agua del producto (Trius *et al.*, 1994a). Gordon y Barbut (1990) indicaron que los cationes monovalentes contribuyeron a la estabilización del homogeneizado de carne; mientras que los cationes divalentes desestabilizaron la muestra, así el calcio originó alta agregación proteica durante el calentamiento conduciendo a una gran pérdida de agua.

¡Error! Marcador no definido. Gelificación de los hidrocoloides

La temperatura de transición de gelificación de los hidrocoloides se modifica con la concentración de sal, principalmente por la presencia de cationes (Na^+ , K^+ , Ca^+). Existen diversos trabajos que estudian este efecto sobre los carragenatos (Hermansson *et al.*, 1991; Kieran *et al.*, 1995; Trius y Sebranek, 1996; DeFreitas *et al.*, 1997c); sobre la goma gellán (Tang *et al.*, 1997); sobre la goma guar (Sudhakar *et al.*, 1996).

La optimización del contenido de sales en los hidrocoloides o la mezcla con otros permite el desarrollo de "nuevos" hidrocoloides encaminados hacia su aplicación sobre músculo de pescado, para la obtención de productos y mejorar la calidad de los actuales (Jensen, 1993). Hermansson *et al.* (1991) estudiaron la diferente estructura de los geles del κ -carragenato según su forma iónica predominante. La sal potásica presentó fibras finas y gruesas, en distinta proporción según la concentración de K^+ ; la forma sódica dio lugar a fibras uniformes en tamaño; y con la sal cálcica sólo se observaron fibras finas. Esto indica la amplia diversidad de características reológicas a las que da lugar un mismo hidrocoloide según las condiciones de gelificación, en este caso concreto, por el tipo y concentración de sales.

Las sales de fosfatos como el tripolifosfato, se utilizan como coadyuvantes de los crioprotectores en la conservación del músculo picado de pescado y así reducir la proporción del sorbitol. La concentración tradicional de crioprotector (8 % de sorbitol o bien 4 % sorbitol con 4 % sacarosa) añadido durante la elaboración del *surimi* en Japón origina productos demasiado dulces para el gusto europeo. Además, se ha comprobado que la combinación de 4 % de sorbitol más 0,2 % tripolifosfato es una dosis adecuada para asegurar la conservación habitual del músculo picado y lavado de pescado (Montero *et al.*, 1996) y, además posteriormente, en la fase de homogeneización del músculo facilita la solubilización de la proteína miofibrilar (Tokunaga y Nishioka, 1987).

De todo esto, se puede concluir que el efecto de los aditivos depende de las características intrínsecas y de calidad de la materia prima, además del tipo de procesamiento de gelificación; y como resultado se obtienen productos con diferentes características sensoriales.

El trabajo desarrollado en la presente memoria ha sido encaminado a cubrir el siguiente objetivo general: el estudio de la gelificación inducida térmicamente o por alta presión en músculo de bacaladilla; así como la incorporación de hidrocoloides en este proceso, con objeto de obtener diversas características de los geles. Esto se ha abordado mediante los siguientes objetivos parciales:

I.-GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO A PRESIÓN ATMOSFÉRICA

- 1.-Condiciones de gelificación del homogenizado de músculo de bacaladilla.
- 2.-Efecto de la adición de hidrocoloide a diferentes concentraciones.
- 3.-Influencia de la incorporación de sales para favorecer la acción de los hidrocoloides.
- 4.-Adición de mezclas binarias de hidrocoloides con objeto de obtener nuevas características.

II.-GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ALTA PRESIÓN A DIVERSAS TEMPERATURAS Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LOS GELES INDUCIDOS TERMICAMENTE

- 5.-Condiciones de gelificación para el músculo de bacaladilla.
- 6.-Estudio comparativo de las características de los geles con hidrocoloides inducidos por diferentes condiciones de presión-tiempo-temperatura.

La especie seleccionada fue bacaladilla por ser una especie muy abundante pero con escasa aceptación por parte del consumidor, por lo que su comercialización en forma de producto gelificado podría valorizar esta fuente de proteína animal. En este trabajo, se pretende gelificar el músculo ligeramente lavado. Esto permite aumentar notablemente el rendimiento si se compara con la elaboración de *surimi*. Teniendo en cuenta que el pescado picado no siempre gelifica adecuadamente, y que la especie elegida fue bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), de la cual se tienen pocos conocimientos en cuanto al proceso de gelificación fue necesario realizar en primer lugar un estudio de las condiciones de gelificación. Dado que la capacidad gelificante de esta manera es limitada, se procedió a la incorporación de aditivos y la aplicación de diferentes tratamientos que posibiliten la obtención de una mayor diversidad de características en los geles.

Las características del gel se abordan mediante el estudio reológico, determinación de capacidad de retención de agua y color, por ser éstos los aspectos tecnológicos más destacables.

I.-GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO A PRESIÓN ATMOSFÉRICA

Primero, se realizó un estudio de las condiciones de gelificación térmica. Para ello se determinó un perfil de gelificación mediante el módulo de rigidez. Una vez conocida la temperatura adecuada para la gelificación, se realizaron los ensayos de tratamiento térmico directo o en dos etapas de calentamiento consecutivo.

Basándonos en estas condiciones, se realizó un estudio de gelificación con los diferentes hidrocoloides elegidos: goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato *iota*, carragenato *kappa*, carboximetilcelulosa sódica y alginato sódico. Todos ellos considerados como coadyuvantes de la gelificación pero muy escasamente utilizados en los reestructurados de pescado. En primer lugar, se realizó un ensayo de la incorporación de diversas concentraciones (0'5, 1, 2, 3, 4 %).

Dado que los hidrocoloides requieren la presencia de cationes, principalmente sodio, potasio y calcio, para favorecer su efecto en la gelificación, se realizó un diseño experimental de respuesta de superficie (RSM) en concentraciones comprendidas entre 0-1 % para determinar la influencia de cada uno de los cationes y la proporción más adecuada en la fórmula final; así como su posible efecto sinérgico o de interacción. El rango de concentraciones ensayadas es tan elevada, frente a la concentración de hidrocoloide adicionado, porque se ha tenido en cuenta que la proteína miofibrilar puede captar parte de estos cationes. A partir de los geles elaborados anteriormente se estudia,

mediante microscopía óptica, la distribución y características estructurales de los hidrocoloides.

Una vez conocido el efecto de los hidrocoloides de manera independiente en cada formulación y con el fin de obtener mayor variedad de propiedades se estudia el efecto de mezclas binarias de estos hidrocoloides.

II.-GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ALTA PRESIÓN A DIVERSAS TEMPERATURAS Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LOS GELES INDUCIDOS TÉRMICAMENTE

Los trabajos de gelificación inducida por presión realizados hasta el momento son muy escasos e indican que las condiciones óptimas dependen, principalmente, de la especie y de las características de la proteína muscular. La gelificación por alta presión puede ser en frío o bien combinada con calor.

En primer lugar, se ha realizado un diseño de respuesta de superficie (RSM) para conocer el efecto del tratamiento combinado de presión-tiempo-temperatura, sobre las características del gel. Las condiciones estudiadas abarcan un amplio rango: 200-420 MPa de presión, 10-30 min de tiempo y 0-40°C de temperatura.

En segundo lugar, se lleva a cabo un estudio comparativo de las características de los geles inducidos térmicamente a presión atmosférica y por alta presión a diferente temperatura. Se determinan las características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles como aspectos tecnológicos más importantes; así como el estudio de la ultraestructura y del análisis por calorimetría diferencial para profundizar los mecanismos de gelificación.

Con los tratamientos elegidos se elaboraron geles con distintas formulaciones, con objeto de observar el comportamiento de tales hidrocoloides bajo las diferentes condiciones.

Dada la gran cantidad de variables obtenidas, se realizó un análisis multivariante en cada uno de los casos descritos anteriormente que permite determinar aquellas que más influyen en el proceso.

1.- MATERIALES

1.1.- ESPECIE UTILIZADA

Se escogió bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso) capturada en la plataforma gallega (Noroeste de España) y desembarcada dentro de las primeras 24 horas tras su captura. Los individuos enteros fueron transportados en contenedores frigoríficos, con abundante hielo, a la planta piloto del Instituto del Frío donde se procedió inmediatamente a la preparación del pescado picado y lavado.

1.2.- ADITIVOS Y REACTIVOS

Durante el procesado del músculo del pescado, se añadieron cloruro sódico (NaCl), sorbitol y tripolifosfato sódico de grado alimentario de la firma comercial PANREAC (Montplet & Esteban S.A., Montcada i Reixac, Barcelona).

Para el estudio de la gelificación del músculo se añadieron los siguientes aditivos:

a) Sales de la firma comercial PANREAC

- Cloruro sódico (NaCl)
- Cloruro potásico (KCl)
- Cloruro cálcico (CaCl₂)

b) Agentes gelificantes o coadyuvantes de la gelificación suministrados por SKW Biosystems S.A. (Rubí, Barcelona).

- **Goma garrofín**: bajo la marca comercial de Viscogum[®] BE, polvo con aspecto blanco con tonalidad amarilla.
- **Goma guar**: como goma guar fina FFH-200, con aspecto blanco algo amarillo.
- **Goma xantana** con la marca comercial de Satiaxan[®] CX90, con aspecto beige.
- **Carragenato *iota***: con la denominación comercial Satiage[®] RPT25, predominante en la forma de sal potásica (0,5 % sodio, 4,6 % potasio, 0,2 % calcio, 0,1 % magnesio), con aspecto beige claro.
- **Carragenato *kappa***: con la denominación comercial Satiage[®] RPT8, predominante en la forma de sal potásica (0,3 % sodio, 4,3 % potasio, 0,2 % calcio, 0,1 % magnesio), con aspecto crema claro.
- **Carboximetilcelulosa** bajo la marca comercial de Tylopur[®] C10.000, con aspecto crema muy claro.
- **Alginato sódico** bajo la marca comercial de Satialgin[®] S1100, con tonalidad amarilla.

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

Barcelona).

2.- MÉTODOS

2.1.- PREPARACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Primeramente, se llevó a cabo el descabezado y eviscerado del pescado manualmente, eliminando restos de sangre y vísceras adheridas al músculo mediante un somero lavado en agua fría. Se continuó con la fase de picado mediante una extrusora (Baader, modelo 694, Lübeck, Alemania) con un tambor con orificios de 3 mm de diámetro durante la cual se elimina la piel y las espinas.

El músculo picado así obtenido, se lavó con una solución fría (0-3 °C) de NaCl al 0,2% (p/v) en una proporción de 1 parte de músculo por 3 partes de solución (v:p) en agitación continua durante 10 min y, posteriormente, se dejó reposar 10 min para separar por decantación el músculo del hielo y grasa, restos de vísceras, enzimas y compuestos que inducirían una rápida degradación del músculo picado.

A continuación, se eliminó parte del agua por filtración mediante un sistema de tambor con orificios y por una prensa tornillo (Baader, modelo 523, Lübeck, Alemania) para obtener un músculo picado con un contenido en agua próximo al del músculo inicial.

Después, se añadieron los crioprotectores mediante amasado: 4% sorbitol (p/p) junto a 0,2% tripolifosfato sódico (p/p). Por último, se envasaron a vacío (Multivac A 300, Wolfertschwenden, Alemania) en bolsas de plástico con una permeabilidad al oxígeno de $6 \text{ cm}^3/24 \text{ h/m}^2/\text{atm}$ a 23 °C (Criovac BB-1, Grace, Barcelona), con un contenido de alrededor 600 g de músculo picado y lavado. Se congelaron en un armario de placas hasta alcanzar en el centro térmico -30 °C (Saabroe SMC, Dinamarca). Finalmente, se conservaron en un arcón congelador a -80 °C (Revco ULT, Giralt, Revco Scientific, Inc., Asheville NC, USA) para evitar, en lo posible, modificaciones durante la conservación hasta la realización de los análisis pertinentes.

Se utilizaron cuatro lotes distintos de músculo picado y lavado de bacaladilla, de aproximadamente 50 kilos cada uno, para completar el trabajo. Los lotes se denominaron: lote 1, lote 2, lote 3 y lote 4, según el orden de llegada al Instituto.

2.2.- ANÁLISIS DE LOS CONSTITUYENTES MAYORITARIOS

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 AOAC (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 AOAC (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 AOAC (1984). El contenido en proteína bruta se calculó multiplicado por el factor de conversión 6,25 (Lillevik, 1970). La digestión de la muestra se llevó a cabo en un digestor (Büchi, modelo 425, Suiza) y la posterior destilación, en una unidad de destilación (Büchi, modelo 323, Suiza). 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).

2.3.- ELABORACIÓN DEL GEL

2.3.1.- Homogeneización del músculo

El músculo semidescongelado de bacaladilla se picó durante un minuto a la máxima velocidad (posición II) en una picadora homogeneizadora a vacío y refrigerada (Stephan UM5, Stephan u. Söhne GmbH & Co., Hameln, Alemania).

A continuación, se añadió el cloruro sódico 1% NaCl (p/p) y el agua necesaria para ajustar el contenido final de humedad a un 80 %. Se homogeneizó a velocidad lenta (posición I) durante tres minutos en condiciones de vacío; después se añadió por

espolvoreo el aditivo (hidrocoloide o hidrocoloide con sales o mezcla de dos hidrocoloides con sales) y se mezcló durante seis minutos más a velocidad lenta, asegurando el mantenimiento de la temperatura durante todo el proceso por debajo de los 10 °C. Las fórmulas se expresaron en porcentaje de las concentraciones de aditivos en el contenido final en la masa.

Los agentes gelificantes o espesantes utilizados fueron goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato (*iota* y *kappa*), carboximetilcelulosa o alginato, como muestras representativas del amplio abanico de hidrocoloides presentes comercialmente, en diferentes concentraciones (0'5, 1, 2, 3 y 4 %).

Una vez seleccionada la concentración de cada hidrocoloide, se estudió el efecto de la adición conjunta del hidrocoloide junto con diferentes concentraciones de sales NaCl, KCl, CaCl₂ en un rango de concentraciones entre 0-1 %.

Para finalizar esta parte del trabajo, se estudió el efecto de las mezclas binarias de hidrocoloides en las concentraciones observadas anteriormente como más adecuadas, junto con la concentración de sales intermedia a la que resultara adecuada para la mayoría de los hidrocoloides, considerando estas mezclas como un nuevo aditivo alimentario.

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 se sometieron a los diferentes tratamientos de gelificación térmica a presión atmosférica o de alta presión.

2.3.2.- Tratamiento

2.3.2.1.- Térmico

Primeramente, se estudió el proceso de gelificación térmica a presión atmosférica con una etapa de asentamiento o por calentamiento directo. Eligiendo como control en los posteriores ensayos, el tratamiento en dos etapas consecutivas de calentamiento: 37°C durante 30 minutos y 90 °C durante 50 minutos, ambos realizados por inmersión en baños de agua (Unitronic S 320-100, J.P. Selecta, Abrera, Barcelona).

2.3.2.2.- Alta presión

Se efectuó en una instalación alimentaria de presión isostática de tipo discontinuo (Gec Alsthom ACB, A.C.I.P nº665, 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 que está conectado a un baño exterior (Haake K, Fisons, Alemania). El proceso de presurización se programó de tal forma que el tiempo de subida y bajada de presión fuera el mínimo (25 MPa/s para la subida y abertura total de la válvula, para la bajada).

2.3.2.3.- Enfriamiento y estabilización

Inmediatamente después del tratamiento de gelificación, las muestras se enfriaron en agua con hielo y se mantuvieron en una cámara de refrigeración, aproximadamente a 4 °C durante unas 18-24 horas hasta la realización de los análisis pertinentes.

2.4.- ANÁLISIS DE LOS GELES

2.4.1.- Prueba de plegado

Para efectuar la prueba de resistencia al plegado, se cortaron los geles en rodajas de 3 mm de grosor. Se doblaron por la simple presión de los dedos 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). Las determinaciones se realizaron al menos por triplicado:

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

2.4.2.- Análisis reológico

Para los siguientes ensayos, los geles desprovistos de las tripas se cortaron en probetas cilíndricas 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.- Determinación del módulo de rigidez

Se determinó el perfil térmico de gelificación del músculo homogeneizado con cloruro sódico, basado en el modelo propuesto por Wu *et al.* (1985b) y modificado por Carballo *et al.* (1992).

La muestra se introduce en un cilindro (radio interior de 1,9 cm) que se acopla a otro cilindro exterior que tiene una camisa de regulación de temperatura (diámetro: 2,2 cm; altura: 7,5 cm). Ambos cilindros coaxiales son accesorios de un viscosímetro rotatorio (Brookfield LVTD, MAB Industrial, Inglaterra). Se calienta desde 10°C hasta 90 °C a una velocidad de 1 °C por minuto utilizando un baño (Julabo F10, Julabo Labortechnik

GmbH., Alemania) equipado con programador (Julabo PRG1). La muestra se penetra 0,2 mm a intervalos de 2 min con un vástago ranurado de punta plana (diámetro: 19 mm) a una velocidad de 0,5 mm/min, utilizando una célula de carga de 100 N en un texturómetro (Instron 4501 de Instron Engineering Corp., Canton MA, USA). La superficie de la muestra se cubre con unas gotas de aceite para evitar la deshidratación (Montejano *et al.*, 1984).

La rigidez (G), expresada en kPa, es media de dos determinaciones y se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$F_{\text{máxima}} \text{ [N]} = \frac{F}{d} \left(\frac{L}{r_1} - \frac{L}{r_2} \right)$$

- d: desplazamiento del vástago (0,0002 m)
- L: longitud del vástago en contacto con la muestra (0,06 m)
- r₁: radio del vástago (0,009 m)
- r₂: radio interior del cilindro (0,019 m)

2.4.2.2.- Ensayo de penetración

Se registra el aumento de la fuerza hasta rotura (Fig.16) que se expresa en newtons (N) y el desplazamiento o deformación hasta rotura expresada en milímetros (mm), determinándose el trabajo de penetración [N.mm] como el producto de ambos valores. Las medias de las determinaciones se hallaron al menos a partir de seis réplicas. El gel se penetró 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 en un texturómetro universal (Instron 4501 de Instron Engineering Corp., Canton MA, USA).

Figura 16.- Ensayo de penetración

2.4.2.3.- Ensayo de compresión

2.4.2.3.1.- Ensayo de perfil de textura

Esta prueba también se llevó a cabo en un texturómetro (Instron 4501 de Instron Engineering Corp., Canton MA, USA). El gel se sometió al efecto de compresión de una célula plana de 58 mm de diámetro y adaptada a una célula de carga de 5 kN con una velocidad de 50 mm/min. Se estableció realizar una compresión del 60 % de la altura de las probetas (Fig.17) de tal forma que después de dos compresiones consecutivas la mayoría de las muestras no se fracturaran.

Figura 17.- Esquema de deformación uniaxial

Se determinaron las siguientes propiedades (Bourne, 1982; Pons y Fiszman, 1996), al menos por triplicado (Fig. 18):

- dureza [N]: altura del pico que aparece en la primera compresión
- adhesividad [J]: área negativa de la primera compresión (A_3) que representa el trabajo necesario para vencer las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie del otro material
- cohesividad: relación entre las áreas positivas de la segunda y la primera compresión (A_2/A_1).

Figura 18.- Ensayo TPA

2.4.3.2.2.- Ensayo de relajación de tensión a deformación constante

La compresión se realizó en las mismas condiciones que en el apartado anterior, con la única diferencia de que, en este caso, se comprime la muestra una sola vez hasta deformar el 60 % de la altura de los geles, luego se deja relajar la fuerza durante un minuto manteniendo la deformación al 60 % (Fig.19).

Figura 19.- Ensayo de tensión por compresión

El porcentaje de relajación se calcula como $Y_{\tau} = 100 \cdot (F_0 - F_1) / F_0$, donde F_0 es la fuerza registrada inmediatamente después de comprimida la muestra a deformación máxima (A) y F_1 : la fuerza registrada después de un minuto de mantener comprimida la muestra a deformación constante (B). Considerándose como índice de elasticidad la diferencia de $100 - Y_{\tau}$, expresada en porcentaje Bourne, 1982).

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 4.000 *g* a temperatura ambiente (20 °C) durante 15 minutos (Sorvall RT6000B, DuPont Co., Wilmington, DE, 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 (Young y Whittle, 1985; Park, 1995) donde L^* es el parámetro que mide la luminosidad (L^*), tendencia al rojo (+ a^*) y tendencia al amarillo (+ b^*) en un colorímetro (MiniScan MS/S-4000S, HunterLab, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA) con una luminosidad de D65 y un ángulo de incidencia de 10°, estandarizando las medidas con respecto a la placa de calibración blanca. El resultado es la media de las seis medidas realizadas en la superficie de diferentes geles a través de una placa de vidrio a temperatura ambiente.

2.4.5.- Análisis térmico diferencial

Se desarrolló mediante un calorímetro diferencial de barrido (Perkin Elmer Differential Scanning Calorimeter DSC7, Norwalk, CT, USA) previamente calibrado en temperaturas (puntos de fusión de galio y ácido benzoico) y energía (entalpía de fusión del indio). Se emplearon muestras del orden de $15 \pm 0,002$ mg pesadas con una balanza electrónica (Perkin Elmer AD4), que se encapsularon herméticamente en cápsulas de aluminio.

Las muestras se calentaron entre 5 y 100 °C a una velocidad de barrido de 10 °C/min, bajo purga de 30 mL/min de nitrógeno seco, para observar los efectos endotérmicos propios de la desnaturalización térmica de las proteínas correspondientes. Se realizó un segundo barrido para confirmar que dicha desnaturalización había sido completa, no detectándose efectos residuales.

Después del análisis DSC, cada muestra (en su cápsula con la tapa perforada) fue desecada a 105 °C hasta peso constante, para determinar su contenido en humedad y poder normalizar los datos térmicos al contenido en materia seca o proteína. Se midieron entre cuatro y seis réplicas por muestra; y los valores medios de temperatura T (°C) y

entalpías ΔH (J/g) que se aportan están dentro de 0,8C y 8%, respectivamente.

2.4.5.- Microscopía

Para la observación microscópica, se cortaron secciones cilíndricas del centro de las probetas de los geles. Las muestras fueron obtenidas del centro de estas secciones y talladas en forma de cubos de aproximadamente 3-5 mm de grosor.

2.4.5.1.- Microscopía óptica

Con el objetivo de conocer la distribución de los hidrocoloides en la matriz proteica del gel se realizaron diferentes tinciones según sea el tipo de polisacárido neutro o aniónico. Las fotomicrográficas fueron obtenidas en un microscopio óptico (Nikon Optiphot, modelo AFX-IIA, Japón) a 100 y 1000 aumentos.

Las muestras fueron fijadas en formaldehído al 10%. Posteriormente, se deshidrataron con series de concentración creciente (50, 70, 96, 100 %) de etanol y tolueno. Se incluyeron en parafina manteniéndola en estufa a 56-60 °C. Los bloques de parafina fueron cortados en secciones de 8 μ m de grosor utilizando un microtomo (Reichert-Jung, modelo 1130/Biocut, Alemania).

Para fijar los cortes, se utilizaron portaobjetos recubiertos con una solución de albúmina: glicerina (1:1). La extensión de los cortes se realizó sobre un baño termostatzado de agua a 37 °C e introduciendo, posteriormente, los portaobjetos en una estufa a una temperatura constante de 37 °C durante 48 horas. Para la tinción, las secciones fueron desparafinadas e hidratadas a través de adición sucesiva de xilol, etanol en diluciones decrecientes (100, 96, 70 °) y agua. En todos los casos, se utilizó como colorante de contraste el picrocarmín que da una coloración verdosa. Después de las tinciones, todas las secciones fueron deshidratadas con series de concentración creciente (70, 96, 100) de etanol y xilol.

Los **hidrocoloides neutros** se tiñen con el reactivo de Schiff de color fucsia basándose en que son PAS positivos (Hotschkiss, 1948; Martoja y Martoja-Pierson, 1970). Para ello, previamente, se requiere la formación de grupos aldehídos mediante la oxidación de los grupos hidroxilo de los polisacáridos por acción del ácido peryódico.

Los **hidrocoloides aniónicos** se tiñen con azul alcían, ya que este colorante reacciona con los grupos ácidos de los polisacáridos (Martoja y Martoja-Pierson, 1970). Además, en ambos tipos de tinciones se hizo el gel control **(sin hidrocoloides)**.

2.4.5.2.- Microscopía electrónica de barrido

Las muestras fueron fijadas en glutaraldehído al 2 % en tampón fosfato (pH = 7,3). Posteriormente, se volvieron a fijar en tetróxido de osmio al 1 %. Se deshidrataron con series de concentraciones crecientes de acetona (de 40 a 100 %) y se montaron sobre portamuestras de cobre. La desecación posterior se realizó en una desecadora (Balzer CPD030, Japón) en el punto crítico con CO₂ como fluido de transición. Seguidamente, se sometieron a un sombreado metálico con oro coloidal en columna metalizadora (Balzer SCD004) y se conservaron en un desecador hasta el momento de su observación en el microscopio de barrido (Jeol Scanning Microscope, JSM 6400, Liechestein) a una tensión de 20 kV.

Se obtuvieron fotomicrografías a 500 aumentos en todos los casos para poder comparar estructuras al mismo nivel de organización. Además, se presenta una selección de las fotomicrografías obtenidas a diferentes niveles ultraestructurales (1.500, 3.000 y/o 6.000 aumentos).

2.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los modelos estadísticos utilizados se resolvieron con los paquetes estadísticos de los programas: Statgraphics (Statgraphics, STSC Inc, Rockville MD, USA) y BMDP (BMDP Statistical Software, Inc., Cork Technology Park, Cork, Irlanda).

2.5.1.- Modelos estadísticos generales

2.5.1.1.- Análisis descriptivos univariantes

Con el objetivo de describir de forma general el comportamiento de la variables, se realizó: cálculo de estadísticos básicos y estudio de las distribuciones.

2.5.1.2.- Modelos de análisis de la varianza

El estudio de las fuentes de variabilidad controladas (análisis de varianza de una o dos vías) se resolvió con un test de homogeneidad de varianza de igualdad de medias mediante el test de Levene y el test de Fisher-Student (F), y el test de Brown -Forsythe alternativamente en caso de incumplimiento de las condiciones de varianza. A continuación, el test de pares entre los grupos, resuelto por Bonferroni o Dunnet (BMDP 7D) fijando el nivel de significación en $\alpha \leq 0,05$.

2.5.1.3.- Análisis multivariante

El estudio de las relaciones de las propiedades analizadas y clasificación de las variables del análisis, se realiza mediante: análisis factorial, análisis clúster y análisis discriminante.

2.5.1.3.1.- Análisis factorial

El estudio de la relación de los parámetros se realizó mediante el análisis factorial por componentes principales (PCA), la población de N observaciones caracterizadas por una variable estadística p-dimensional se representa mediante una matriz de datos. El objetivo del análisis por componentes principales es transformar esta matriz mediante la definición de una base, en un espacio vectorial que permita caracterizar las observaciones (propiedades determinadas) mediante un pequeño número de variables, llamadas factores o componentes principales.

Este análisis factorial facilita el estudio de las relaciones existentes entre las variables iniciales mediante círculos de correlación, así como el análisis de la dispersión de las

observaciones y los posibles agrupamientos, detectando las variables que son responsables de dicha dispersión. La relación lineal entre las variables iniciales viene determinada por el modo en que se agrupan respecto a los componentes principales.

Cada componente principal lleva asociado un autovalor que expresa su importancia relativa dentro del conjunto y determina el tanto por ciento de varianza que explica dicho componente. El coeficiente de correlación entre pares de las variables iniciales permite confirmar con un valor numérico (función del tanto por ciento de la varianza total), la importancia de las relaciones entre las variables que se manifiestan a través de los círculos de correlación.

Se calculan, en primer lugar, las correlaciones múltiples cuadráticas de cada variable con el resto (BMDP 4M). Después, se realiza el estudio de las comunalidades de las variables en los factores que explican el nivel de ajuste de cada variable en los nuevos factores. Todas las puntuaciones factoriales se normalizan a 1 después de ser rotadas cada variable en cada factor, haciendo cero aquellos que no son significativos por el método Varimax.

2.5.1.3.2.- Análisis Clúster

El test de Clúster (BMDP KM) permite clasificar en grupos todo el conjunto de datos sin ser vinculados en una estructura de orden jerárquico. Los parámetros de mayor importancia para cada factor, determinados en el análisis factorial, son seleccionados para realizar el análisis clúster que permite agrupar los casos que presentan una tendencia similar.

2.5.1.3.3.- Análisis discriminante

Para valorar el nivel de separación de los grupos establecidos en el apartado anterior, se construyen funciones lineales de clasificación que permitan explicar el grado y la naturaleza de las diferencias en los grupos encontrados. Se validan las funciones mediante el método de Jackknifed (BMDP 7M) que es un proceso iterativo donde se valida cada elemento con funciones construidas a partir del resto.

2.5.1.4.- Diseño por metodología de superficie de respuesta

La metodología de superficie de respuesta, muy utilizada en diseño de experimentos (Cochran y Cox, 1957; Floros y Chinnan, 1988) permite, partiendo de un número pequeño de ensayos establecer un modelo de predicción de resultados y encontrar las relaciones entre las variables con un grado de confianza determinado por el coeficiente de correlación múltiple, ajustando el modelo por una técnica de regresión lineal múltiple.

De acuerdo con el diseño rotacional de composición central, 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 realizadas en orden aleatorio. La variable respuesta o dependiente puede ser descrita como una función de los niveles de las variables independientes o factores con un coeficiente de determinación (r):

$$Y_{\text{esp}} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + e$$

r : coeficiente de correlación múltiple
 Y_{esp} : respuesta estimada
 $\beta_0, \beta_1, \beta_{11}, \beta_{12}$: coeficientes estimados de la ecuación
 β_0 : constante
 β_1 : coeficiente de los términos lineales
 β_{11} : coeficiente de los términos cuadráticos
 β_{12} : coeficiente de los términos de interacción
 X_1, X_2 : variables independientes o factores
 K : número de variables independientes
 e : término de error

La representación gráfica de la ecuación polinómica en tres dimensiones se realizó para aquellos casos en que el análisis de varianza fuera significativo con una $r > 0,90$; combinando dos a dos las variables independientes y la tercera variable en su valor central, frente a cada una de las variables dependientes o respuestas. Esta gráfica de

superficie de respuesta permite de una manera práctica representar los resultados e identificar las direcciones de variabilidad además de optimizar las condiciones de tratamiento desde el punto de vista tecnológico. Para ello, es necesario interpretar las tres gráficas de un mismo parámetro respuesta simultáneamente. En el resto de los casos con una $r \leq 0,90$, el efecto significativo de las variables independientes sobre las propiedades analizadas se interpreta a partir de los coeficientes de la ecuación polinómica.

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.- Aplicación en los diferentes experimentos

2.5.2.1.- Gelificación térmica a presión atmosférica

Se realizó **análisis de varianza de una vía** (apartado 2.5.1.2) entre geles elaborados por diferente tratamiento térmico para cada variable respuesta (propiedades reológicas) para conocer posibles diferencias significativas entre los geles inducidos con asentamiento o con calentamiento directo. A posteriori, se efectuó un análisis de diferencias múltiples de medias entre pares. El nivel de significación se estableció para $p \leq 0,05$, de tal forma, que letras diferentes para una misma propiedad del gel indican diferencias significativas debidas al procesado (con y sin asentamiento).

2.5.2.2.- Gelificación con adición de hidrocoloides

En el estudio de diversas concentraciones (0,5, 1, 2, 3 y 4 %) para cada uno de los hidrocoloides: goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato (*iota* y *kappa*), carboximetilcelulosa y alginato sódico, se realizó un estudio estadístico mediante **análisis de varianza de dos vías** (apartado 2.5.1.2) para determinar diferencias en las características de los geles debidas tanto al tipo de hidrocoloide adicionado como a la concentración utilizada. Se realizó previamente una test F-Levene de homogeneidad de la varianza (apartado 2.5.1.1).

x_i : las propiedades analizadas (reológicas, color y capacidad de retención de agua)

H_j : 1 (goma garrofín), 2 (goma guar), 3 (goma xantana), 4 (carragenato *iota*), 5 (carragenato *kappa*), 6 (carboximetilcelulosa), 7 (alginato)

C_k : 0'5, 1, 2, 3 y 4 %

Se estableció para las distintas variables (x_i) y los distintos factores (H, C), la hipótesis nula de trabajo de que las medias de los resultados obtenidos para los distintos niveles del factor no difirieran entre sí, fijándose el nivel de significación al 5 %:

$$H_0 : H_{i(j)} \equiv 0$$

$$H_0' : C_{i(c)} \equiv 0$$

$$H_0'' : HC_{i(c)} \equiv 0$$

Una vez calculados los cuadrados medios para determinar la posible significación de los efectos en muestra, se realizó la prueba F (Fisher-Student, en caso de igualdad de varianzas; Brown-Forsythe, en caso de desigualdad de varianzas), comparando la F obtenida a partir de la estimación de los cuadrados medios con el valor de la F teórica dada por la tabla para el nivel de significación fijado (5 %) y los grados de libertad correspondientes al factor estimado. A continuación, se compara el análisis de varianzas de una vía por cada efecto de la segunda y viceversa (apartado 2.5.3.1 y 2.5.3.2).

Además, se determinaron diferencias de medias entre pares de cada muestra con el gel sin adición de hidrocoloides, sin tener en cuenta las diferencias con el resto de casos mediante un test de Dunnett (apartado 2.5.1.2).

Al suponer diferencias significativas debidas a la concentración de hidrocoloide, en todos los casos se realizó un **análisis de varianza de una vía** (apartado 2.5.1.2) utilizando el test de Bonferroni:

∇ C: 0,5, 1, 2, 3 y 4 %

Se efectuó un análisis discriminante (apartado 2.5.1.3.3) que utiliza la clasificación de Jackknifed, en la cual se determina las variables que discriminan los grupos de geles respecto al tipo de hidrocoloide adicionado.

Se realizó un **análisis de varianza de una vía** (apartado 2.5.1.2) utilizando también el test de Bonferroni para detectar diferencias debidas al tipo de hidrocoloide adicionado a una determinada concentración:

∇ H_j :1 (goma garrofín), 2 (goma guar), 3 (goma xantana), 4 (carragenato *iota*), 5 (carragenato *kappa*), 6 (carboximetilcelulosa), 7 (alginato)

Se llevó a cabo un análisis discriminante (apartado 2.5.1.3.3) que utiliza la clasificación de Jackknifed, el cual determinan las variables que discriminan los grupos de geles respecto a la concentración del hidrocoloide.

2.5.2.3.- Influencia de cationes

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (apartado 2.5.1.4) para determinar la composición extra de sales de cloruro (NaCl, KCl y CaCl₂) en un rango de concentraciones comprendido entre 0 y 1% (Tabla 1) fijando la concentración de hidrocoloide en 0,5 % (1% en el caso de goma garrofín). La concentración máxima de sal se fijó de tal forma que el nivel de sales no superara el recomendado nutricionalmente (alrededor de 3%).

Se realizó un análisis multivariante (apartado 2.5.1.3) sobre todas las medias de los valores obtenidos en los geles de músculo de bacaladilla elaborados con adición de hidrocoloide y cationes según el diseño de superficie de respuesta. El estudio de la relación de los parámetros se efectuó mediante el análisis factorial por componentes principales, tal y como se ha descrito anteriormente (apartado 2.5.1.3.1). También, un análisis Clúster para clasificar en grupos todo el conjunto de geles, agrupando los casos con características similares (apartado 2.5.1.3.2); y un análisis discriminante (apartado

2.5.2.4.- Características de las fórmulas escogidas

Primero, se realiza un estudio del efecto de la adición del hidrocoloide sobre los geles mediante un test de Dunnett que determina diferencias de medias entre pares ($p \leq 0,05$) de cada muestra con el control (sin adición de agentes gelificantes o coadyuvantes de la gelificación) sin tener en cuenta las diferencias con el resto de casos.

2.5.2.5.- Mezclas binarias de hidrocoloides

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables respuestas de los geles que contenían mezclas binarias utilizando el test de Bonferroni (apartado 2.5.1.2).

2.5.2.6.- Gelificación inducida por alta presión

Las condiciones de presurización (presión-tiempo-temperatura) más adecuadas para la gelificación del homogeneizado de músculo de bacaladilla con 1 % de NaCl, se determinaron por medio del **diseño de superficie de respuesta** (RSM) como en el apartado 2.5.1.4. Se estudió el efecto de la combinación presión (200-420 MPa), tiempo (10-30 min) y temperatura (0-38°C) (Tabla 2).

Los niveles extremos de las variables fueron determinados según los siguientes criterios: la presión mínima para desnaturalizar la miosina (Yamamoto *et al.*, 1990) y la máxima de la capacidad del equipo de alta presión; el tiempo según márgenes de aplicación industrial; y la temperatura por ensayos previos en los que se observó a partir de 40 °C disminuye la capacidad gelificante del gel determinada mediante la prueba de plegado (Pérez-Mateos *et al.*, 1996; Pérez-Mateos y Montero, 1997).

Se realizó un análisis factorial por componentes principales (apartado 2.5.1.3.1) sobre todas las medias de los valores obtenidos en los geles de músculo de bacaladilla elaborados por tratamiento de alta presión (presión-tiempo-temperatura) según el diseño de superficie de respuesta.

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

presión	tiempo	temperatura
[MPa]	[min]	[°C]
245	14	8
375	14	8
245	26	8
375	26	8
245	14	33
375	14	33
245	26	33
375	26	33
200	20	20
420	20	20
310	10	20
310	30	20
310	20	0
310	20	38
310	20	20
310	20	20
310	20	20
310	20	20
310	20	20
310	20	20
310	20	20

2.5.2.7.-Gelificación por alta presión con hidrocoloides y estudio comparativo con los geles inducidos térmicamente

Se llevo a cabo mediante un **análisis de varianza de una vía** utilizando el test de Bonferroni (apartado 2.5.1.2) entre los distintos tratamientos de gelificación: a presión atmosférica (gel T: 37°C 30 min/ 90 °C 50 min) y con proceso de alta presión (gel L: 200 MPa, <10 °C, 10 min; gel H: 375 MPa, 37 °C, 20 min). Se analizaron todas las características (propiedades reológicas, capacidad de retención de agua y color) para

cada hidrocoloide.

El estudio del efecto de la alta presión, en el proceso de gelificación del músculo de bacaladilla con hidrocoloides, se llevó a cabo mediante análisis multivariante (apartado 2.5.1.3). Se efectuó análisis factorial por componentes principales (apartado 2.5.1.3.1); análisis Clúster (apartado 2.5.1.3.2) y análisis discriminante (apartado 2.5.1.3.3).

1.- GELIFICACIÓN TÉRMICA A PRESIÓN ATMOSFÉRICA

1.1.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO

1.1.1.- Caracterización de la materia prima

Los geles obtenidos en esta primera parte del estudio se elaboraron a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla capturada a principios del mes de mayo (Lote 1) con una longitud y peso medio de $20,8 \pm 1,0$ cm y $78,0 \pm 8,5$ g, respectivamente.

El músculo picado y lavado de bacaladilla presenta un rendimiento medio de 45 % respecto al peso del pescado entero, y de un 70 % referido al peso del músculo picado sin lavar. Estos rendimientos son semejantes a los obtenidos con otras especies como, por ejemplo, sardina (Gómez-Guillén, 1994), lo cual pone de manifiesto el mayor rendimiento con un único lavado en comparación con el logrado en la elaboración de *surimi*.

En la tabla 3, se detalla la composición en constituyentes básicos y el color del músculo picado y lavado de bacaladilla. Comparando estos resultados con los obtenidos en trabajos anteriores para esta misma especie (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a,b), se observa que se encuentran dentro de los márgenes usuales de composición centesimal; si bien, hay que destacar las diferencias en el contenido en agua del músculo picado y lavado, que pueda deberse a la época de captura o al estado funcional de la proteína que conllevan a modificaciones en la capacidad de retención de agua. Las diferencias entre los lotes dentro de una misma especie, se atribuyen al tiempo transcurrido desde la captura hasta el procesado, a la naturaleza estacional de la pesca y también a factores no controlados durante el procesado (Smith *et al.*, 1980; Whittle y McDonald, 1982; Ofstad *et al.*, 1992; MacDonald *et al.*, 1994; Gómez-Guillén *et al.*, 1997a).

Tabla 3.a.- Composición centesimal del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 1)

	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
Lote 1	$80,25 \pm 0,33$	$0,65 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,04$	$13,31 \pm 0,18$

No figura el porcentaje de crioprotectores añadidos

Tabla 3.b.- Color del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 1)

	L^*	a^*	b^*

Lote 1	55,15 ± 1,06	-1,04 ± 0,10	9,34 ± 0,84
--------	--------------	--------------	-------------

Respecto al color (Tabla 3.b), la luminosidad no fue muy elevada, debido a que el músculo de ésta especie visualmente se caracteriza por presentar una tonalidad algo grisácea, en comparación con otras especies magras más blancas. No muestra elevada tonalidad roja (a^*), debido a que los restos de sangre se eliminaron con el lavado. Sin embargo, presenta cierta tonalidad amarilla (b^*).

Young y Whittle (1985) estudiaron las variaciones de color de músculos picados de pescado de diferentes especies. En el caso de la bacaladilla, vieron que oscilaba en un rango estrecho ($L = 50-55$, $a = 3-4$, $b = 11-13$). Según Ofstad *et al.* (1992), el color del músculo picado de bacaladilla mejora con dos lavados, no siendo necesario repetir más el proceso. Los autores consideran a esta especie como adecuada para la elaboración de *surimi* y de relativa buena calidad gelificante, aunque no llegue a presentar el alto grado de blancura del *surimi* de otras especies.

1.1.2.- Capacidad gelificante

En la figura 20, se muestra la evolución del módulo de rigidez en función de la temperatura de la muestra; se pueden distinguir tres regiones. En la primera, se produce un aumento de la rigidez entre 10 °C y 12,5 °C. Un incremento similar de la rigidez también se halló en *surimi* de Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) y, según los autores, puede corresponderse a un asentamiento inicial, ya que las temperaturas de alrededor 10°C son críticas en el procesado por dar lugar a un "premature" asentamiento antes del extrusionado o moldeado del homogeneizado (Montejano *et al.*, 1983).

Seguidamente, se produce un descenso de la rigidez entre 15°C y 25 °C, es decir, que la temperatura destruye el asentamiento inicial. Esto se puede atribuir a diversos factores como las características intrínsecas de las proteínas miofibrilares, tal y como indicaron Niwa *et al.* (1980) y Taguchi *et al.* (1986), o a la destrucción de enlaces de hidrógeno a estas temperaturas según sugirieron Niwa (1992) y Hamann (1994). Esta disminución en los niveles de rigidez también se ha encontrado en músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) (Gómez-Guillén *et al.*, 1997c), músculo de pota (*Todaropsis eblanae*) (Ayensa, 1997). En productos cárnicos, se ha atribuido a la presencia de grasa (Montejano *et al.* 1984) o de tejido conectivo. Sin embargo, no se puede atribuir a estos factores en bacaladilla ya que se trata de una especie magra, y además la desnaturalización del colágeno ocurre a temperaturas alrededor de 45 °C (Fernández-

Martín *et al.*, 1998).

Figura 20.- Perfil de gelificación térmica de músculo picado y lavado de bacaladilla homogeneizado con 1 % NaCl y 80 % humedad

Entorno a 40 °C, se observa un pico máximo de rigidez (15 kPa) que corresponde a temperaturas de asentamiento en numerosas especies (Shimizu *et al.*, 1981; Lanier *et al.*, 1982; Liu *et al.*, 1982; Montejano *et al.*, 1983; Álvarez y Tejada, 1997), debido, a la formación de interacciones hidrofóbicas (Niwa, 1992; Montero y Gómez-Guillén, 1996; Montero *et al.*, 1997b); y a la actividad *transglutaminásica* (Seki *et al.* 1990; Niwa, 1992; Nowsad *et al.*, 1996; Imai *et al.*, 1996) siendo muy elevada en esta especie (Ayensa, 1997). Algunas especies presentan dos temperaturas de máxima actividad *transglutaminásica*, una alrededor de 40 °C y otra a temperaturas inferiores, por la presencia de dos isoenzimas de la *transglutaminasa* (Kumazawa *et al.*, 1997). Pero no se puede generalizar ya que la actividad *transglutaminasa* depende de diversos factores como son la especie, y las condiciones del medio (temperatura, NaCl, pH).

Inmediatamente después del asentamiento, se produce un descenso en la rigidez alcanzando el mínimo alrededor de 55 °C. Esto puede ser debido a que la estructura formada en la etapa de asentamiento, se destruye parcialmente debido a cambios conformacionales de las proteínas por el efecto del incremento de energía térmica (Montejano *et al.*, 1983). Sano *et al.* (1988) atribuye este hecho a un estadio inicial del fenómeno de destrucción del gel denominado *modori* por la acción proteolítica de

proteasas termoestables. En este sentido, Ayensa (1997) señaló que el músculo de bacaladilla presentó un máximo de actividad proteolítica alrededor de 50-55°C.

A temperaturas superiores a 60 °C, se produjo un ligero incremento de la rigidez del gel pero sin llegar a alcanzar los altos valores de rigidez del asentamiento, posiblemente debido a una destrucción parcial irreversible de la red previamente formada, esta destrucción puede ser debida a la intensa actividad proteolítica. No obstante los valores de rigidez están dentro de los márgenes usuales obtenidos con geles de *surimi* de sardina (Álvarez y Tejada, 1997) y en músculo picado de sardina (Gómez-Guillén *et al.*, 1997a). Sin embargo, en otras especies como en el caso de manto de cefalópodo (*Dosidicus gigas*) se obtiene valores superiores de rigidez (Gómez-Guillén *et al.* 1997c). La temperatura de los picos detectados en el módulo de rigidez (Fig. 20) se corresponden con las temperaturas de desnaturalización de la miosina (45°C) y la actina (75 °C) determinada por calorimetría diferencial (DSC) en músculo picado de bacaladilla (Fernández-Martín *et al.*, 1998).

Estos resultados indican que es fundamental la etapa de asentamiento en el proceso de gelificación del músculo de bacaladilla. Por lo tanto, se realizaron diversos ensayos de gelificación a distintos tiempos de asentamiento y de calentamiento, encontrándose adecuadas 30-40 min para la primera etapa y 45-50 min para la segunda.

La concentración de sal es fundamental para solubilizar la proteína miofibrilar y así permitir el establecimiento posterior de los enlaces intermoleculares que conducen a la formación del gel. La concentración de NaCl para la solubilización de la proteína miofibrilar, se fijó en 1 % NaCl partiendo de pruebas previas en las que se observó que concentraciones superiores (2,5 % NaCl) originaron geles, en general, con inferiores características reológicas (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a).

La concentración óptima de NaCl no sólo depende de la especie sino de la funcionalidad de la proteína miofibrilar, así Gómez-Guillén *et al.* (1996a) hallaron que el músculo picado de sardina de alta capacidad gelificante no gelificó con concentraciones bajas de NaCl (1,5 %); mientras que el músculo picado con baja capacidad gelificante, gelificó con ambas concentraciones de sal (1,5 y 2,5 %). Gómez-Guillén *et al.* (1997c) también encontraron los mayores valores de rigidez en la gelificación de homogeneizados de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) con baja fuerza iónica (1,5 % NaCl). Otros autores (Ayensa *et al.*, 1997) estudiaron la capacidad gelificante de músculo de bacaladilla a diferentes fuerzas iónicas y pH observando que los mayores valores de trabajo de penetración de estos geles se producía a 0,05 M de NaCl y pH 7; mientras que en los geles de actomiosina aislada, a una fuerza iónica mayor (0,10 M).

En la tabla 4, se presentan los resultados de los análisis reológicos de geles de bacaladilla elaborados por distinto tratamiento térmico: en dos etapas con asentamiento (37 °C, 30 min / 90 °C, 50 min) o por calentamiento directo (90 °C 50 min). Con ambos tratamientos, se obtuvo la máxima puntuación en la prueba de resistencia al plegado.

En general, el doble tratamiento térmico dio lugar a geles con valores más elevados en las propiedades reológicas; destacan la dureza y el trabajo de penetración por ser, prácticamente, tres veces superiores a los obtenidos por calentamiento directo. La etapa de asentamiento permite que las proteínas puedan desdoblarse mejor e interactuar dando lugar a la formación de una matriz más ordenada y fuerte (Hermansson, 1979); obteniéndose geles más elásticos, cohesivos, con mayor dureza y capacidad de retención de agua (Ofstad *et al.*, 1992; MacDonald *et al.*, 1994). El efecto del asentamiento también es favorable en otras muchas especies (Shimizu *et al.*, 1981; Álvarez *et al.*, 1995; Montero y Gómez-Guillén, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1997b; Álvarez y Tejada, 1997).

Tabla 4.a.- Ensayo de penetración de geles de bacaladilla elaborados con 1 % NaCl y 80 % humedad

tratamiento	deformación hasta rotura [mm]	fuerza hasta rotura [N]	trabajo de penetración [N.mm]
37°C 30 min/90°C 50 min	9,8 ± 0,4 a	3,9 ± 0,3 a	38,8 ± 4,1 a
90°C 50 min	7,0 ± 0,2 b	1,7 ± 0,1 b	11,5 ± 1,0 b

Tabla 4.b.- Ensayo de compresión de geles de bacaladilla elaborados con 1 % NaCl y 80 % humedad

tratamiento	dureza [N]	adhesividad [J]	cohesividad (%)	elasticidad (%)
37°C 30 min/90 ° 50 min	160 ± 5,6 a	0,55 ± 0,02 a	52,0 ± 0,4 a	40,0 ± 0,2 a
90°C 50 min	65,3 ± 5,3 b	0,43 ± 0,02 b	37,4 ± 2,5 b	54,3 ± 3,3 b

1.2.- GELIFICACIÓN CON ADICIÓN DE HIDROCOLOIDES

Las propiedades reológicas de los geles están determinada por el tipo y la concentración de aditivo, así como por su estado físico (hidratado, gelificado) debido a las condiciones de procesado (Lee y Kim, 1986; Maga y Fapojuwo, 1988; Yoo y Lee, 1993).

Hay que señalar que el efecto de los hidrocoloides u otro aditivo (proteínas de origen no muscular) sobre la gelificación del músculo picado de pescado y *surimi* depende de la capacidad gelificante de la proteína miofibrilar (Lee, 1994; Lee *et al.*, 1992; Gómez-Guillén y Montero, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1996a). La adición de estos aditivos sobre *surimi* de alta calidad gelificante logra disminuir la excesiva elasticidad, cohesividad, dureza de algunos productos gelificados; mientras que si el *surimi* es de baja capacidad gelificante, aumenta sus propiedades texturales y ligantes. Así, se adicionó almidón al músculo de bacaladilla con baja capacidad gelificante para favorecer el proceso de gelificación (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a).

1.2.1.- Características de la materia prima

Para esta parte del trabajo, se utilizó el lote 2 de músculo picado y lavado de bacaladilla capturada en el mes de noviembre con una longitud y peso medio de 22,2 ± 1,8 cm y

101,1 ± 22,3 g, respectivamente.

En la tabla 5, se detalla la composición en constituyentes básicos y color de dicho lote. Los resultados obtenidos muestran una composición centesimal similar al lote 1 (apartado 1.1.1), aunque con pequeñas diferencias significativas en el porcentaje de grasa, si bien, en ambos casos es muy baja por tratarse de una especie magra. El mayor contenido en agua del músculo picado de bacaladilla puede deberse al efecto de las condiciones climáticas que influyen sobre el estado fisiológico del pez. Respecto al color, este músculo picado fue algo más blanco (más luminoso y menos amarillo, rojo) que el del lote 1, si bien las diferencias fueron pequeñas. Según las determinaciones de Park (1995) a mayor contenido en agua en el gel elaborado *desurimi*, más luminoso y menos amarillo resultó el color del gel, resultando poco afectado la tonalidad roja (*). Asimismo, Reppond y Babbitt (1997) encontraron que la luminosidad se incrementó con el contenido en agua del gel; pero los cambios a^* y b^* dependían de la especie *desurimi*.

En la tabla 6 se muestran las propiedades reológicas de los geles elaborados con músculo picado de bacaladilla del lote 2, como se puede observar presentan valores similares al de los geles elaborados con el lote 1 (Tabla 4).

Tabla 5.a.- Composición centesimal de músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 2)

	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
Lote 2	81,75 ± 0,71	0,40 ± 0,05	0,16 ± 0,03	13,25 ± 0,31

No figura el porcentaje de crioprotectores añadidos

Tabla 5.b.- Color del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 2)

	L^*	a^*	b^*
Lote 2	58,16 ± 2,30	-0,65 ± 0,18	8,53 ± 0,31

Tabla 6.1.- Prueba de plegado y propiedades reológicas obtenidos en el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo (Lote 2) con adición de 1 % NaCl y 80 % de humedad final

	prueba de plegado	deformación hasta rotura [mm]	fuerza hasta rotura [N]	trabajo de penetración [N.mm]
Lote 2	5	10,5 ± 0,6	3,9 ± 0,5	41,0 ± 2,5

Tabla 6.2.- Propiedades reológicas obtenidos en el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo (Lote 2) con adición de 1 % NaCl y 80 % de humedad final

	dureza [N]	adhesividad [J]	cohesividad (%)	elasticidad (%)
Lote 2	119 ± 9	0,52 ± 0,04	55,0 ± 0,9	44 ± 0,4

Tabla 6.3.- Capacidad de retención de agua y color de geles de homogeneizado de músculo (Lote 2) con adición de 1 % NaCl y 80 % de humedad final

	capacidad retención agua (%)	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
Lote 2	75,68 ± 1,23	67,71 ± 2,65	-2,46 ± 0,10	5,45 ± 0,35

1.2.2.- Efecto de los diferentes hidrocoloides empleados

En este apartado se estudia el efecto de la adición de los hidrocoloides a las distintas concentraciones ensayadas en músculo picado y lavado de bacaladilla (Lote 2): 0,5, 1, 2, 3, 4 %, seleccionadas en base a ser éste el rango de concentraciones de uso más frecuente en la elaboración de productos reestructurados. La concentración más adecuada dependerá de las características del producto a desarrollar, pero en general, se consideran como más idóneas las que originan geles con los mayores valores en las propiedades del gel ya que tecnológicamente es más fácil disminuirlas hasta conseguir la aceptación del producto.

1.2.2.1.- Goma garrofin

En la tabla 7, se pueden observar los valores medios de las propiedades analizadas, así como sus desviaciones estándar en los geles de músculo picado de bacaladilla elaborados con 1 % NaCl, 80 % de humedad final y adición de goma garrofin a diferentes concentraciones (0,5, 1, 2, 3 y 4 %) y sometidos a tratamiento térmico de 37°C, 30 min / 90 °C, 50 min a presión atmosférica.

Con cualquiera de las concentraciones inferiores a 4 % de goma garrofin, se obtuvo la máxima puntuación en la prueba de plegado. Sin embargo, disminuyó cuando se incorporó el 4 % en la formulación. Esto puede ser debido a que la goma garrofin a bajos niveles refuerce zonas débiles de la red proteica; pero a partir de unos niveles, al no gelificar por si misma, llega a interferir en el proceso de gelificación de la proteína miofibrilar o bien por el efecto de disminución de la concentración proteica, al sustituir en la fórmula proteína por un porcentaje relativamente elevado de aditivo (Burgarella *et al.*, 1985; Yoo y Lee, 1993).

La adición del hidrocoloide al músculo originó una disminución de la concentración proteica, que osciló de 13,06 % en los geles con 0,5 % de goma garrofin a 10,89 % en los geles que contenían 4 % de hidrocoloide. Otra causa puede ser la competitividad por el agua entre el hidrocoloide y la proteína miofibrilar, impidiéndose de esa manera una adecuada gelificación (Gómez-Guillén y Montero, 1997).

Concentraciones inferiores o iguales a un 2 % de goma garrofin originaron los mayores valores de fuerza hasta rotura y trabajo de penetración ($p \leq 0,05$) y, especialmente, destacan los geles con un 1 % de goma garrofin por su alta deformabilidad ($p \leq 0,05$). Respecto a las propiedades determinadas en el ensayo de compresión, no fueron dependientes de la cantidad adicionada, ya que el valor obtenido para cada concentración estudiada no se desvió notablemente de la media total del conjunto, a pesar de que mostraron algunas diferencias significativas entre las distintas concentraciones añadidas. Además, hay que señalar que, por lo general, los geles fueron más duros y adhesivos que el gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6).

Lee y Chung (1989) observan que el ensayo de penetración mide el grado de compactación o densidad de la red actomiosina; mientras que el ensayo de compresión está relacionado con las propiedades de unión de la matriz del gel. Las propiedades de rotura por penetración del gel están determinadas por la estructura de la matriz y por las interacciones intermoleculares de tal forma que se detectan cambios debidos a

modificaciones en las fuerzas intermoleculares o a variaciones en la homogeneidad del gel (Foegeding *et al.*, 1995). Mientras que en el ensayo de compresión, las propiedades permanecen más estables hasta el momento de rotura (Hamann y MacDonald, 1992).

Por otra parte, hay que señalar que la menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$), se obtuvo con la adición de goma garrofín a la concentración más baja. Si embargo, en todos los casos fue bastante elevada y superior a la del gel sin adición de hidrocoloide (Tabla 6.3), ya que las gomas se caracterizan por su alto carácter hidrofílico, por lo que son muy utilizadas para reducir la sinéresis de los alimentos. Baidón *et al.* (1987) observaron que la adición de goma garrofín a geles de κ -carragenato en sistema modelo disminuyó el grado de sinéresis. Mientras que la capacidad de reforzamiento mecánico se produjo a una determinada proporción de hidrocoloides, la capacidad de retención de agua fue independiente de su participación en el entramado molecular del gel, ya que a mayor concentración de goma garrofín hay mayor capacidad de retención de agua. Sin embargo, como se observa en la tabla 7, en miosistema no se incrementó la capacidad de retención de agua con concentraciones superiores al 1 % de este hidrocoloide.

Respecto al color, la luminosidad (L^*) se mantuvo invariable con la concentración de hidrocoloide ($p \leq 0,05$); sin embargo, se incrementó la tonalidad roja (a^*) y la amarilla (b^*) con la concentración de goma garrofín en el gel ya que dicho aditivo presenta cierta coloración amarilla.

1.2.2.2.- Goma guar

La puntuación obtenida en la prueba de plegado disminuyó a partir de concentraciones superiores del 2 % de goma guar (Tabla 8). Esta disminución en la resistencia al plegado también se refleja en una disminución notable en los valores de las propiedades determinadas en los ensayos de compresión; incluso disminuye la cohesividad respecto a la del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6.2).

Igual que en el caso anterior, esta goma no gelifica sino que tan sólo presentan una función espesante que puede modificar las propiedades gelificantes del músculo por diversas razones tales como: disminuir la concentración proteica o bien por competir por el agua o bien por interferir en la formación del gel. En este caso incluso, proporciones de 0,5 % de hidrocoloide fueron capaces de debilitar la estructura del gel, si se comparan con los datos del gel sin adición de hidrocoloide (Tabla 6).

Los mayores valores en las propiedades del ensayo de penetración se obtuvieron añadiendo este hidrocoloide en la menor concentración (0,5 %), alcanzándose valores de trabajo de penetración del doble de la media total del conjunto. Aunque con adiciones tan bajas de hidrocoloide la capacidad de retención de agua fue muy inferior ($p \leq 0,05$) a las obtenidas con el resto de las concentraciones ensayadas; aunque superiores a la del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6.3).

Y el hecho de que la mayor capacidad de retención de agua, no dé lugar a incrementos en la mayoría de las propiedades reológicas puede deberse a que la goma guar no gelifica.

A medida que la cantidad de esta goma en los geles fue mayor, se produce una ligera tendencia a disminuir la luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*); pero con un aumento de la tonalidad amarilla (b^*) debido a una ligera tonalidad amarilla de dicho hidrocoloide.

1.2.2.3.- Goma xantana

Como se indica en la tabla 9, fueron también las concentraciones inferiores las que dieron significativamente lugar a los geles con los mayores valores en las propiedades reológicas. Es decir, la presencia de este hidrocoloide incluso a bajas concentraciones interfiere en la gelificación de la proteína muscular (Tabla 6), debido probablemente a un efecto de impedimento estérico por el gran tamaño de la molécula de xantana. Sin embargo, en estas condiciones el gel presentó la menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$), aunque superiores a la del gel sin adición de hidrocoloide (Tabla 6.3) debido a que las gomas por su carácter hidrofílico retienen alta cantidad de agua, por lo que se utilizan para evitar la sinéresis en los productos congelados. El hecho de que mayor capacidad de retención de agua no vaya acompañado de incrementos en las propiedades reológicas, de lo que se puede deducir que no interacciona con la proteína miofibrilar.

Por el contrario, Xiong y Blanchard (1993) encontraron que concentraciones de 0,5 % de xantana fueron las más adecuadas para retener el agua en los geles de proteínas miofibrilares solubles de pollo, ya que incrementaron la capacidad de retención de agua en alrededor un 40 %, no aumentando la retención de agua con concentraciones superiores.

Según explicaron los autores, se puede deber a que a esta concentración (0,5 %), la matriz formada por la proteína y por el hidrocoloide presenta una disposición adecuada para retener el agua físicamente. Además, se produce una reducción de la fuerza hasta rotura del gel de proteínas solubles de pollo por la adición de goma xantana, mayor cuanto mayor fue la concentración, lo cual indica que la adición de hidrocoloide interfiere en la gelificación de la proteína miofibrilar.

Respecto al efecto del color debidos al diferente nivel de hidrocoloide utilizado, no existen una gran influencia en la luminosidad del gel; pero sí sobre los parámetros a^* y b^* que aumentaron con concentraciones crecientes de goma xantana, posiblemente por el color beige de este hidrocoloide.

1.2.2.4.- Carragenatolota

En la tabla 10 destacan las características reológicas analizadas en los geles de bacaladilla con concentraciones de 0,5 % de ι -carragenato, especialmente en el caso del trabajo de penetración en el que presenta valores dos veces superiores a la media total del conjunto ($p \leq 0,05$); sin embargo, fueron inferiores a los del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6.1). Esto está de acuerdo con los resultados del trabajo de Gómez-Guillén y Montero (1997) que encontraron una disminución de la deformación hasta rotura por adición de 2 % de ι -carragenato en la elaboración de geles de manto de calamar (*Dosidicus gigas*) con respecto a los elaborado sin adición de hidrocoloide, pero sin modificaciones en los valores de fuerza hasta rotura.

Por el contrario, los geles con 0,5 % de ι -carragenato presentaron los menores valores de capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$); pero superiores a los del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6.3). Bloukas *et al.* (1997) coincidieron en el uso de 0,5 % de ι -carragenato en salchichas tipo frankfurt de bajo contenido en grasa, por considerar que era éste el nivel óptimo para lograr unas adecuadas propiedades físicas y organolépticas.

A concentraciones de 3 y 4 %, a pesar de presentar bajos valores en las propiedades reológicas, muestran una elevada elasticidad y capacidad de retención de agua. Estos resultados podrían ser debidos a que el hidrocoloide al hidratarse forme un elevado número de cavidades que originan bajos valores de las propiedades determinadas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración) pero, a la vez, gelificando en una estructura muy elástica. Montero *et al.* (1992) encontraron que adición de 3-4 % de ι -carragenato mejoró la capacidad gelificante de forma considerable con aumento de la puntuación en la prueba de plegado en geles elaborados de músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*). Nakayama *et al.* (1988) hallaron que la adición de ι -carragenato en concentraciones crecientes incrementó los valores de fuerza hasta rotura del gel en la elaboración de pasta de sardina en conserva; sin embargo, no modificó la deformación hasta rotura. Segúndanto *et al.* (1990), el aumento de la capacidad gelificante del *surimi* de Alaska pollack por adición de carragenatos es debido a la interacción de los grupos sulfatos del carragenato con la proteína miofibrilar.

Otros autores también encontraron que la adición de ι -carragenato incrementó la capacidad de retención de agua en geles de carne de vaca (Fogeding y Ramsey, 1987); y en geles de calamar (*Dosidicus gigas*) (Gómez-Guillén y Montero, 1997). También observaron Gómez-Guillén y Montero (1996) un incremento de la capacidad de retención de agua del gel elaborado con 2 % de ι -carragenato y músculo picado de sardina

(*Sardina pilchardus*); los autores señalaron diferencias en el efecto de ι -carragenato debidas a la capacidad gelificante del músculo y al nivel de NaCl adicionado para solubilizar la proteína miofibrilar.

Da Ponte *et al.* (1985), encontraron también valores inferiores en la capacidad de retención de agua del gel de músculo picado de bacalao respecto al gel sin adición de hidrocoloides, explicando que podía deberse a que el κ -carragenato es difícil de hidratar dentro del miosistema; por otra parte, destacan que el ι -carragenato presenta mayor capacidad de retención de agua que el κ -carragenato. Sin embargo, DeFreitas *et al.* (1997a) observaron que ambos carragenatos incrementaron la capacidad de retención de agua de las proteínas solubles de carne de cerdo. Según Barbut y Mittal (1996), la adición de carboximetilcelulosa (0,5 %) en la elaboración de salchichas tipo frankfurt disminuyó la capacidad de retención de agua debido probablemente a que el hidrocoloide recubre la proteína miofibrilar impidiendo que ésta capture el agua. Este hidrocoloide, en el rango de concentraciones ensayadas, no modificó los parámetros que miden el color del gel ($p \leq 0,05$); a pesar de que en estado seco presenta un aspecto beige claro, por lo cual, incrementa la luminosidad respecto al sin adición de hidrocoloide (Tabla 6.3).

1.2.2.5.- Carragenatokappa

En todos los casos, se obtuvo el máximo de puntuación en la prueba de plegado (Tabla 11). Montero *et al.* (1992) encontraron que concentraciones crecientes (1-4 %) de κ -carragenato en geles de músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*) no mejoraron la capacidad gelificante, en ninguno de los casos se incrementó el valor de la prueba de plegado.

La deformación hasta rotura disminuye con el aumento del porcentaje de hidrocoloide; siendo como en el caso de ι -carragenato inferiores a la del gel sin hidrocoloides (Tabla 6.1); por el contrario, aumenta la fuerza hasta rotura. La adición de κ -carragenato en la elaboración de pasta de sardina en conserva incrementó notablemente la fuerza hasta rotura y, ligeramente, la deformación hasta rotura del gel con la concentración (Nakayama *et al.*, 1988). También en geles de *surimi* de Alaska pollack, la adición de cantidades mayores (0-12 %) de κ -carragenato dio lugar al aumento en la fuerza hasta rotura del gel; sin embargo, concentraciones superiores a 4 % originaron una disminución de la deformación del gel (Niwa *et al.*, 1988a).

Ipsen (1997) investigó el efecto del aumento del trabajo de penetración con el incremento de la concentración de κ -carragenato en geles elaborados con proteína aislada de soja o guisante. Según la relación de carragenato/proteína, el carragenato formaría parte de la matriz proteica o, por el contrario, la matriz continua la formaría el hidrocoloide.

Sin embargo, DeFreitas *et al.* (1997a) sugirieron que el κ -carragenato no modifica la formación de la matriz proteica ya que no cambió el perfil electroforético de las proteínas solubles de carne de cerdo. Además, los autores supusieron que los incrementos en los valores de trabajo de penetración no se debieron a la interacción proteína-hidrocoloide, ya que éstos no se incrementaron con la concentración proteica.

Los valores de dureza y de adhesividad de los geles de bacaladilla (Tabla 11) aumentaron significativamente a medida que se incrementó la concentración de κ -carragenato, alcanzándose valores muy superiores a la media del total con niveles de 4 % de κ -carragenato, a pesar del menor porcentaje de proteína en el gel, lo cual pone en evidencia el efecto gelificante del κ -carragenato. También Foegeding y Ramsey (1987) observaron que el κ -carragenato era más efectivo que el ι -carragenato para aumentar la dureza de geles de carne de vaca. Konstance (1993) encontró que la dureza de los geles de caseinato sódico, comprimidos al 50 %, fue mayor con la adición de un 2 % de κ -carragenato.

Respecto a la cohesividad de estos geles no hubo diferencias significativas debidas a la concentración añadida. Sin embargo, la fuerza de adhesión aumentó a medida que se incrementó la concentración de κ -carragenato, siendo muy superior a la del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6.2); al igual, que la capacidad de retención de agua y la elasticidad. Niwa *et al.* (1988b) encontraron una elevada fuerza de adhesión entre la suspensión de κ -carragenato y la superficie de los geles *desurimi* de Alaska pollack. Por tanto, es de destacar la firmeza que confiere el κ -carragenato al gel, principalmente por las propiedades de fuerza y dureza, además de la adhesividad; mientras que el ι -carragenato ofrece elasticidad.

Según se observa en la tabla, la adición de κ -carragenato dio lugar a la formación de geles con menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$) que el resto de los hidrocoloides analizados. Prácticamente, se podría decir que no se incrementó la capacidad de retención de agua del gel sin adición de hidrocoloides (Tabla 6), por tanto, esto parece sugerir que el κ -carragenato adicionado sin hidratar no es capaz de competir fuertemente con el agua retenida por la proteína miofibrilar. Da Ponte *et al.* (1985) encontraron también valores inferiores en la capacidad de retención de agua del gel de músculo picado de bacalao respecto al gel sin adición de hidrocoloides, explicando que podía deberse a que el κ -carragenato es difícil de hidratar dentro del miosistema. Según Bernal *et al.* (1987) puede ser debido a que el carragenato (principalmente, κ -carragenato) no interaccione con la proteína del gel, por lo cual sólo retiene agua en los espacios intersticiales. Sin embargo, en geles *desurimi* de Alaska pollack, la adición de κ -carragenato logró disminuir la pérdida de agua (Niwa *et al.*, 1988a). Esta diferencia en los resultados puede deberse, principalmente, al modo de incorporación de los aditivos (Dexter *et al.*, 1993).

En cuanto a las modificaciones de color de los geles, al igual que con ι -carragenato, no se observaron importantes variaciones en el rango de concentraciones ensayadas.

1.2.2.6.- Carboximetilcelulosa sódica

Únicamente se obtuvo la máxima puntuación en la prueba de plegado con adición de 0,5 % de carboximetilcelulosa (Tabla 12). También los mayores valores de trabajo de penetración, dureza y cohesividad se obtuvieron en los geles que presentaron 0,5 %.

En general, este hidrocoloide disminuyó las características reológicas respecto a las del gel con músculo solamente (Tabla 6), pero presentan una elevada capacidad de retención de agua, por lo cual, quizás resulte interesante su uso en mezcla con otros hidrocoloides. Por tanto, incluso las concentraciones inferiores de carboximetilcelulosa interfirieron en la gelificación de la proteína miofibrilar (Tabla 6), probablemente debido a su gran tamaño molecular que impide estéricamente la formación de enlaces. Sin embargo, la capacidad de retención de agua del gel se incrementó con la adición de carboximetilcelulosa, probablemente debido a su alta capacidad de hidratación.

Niwa *et al.* (1992) observaron un efecto semejante en las propiedades reológicas determinada, señalando una disminución de los valores de deformación y fuerza hasta rotura, pero con un descenso de la capacidad de retención de agua de los geles de surimi (*Theragra chalcogramma*) con el incremento de la concentración de carboximetilcelulosa (0-6 %).

Como en los geles con carragenatos, este derivado de celulosa tampoco originó modificaciones significativas en ninguno de los parámetros de color del gel a las concentraciones estudiadas, aunque el hidrocoloide presenta un color crema suficiente par producir cambios en el color respecto al gel del músculo (Tabla 6.3). No se modificó por la adición de carragenato (ι , κ o mezcla de ambos tipos) en salchichas tipo frankfurt en concentraciones comprendidas entre 0,25-1 % respecto a la muestra control sin adición de carragenatos (Bloukas *et al.*, 1997). Sin embargo, sí varió el color por la adición de carboximetilcelulosa (0,5 %); aunque no se modificó ninguna de las características texturales analizadas (Barbut y Mittal, 1996).

1.2.2.7.- Alginato sódico

A pesar de sus bajos valores en las propiedades mecánicas (Tabla 13), los geles presentaron la máxima puntuación en la prueba de plegado con cualquiera de las concentraciones ensayadas; si bien es frecuente que el alginato forme geles friables, por lo que no alcanza el máximo valor en la prueba de plegado.

La elasticidad y capacidad de retención de agua alcanzaron incrementos en un 10 % con aumentos del nivel de hidrocoloide adicionado. Sin embargo, los máximos valores de las características reológicas, determinadas en el ensayo de penetración, se lograron con 0,5 % de alginato; si bien, fueron inferiores a la del gel sin adición de hidrocoloide (Tabla 6.1). Por otra parte, fueron las concentraciones inferiores a 3 % las que dieron los mayores valores de dureza del gel ($p \leq 0,05$).

Montero *et al.* (1992) hallaron que adición de alginato o almidón a músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*) con baja capacidad gelificante no contribuyó de manera evidente a la formación del gel; mientras que al adicionar 2 % de alginato con 8 % de almidón, se logró la máxima puntuación en la prueba de plegado. Niwa *et al.* (1992) señalaron la disminución de los valores de deformación y fuerza hasta rotura y capacidad de retención de agua de los geles de surimi (*Theragra chalcogramma*) con concentraciones mayores de hidrocoloide (0-6 %).

Nielsen *et al.* (1996) sugirieron, por análisis sensorial, el uso de niveles de 0,5 % de alginato cálcico para la elaboración de productos reestructurados de carne de vaca; aunque con concentraciones superiores, se alcanzaron mayores valores de fuerza hasta rotura de gel, y menores pérdidas de agua durante la cocción. King (1983) encontró que la resistencia de geles de alginato aumentó a medida que era mayor la concentración del alginato.

Clarke *et al.* (1988) explicaron que la alta efectividad del alginato en la reducción de pérdidas de agua por la cocción podría ser debida a la capacidad de retención de agua del hidrocoloide junto con la inhibición de la migración del agua retenida por el gel formado por el alginato.

Xiong y Blanchard (1993) encontraron que concentraciones de 0,5 % de alginato fueron las más adecuadas para retener el agua, ya que a dicha concentración se incrementó en alrededor un 40 % respecto a la del gel de proteínas solubles de pollo sin adición de hidrocoloide, no consiguiendo aumento de los valores con concentraciones superiores. Por el contrario, obtuvieron una reducción de la fuerza hasta rotura del gel de proteínas solubles de pollo con la adición de 0,5 % de alginato y mayor con rangos entre 1-2 %, lo cual indica que la adición de hidrocoloide interfiere en la gelificación de la proteína miofibrilar.

La adición de alginato sódico en los geles de bacaladilla a las distintas concentraciones no originó grandes variaciones en el color, tan sólo ligeros incrementos en la tonalidad roja (a^*) y en la tonalidad amarilla (b^*) con el aumento de la concentración de alginato adicionado, incluso a bajas concentraciones respecto al gel sin adición de hidrocoloide (Tabla 6.3), probablemente porque el hidrocoloide presenta cierta tonalidad amarilla.

1.2.3.- Comparación de características de los geles con hidrocoloides

Para analizar si los hidrocoloides originan geles con características propias que se diferencian a las originadas por adición de otro tipo de hidrocoloide o bien muestra una acción semejante, se realizó un análisis discriminante a partir de todos los resultados obtenidos en el apartado anterior (1.2.2). Esto es cada una de las doce propiedades determinadas (prueba de plegado, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, capacidad de retención de agua, color (L^* , a^* , b^*) para todos los geles con adición de cada uno de los siete hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato *iota*, carragenato *kappa*, carboximetilcelulosa, alginato sódico) a cada una de las cinco concentraciones estudiadas (0,5, 1, 2, 3, 4 %).

De todas las propiedades analizadas en el apartado anterior (1.2.2), destaca principalmente la dureza ya que, mayor participación en cuanto mayor es el valor numérico del estadístico F, y en menor medida el color de los geles (L^* , a^* , b^*), la deformación hasta rotura, la elasticidad (Tabla 14.1) por ser las características de los geles que más discriminan entre los geles según el tipo de hidrocoloide adicionado.

Tabla 14.1.- Variables dependientes que discriminan, según el hidrocoloide adicionado, los grupos formados a partir de las características de los geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla e hidrocoloide, elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica

Variable	Valor F
dureza	61,5
luminosidad (L^*)	36,3
rojo (a^*)	23,8
deformación hasta rotura	19,6
amarillo (b^*)	13,7
elasticidad	12,3
prueba de plegado	7,6
adhesividad	6,2
capacidad de retención de agua	6,2

Se han utilizado quince casos por cada tipo de hidrocoloide para clasificarlos en cada grupo según determina el análisis discriminante (Tabla 14.2). De tal forma que el hidrocoloide que origina geles con características específicas de éste que no se confunden con las de otros geles es el carragenato *iota*, ya que los 15 casos están clasificados al cien por cien en su grupo. Por el contrario, la carboximetilcelulosa sólo lo está en un 66,7 % ya que seis de sus elementos son afines en características de los geles originados por otros hidrocoloides. En conjunto un 88,6 % del total queda representado como tales grupos de geles con características propias debidas al hidrocoloide, si bien los geles con goma garrofín, goma xantana y κ -carragenato quedan altamente definidos con un 93,3 %.

En la representación gráfica del análisis discriminante (Fig. 21), la primera variable canónica es la combinación lineal de las variables que mejor discriminan entre los grupos (Tabla 14.1) a lo largo del eje de abscisas (X); mientras que la segunda variable canónica, a lo largo del eje de ordenadas (Y). Se puede observar que los siete grupos de hidrocoloides quedan incluidos en tres grandes grupos afines por presentar características de efecto similar en la gelificación del músculo de bacaladilla. En un primer grupo, las galactomananas (goma garrofín, goma guar); en el segundo, los carragenatos (*iota* y *kappa*); y un tercero, la goma xantana, la carboximetilcelulosa y el alginato sódico.

Especialmente, es de señalar que de todo el conjunto de hidrocoloides, el κ -carragenato por originar geles muy duros y la xantana muy blandos. Esto debilidad de los geles con goma xantana puede atribuirse al alto peso molecular, ya que polímeros muy grandes pueden interferir en el proceso de gelificación de la proteína miofibrilar.

Así, la propiedad reológica que más destaca es la dureza respecto al resto de características de los geles analizadas, lo cual indica, que a igualdad de condiciones de procesado, el tipo de hidrocoloide utilizado es fundamental para modificar la dureza de los geles.

Para estudiar más profundamente las analogías y diferencias entre el efecto que los hidrocoloides causan, se realizó un análisis discriminante englobando cada una de las doce propiedades determinadas (prueba de plegado, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, capacidad de retención de agua, color (L^* , a^* , b^*) para cada uno de los geles con adición de cada uno de los siete hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato *iota*, carragenato *kappa*, carboximetilcelulosa, alginato sódico) a cada una de las cinco concentraciones estudiadas (0'5, 1, 2, 3, 4 %).

Tabla 14.2.- Clasificación de Jackknifed donde los grupos, según el hidrocoloide adicionado, están constituidos por los geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla e hidrocoloide: Ga (goma garrofín), Gu (goma guar), Xa (goma xantana), IC (ι -carragenato), KC (κ -carragenato), CMC (carboximetilcelulosa sódica) y Alg (alginato sódico) y elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica. En las columnas se indica el número de casos clasificados en cada grupo

De todas las propiedades analizadas en el apartado anterior (1.2.2), destaca principalmente la deformación hasta rotura con un valor estadístico similar al obtenido en el anterior análisis discriminante realizado para diferenciar el tipo de hidrocoloide (Tabla 14.1), y en menor medida la capacidad de retención de agua (Tabla 15.1) por ser estas las características de los geles que más discriminan entre los geles según la concentración de hidrocoloide adicionado; el resto de las propiedades presentando menor participación.

Tabla 15.1.- Variables dependientes que discriminan, según la concentración (0,5, 1, 2, 3 y 4 %), los grupos formados a partir de las características de los geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla e hidrocoloide, elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica

variable	valor F
deformación hasta rotura	18,32
capacidad de retención de agua	10,37
adhesividad	4,51
dureza	4,12

Los resultados del análisis discriminante (Tabla 15.2) muestran que la concentración que origina geles con características específicas de esta porcentaje, que no se confunden en un 81 % de los casos con propiedades más típicas de los geles a diferente concentración de hidrocoloide es la de 0,5 %, ya que de los 21 casos que corresponderían al grupo puro hay tres casos que presentan características propias de otras cantidades empleadas. Por el contrario, el resto de concentraciones están menos identificadas en su grupo. En conjunto sólo un 38,1 % del total queda representado como tales grupos de geles con propiedades propias debidas a la concentración de hidrocoloide, si bien el porcentaje de 4 % queda definido en casi un 50 %.

A la concentración de **0,5 % de hidrocoloide** adicionado al músculo picado de bacaladilla, existe casos que presentan características similares a las de los geles con 1 % y 2 %, estos pueden ser los geles con una elevada deformación hasta rotura ($p < 0,05$) originados por la adición de goma garrofín; por los altos valores de trabajo de penetración ($p \leq 0,05$) producida en los geles que contenían goma esta goma o alginato sódico; también por los geles con goma garrofín o κ -carragenato por ser muy duros y adhesivos ($p \leq 0,05$); y los geles de goma xantana por ser muy elásticos ($p \leq 0,05$). La carboximetilcelulosa y el alginato sódico dieron lugar a geles con mayor tonalidad

amarilla (b^*) a pesar de encontrarse en pequeña cantidad.

Tabla 15.2. - Clasificación de Jackknifed donde los grupos, según la concentración (0,5, 1, 2, 3 y 4 %), están constituidos por los geles homogeneizado de músculo de bacaladilla e hidrocoloides, y elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica. En las columnas se indica el número de casos clasificados en cada grupo

A una concentración de **1 % de hidrocoloide** (Tabla 15.2) existe más casos con características similares a las propias originadas por otras concentraciones tanto superior (2 % y 4 %) como inferiores (0,5 %). Así los geles con la goma xantana se diferenció del resto de hidrocoloides por presentar los menores valores de dureza, adhesividad y elasticidad ($p \leq 0,05$). La presencia de carboximetilcelulosa dio lugar a geles con baja puntuación en la prueba de plegado y poca cohesividad ($p \leq 0,05$). En contraste, la adición de goma garrofín ofreció una alta deformabilidad ($p \leq 0,05$). Sin embargo, destacan los geles que contienen κ -carragenato, ya que mostraron altos valores de fuerza hasta rotura, dureza y adhesividad ($p \leq 0,05$), aunque inferiores en capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$). Los geles con goma garrofín presentaron valores de trabajo de penetración, prácticamente del doble de los que dieron el resto de hidrocoloides ($p \leq 0,05$). La mayor capacidad de retención de agua la alcanzaron los geles con 1 % de goma guar, goma xantana y alginato sódico ($p \leq 0,05$). Respecto a los valores de luminosidad (L^*) y la tonalidad amarilla (b^*), fueron los geles con carboximetilcelulosa o alginato los que ofrecieron los mayores valores ($p \leq 0,05$). La tonalidad roja (a^*) de los geles disminuyó por al adicionar κ -carragenato. También se diferencian los geles con goma garrofín por ser menos luminosos que el resto ($p \leq 0,05$), y la goma guar por dar una tonalidad bastante amarilla ($p \leq 0,05$).

La adición de **2 % de hidrocoloide** (Tabla 15.2) existe más casos con características similares a las propias originadas por otras concentraciones tanto superior (3 % y 4 %) como inferiores (0,5 % y 1 %). Los geles con κ -carragenato tuvieron valores altos de fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza y adhesividad muy superiores al obtenido con el resto de hidrocoloides; aunque con valores inferiores de capacidad de

retención de agua ($p \leq 0,05$) muy similares a los del gel sin adición de hidrocoloides. Por otro lado, los geles que contenían goma garrofín se distinguen por su alta deformabilidad, trabajo de penetración y cohesividad ($p \leq 0,05$). También fueron muy cohesivos los geles que contenían 2 % de alginato sódico ($p \leq 0,05$). A partir de esta concentración (2 %), la elasticidad de los geles con ι -carragenato fue mayor que la obtenida con κ -carragenato. Sin embargo, como es característico según el tipo de carragenato, se obtuvieron geles más duros con *kappa* que con *iota*. Los geles de bacaladilla con adición de goma xantana o carboximetilcelulosa fueron los que sobresalieron por presentar valores muy bajos en la mayoría de las propiedades reológicas analizadas ($p \leq 0,05$). Respecto al color de los geles, predomina la luminosidad (L^*) de los geles con alginato sódico. La mayor disminución de la tonalidad roja (a^*) se obtuvo con carragenatos y goma guar. La carboximetilcelulosa y el alginato sódico provocaron una mayor tonalidad amarilla (b^*).

Con una concentración de hidrocoloide de **3 % de hidrocoloide** (Tabla 15.2) existe más casos con características similares a las propias originadas por otras concentraciones tanto superior (4 %) como inferiores (0,5 y 2 %). Es de destacar como la carboximetilcelulosa interfiere de manera notable en la formación del gel, como se aprecia por su baja puntuación en la prueba de plegado, confiere gran debilidad al gel, también apreciable por su escasa dureza; mientras que en el otro extremo, estarían los geles con κ -carragenato que ofrecieron una elevada dureza y fuerza hasta rotura, aunque baja capacidad de retención de agua, lo cual indica que parece interesante utilizarlo junto con otro ingrediente con alta capacidad hidratante. La mayor cohesividad se obtuvo en los geles que contenían goma garrofín o alginato sódico ($p \leq 0,05$). Respecto a la elasticidad, sobresale el gel con ι -carragenato ($p \leq 0,05$). Respecto a la luminosidad, fue mayor en los casos en que se utilizó carboximetilcelulosa o alginato ($p \leq 0,05$), pero también presentaron alta tonalidad amarilla (b^*). La goma garrofín y la goma xantana dieron mayor tonalidad roja (a^*) que el resto de los hidrocoloides.

A la concentración de **4 % de hidrocoloide** (Tabla 15.2) existe más casos con características similares a las propias originadas por otras concentraciones inferiores (1, 2 y 3 %). Las diferencias más destacables fueron que la adición de κ -carragenato o alginato sódico, ambos hidrocoloides con capacidad gelificante, fueron los únicos que originaron geles con la máxima puntuación en la prueba de plegado. Por otra parte, el carragenato *kappa* fue el hidrocoloide que sobresalió del resto por dar lugar a geles de bacaladilla con los mayores de fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad; pero, sin embargo, con la menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$). El ι -carragenato se caracterizó por ofrecer la mayor elasticidad en el gel ($p \leq 0,05$) aunque no presentaron la máxima puntuación en la prueba de plegado, probablemente por ser blandos y débiles ocasionando su rotura al doblarlos. Sin embargo, la goma guar

fue la que originó los geles menos cohesivos ($p \leq 0,05$). Los geles con goma xantana y carboximetilcelulosa sobresalieron por ser geles muy adhesivos. Los geles con adición de goma xantana, y también aquellos con carboximetilcelulosa, fueron débiles y blandos. Respecto al color, se distinguen los geles con carboximetilcelulosa y alginato sódico por los valores superiores de luminosidad (L^*), si bien también fueron los que ofrecieron una tonalidad más amarilla (b^*).

Se puede decir que la disminución de los valores de las propiedades analizadas con el aumento de la concentración del hidrocoloide, puede interpretarse como una interferencia por parte de los hidrocoloides en la formación del gel, bien por impedimento estérico o bien por disminución de la concentración proteica. Mientras que el aumento de las propiedades reológicas puede deberse a un reforzamiento de la red proteica por la presencia del hidrocoloide actuando como coadyuvantes de la gelificación.

La dureza, el color (L^* , a^* , b^*) y la deformación hasta rotura fueron principalmente las propiedades que diferencian a los geles según el hidrocoloide adicionado a cualquier concentración utilizada; mientras que analizando el efecto de la concentración de todos los hidrocoloides, la deformación hasta rotura y la capacidad de retención de agua son las propiedades que caracterizan a los geles especialmente a la concentración de 0,5 %.

1.3.- INFLUENCIA DE CATIONES

Con objeto de favorecer la actuación de los hidrocoloides en la gelificación, se estudió la adición de cationes en forma de sales de cloruro (variando el tipo de sal y su concentración). Se eligió la concentración de 0,5 % de hidrocoloide, excepto 1 % para la goma garrofín, por ser estas las concentraciones más bajas que originaron los valores más elevados de la mayoría de las propiedades determinadas.

1.3.1.- Características de la materia prima

Para este estudio se utilizó un lote de músculo de bacaladilla capturada en el mes de enero (Lote 3), con una longitud y peso medio de $24,0 \pm 1,5$ cm y $128,4 \pm 24,6$ g, respectivamente.

La composición en componentes mayoritarios y el color del músculo picado y lavado de bacaladilla, se detalla en la Tabla 16. En comparación con los resultados obtenidos en los anteriores lotes (Tabla 3 y 5), presenta mayor contenido en proteína total lo cual es debido a la menor cantidad de agua del músculo. Respecto al color, se muestra algo más luminosa (L^*) pero con mayor tonalidad amarilla (b^*).

Tabla 16.1.- Composición centesimal de músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 3)

	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
Lote 3	$79,45 \pm 0,72$	$0,54 \pm 0,08$	$0,00 \pm 0,00$	$14,59 \pm 0,04$

No figura el porcentaje de crioprotectores añadidos

Tabla 16.2.- Color del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 3)

	L^*	a^*	b^*
Lote 3	$63,48 \pm 3,56$	$-0,20 \pm 0,25$	$11,35 \pm 0,28$

1.3.2.- Efecto de Na⁺, K⁺ y Ca²⁺

Dado que los hidrocoloides requieren la presencia de cationes, principalmente sodio, potasio y calcio, para favorecer su efecto en la gelificación, se realizó un experimento en concentraciones comprendidas entre 0-1 % para determinar la influencia, así como su posible efecto sinérgico o de interacción, de cada uno de los cationes y la proporción más adecuada en la fórmula final para cada uno de los hidrocoloides adicionados. Por medio de un diseño de superficie de respuesta (apartado 2.5.1.4) a partir de un número pequeños de ensayos (Tabla 1) se puede establecer un modelo de predicción de resultados y hallar las relaciones entre las variables. Las variables respuesta (características reológicas, capacidad de retención de agua, color) pueden ser descrita como una función de los parámetros tecnológicos estudiados (concentración de sales de cloruro), donde b_i son los coeficientes estimados de la ecuación (b_1, b_2, b_3 coeficientes lineales; b_{11}, b_{22}, b_{33} coeficientes cuadráticos; b_{12}, b_{13}, b_{23} coeficientes de interacción):

1.3.2.1.- Goma garrofin

Todos los geles elaborados con adición de goma garrofin y adición extra de cationes alcanzaron la máxima puntuación en la **prueba de plegado**. En la tabla 17.1, se presenta el modelo de regresión ajustado para el ensayo de penetración.

La **deformación hasta rotura** del gel mostró un coeficiente de correlación muy elevado (0,91). En la representación gráfica (Fig.22.1), se aprecia como a cualquier concentración de CaCl₂ estudiada se produce un descenso de la deformación debido a la presencia de cationes divalentes (Ca²⁺); sin embargo, la adición extra de NaCl favorece el aumento de la deformación hasta rotura (Tabla 17.1). En cuanto al efecto de los cationes añadidos sobre la **fuerza hasta rotura**, no se observó influencia significativa. Sin embargo, el **trabajo de penetración** (Tabla 17.1) tiende a disminuir por la presencia de Ca²⁺ ($p \leq 0,01$ en su componente lineal), el mismo efecto que sobre la deformación hasta rotura.

Figura 22.1.- Deformación hasta rotura

En la tabla 17.2, quedan indicados los modelos de regresión para cada una de las propiedades determinadas en el ensayo de compresión. La **dureza** presenta un coeficiente de correlación de 0,83. La presencia conjunta de cationes monovalentes (Na y K⁺) tiende a originar geles blandos.

Tabla 17.1.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 1 % goma garrofin y sales: % NaCl (b₁=1), % KCl (b₂=2) y % CaCl₂ (b₃=3), elaborados por tratamiento térmico

	Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	9,07	0,34	3,75	0,22	34,70	3,82
b ₁	0,68*	0,23	0,11	0,15	3,78	2,53
b ₂	0,095	0,23	-0,066	0,15	-0,16	2,53
b ₃	-1,28**	0,23	-0,32	0,15	-9,05**	2,53
b ₁₁	-0,067	0,22	0,12	0,14	0,38	2,47
b ₂₂	-0,17	0,22	-0,0029	0,14	-1,42	2,47
b ₃₃	0,43	0,22	0,26	0,14	5,39	2,47
b ₁₂	0,32	0,29	0,075	0,19	1,79	3,31
b ₁₃	-0,32	0,29	0,13	0,19	-0,44	3,31
b ₂₃	-0,049	0,29	0,075	0,19	0,44	3,31
r	0,91		0,71		0,82	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Respecto a la **adhesividad** del gel (Fig.22.2; Tabla 17.2), disminuye en la parte lineal de la función por la presencia de cationes monovalentes (Na⁺ y/o K⁺); mientras que por el contrario, parece ser que la presencia de Ca²⁺ favorece la obtención de geles adhesivos (parte lineal de la gráfica), pero se produce el efecto contrario, con concentraciones muy elevadas (parte cuadrática de la gráfica).

Figura 22.2.- Adhesividad

Tabla 17.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 1% goma garrofin y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	175,04	6,01	0,72	0,021	54,11	0,47	43,18	0,30
b_1	-7,37	3,99	-0,055**	0,014	0,76*	0,31	-0,15	0,20
b_2	-6,10	3,99	-0,032*	0,014	0,24	0,31	0,15	0,20
b_3	5,18	3,99	0,051**	0,014	-2,50**	0,31	0,98**	0,20
b_{11}	0,51	3,88	0,035*	0,013	-0,42	0,30	-0,13	0,20
b_{22}	-3,38	3,88	-0,0060	0,013	-0,24	0,30	-0,13	0,20
b_{33}	-8,33	3,88	-0,031*	0,013	-0,24	0,30	0,22	0,20
b_{12}	-14,63*	5,21	-0,037	0,018	1,13*	0,40	-0,50	0,26
b_{13}	7,38	5,21	0,037	0,018	-0,38	0,40	$-6,3 \cdot 10^{-16}$	0,26
b_{23}	2,13	5,21	0,013	0,018	-0,63	0,40	0,50	0,26
r	0,83		0,92		0,95		0,88	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

La adición de NaCl ($p \leq 0,05$ en la parte lineal) tiende a incrementar ligeramente la **cohesividad** del gel que contiene goma garrofin. Mientras que la adición de CaCl_2 ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) tienden a disminuir la cohesividad (Fig.22.3; Tabla 17.2). También se mostró significativa ($p \leq 0,05$) la interacción NaCl-KCl, favoreciendo la formación de geles cohesivos.

Figura 22.3.- Cohesividad

La presencia de Ca^{2+} ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) tiende a favorecer la formación de geles **elásticos** (Tabla 17.2); no se muestra influida significativamente por las sales de sodio y potasio.

La **capacidad de retención de agua** (Tabla 17.3) se ve incrementada por la presencia de cationes potasio ($p \leq 0,05$) o calcio ($p \leq 0,01$) ambos en su componente cuadrático. En cuanto al color, la presencia de Ca^{2+} ($p \leq 0,05$) tiende a originar geles de músculo de bacaladilla **luminosos** (L^*) (Tabla 17.3). La tonalidad **roja** (a^*), como se muestra en la figura 22.4, tiende a aumentar ligeramente por la presencia de CaCl_2 ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) y ligeramente a disminuir con niveles altos de CaCl_2 ($p \leq 0,01$ en su componente cuadrático) viéndose inhibido este efecto negativo por la presencia conjunta de Ca^{2+} y K^+ ($p \leq 0,05$). Por otra parte, la adición simultánea de Na^+ y Ca^{2+} ($p \leq 0,05$) aumenta ligeramente la tendencia **amarillo** (b^*).

Figura 22.4.- Color (a^*)

Tabla 17.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 1% goma garrofin y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	86,27	1,03	70,23	0,56	-2,00	0,025	5,18	0,095
b_1	0,049	0,69	-0,75	0,37	-0,015	0,017	-0,13	0,063
b_2	0,45	0,69	-0,20	0,37	-0,018	0,017	0,043	0,063
b_3	0,12	0,69	0,95*	0,37	0,095**	0,017	-0,0025	0,063
b_{11}	1,17	0,67	-0,73	0,36	-0,0089	0,016	5,6 ⁴	0,061
b_{22}	1,51*	0,67	-0,53	0,36	-0,0089	0,016	-0,014	0,061
b_{33}	2,26**	0,67	-0,32	0,36	-0,078**	0,016	0,048	0,061
b_{12}	-0,17	0,90	-0,16	0,48	-0,0075	0,022	-0,11	0,082

b ₁₃	-0,61	0,90	0,94	0,48	0,005	0,022	0,25*	0,082
b ₂₃	0,039	0,90	-0,27	0,48	0,055*	0,022	-0,016	0,082
r	0,80		0,83		0,93		0,79	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

En general, basándose en los resultados experimentales y en las tendencias observadas para la mayoría de las propiedades analizadas, las concentraciones de sales más adecuadas sería: ausencia de CaCl₂ y adición de 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl.

1.3.2.2.- Goma guar

La capacidad gelificante de los geles de músculo de bacaladilla elaborados con adición de goma guar y cationes, se ve reflejada en la **prueba de plegado** (Tabla 18.1). La presencia de cationes calcio (Ca²⁺) afecta negativamente en su componente lineal a la resistencia al plegado.

Asimismo, como se observa en las gráficas de contorno de superficie (Fig.23.1), la adición de cationes divalentes (Ca²⁺) originan geles menos **deformables** y también menos ofrecen menos deformación por la presencia de cationes monovalentes (Na⁺ K⁺) a concentraciones altas. En contraste, la presencia de Ca²⁺ presenta dos tendencias sobre la **fuerza hasta rotura** según el diferente signo de los coeficientes de regresión (Tabla 18.1): en el componente cuadrático, tiende a incrementar la fuerza de gel; mientras que en la parte lineal, su presencia tiende a interferir en la gelificación.

Figura 23.1.- Deformación hasta rotura

Tabla 18.1.- Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % goma guar y sales: % NaCl (b_i=1), % KCl (b_i=2) y % CaCl₂ (b_i=3), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	5,01	0,069	9,70	0,21	3,19	0,095	30,93	1,34
b ₁	0,037	0,046	0,19	0,14	0,027	0,063	0,85	0,89
b ₂	0,037	0,046	0,16	0,14	0,019	0,063	0,65	0,89
b ₃	-0,11*	0,046	-1,17**	0,14	-0,34**	0,063	-6,80**	0,89
b ₁₁	-0,040	0,045	-0,45**	0,13	-0,056	0,061	-1,74	0,86
b ₂₂	-0,040	0,045	-0,36*	0,13	-0,038	0,061	-1,44	0,86
b ₃₃	-0,040	0,045	0,12	0,13	0,14*	0,061	1,61	0,86
b ₁₂	0,063	0,060	-0,18	0,18	-0,15	0,082	-1,99	1,16
b ₁₃	0,063	0,060	-0,15	0,18	0,10	0,082	0,29	1,16
b ₂₃	0,063	0,060	-0,025	0,18	0,15	0,082	1,04	1,16
r	0,74		0,95		0,90		0,94	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Las gráficas de contorno de superficie de **trabajo de penetración** (Fig.23.2) muestran las mismas tendencias que la deformación hasta rotura (Fig. 23.1). Si bien, sólo mostró efecto significativo la presencia de cationes divalentes (Ca^{2+}) ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) que tiende a disminuir el trabajo de penetración de estos geles.

Figura 23.2.- Trabajo de penetración

El contenido de distintas concentraciones de cationes mono y divalentes en el homogeneizado de músculo de bacaladilla con goma guar no afectó a la **dureza** de los geles. Sin embargo, la presencia conjunta de iones calcio y sodio ($p \leq 0,05$) tiende a favorecer la formación de geles **adhesivos** (Tabla 18.2).

Como en el caso de goma garrofín, también el calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal)

tiende a originar geles menos **cohesivos** (Fig. 23.3; Tabla 18.2). Con la adición extra de KCl ($p \leq 0,05$ en su componente cuadrático), los geles resultaron meno**elásticos** (Tabla 18.2).

Figura 23.3.- Cohesividad

Tabla 18.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % goma guar y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	140,68	6,43	0,59	0,019	52,1	1,29	44,28	1,4
b_1	-2,19	4,27	-0,024	0,013	1,28	0,85	-0,49	0,95
b_2	0,16	4,27	-0,011	0,013	1,24	0,85	-1,48	0,95
b_3	-4,45	4,27	0,025	0,013	-5,04**	0,85	0,0034	0,95
b_{11}	4,43	4,15	0,020	0,013	-1,64	0,83	0,39	0,93
b_{22}	-2,10	4,15	0,010	0,013	-0,40	0,83	-2,44*	0,93
b_{33}	2,31	4,15	-0,0066	0,013	0,13	0,83	0,032	0,93
b_{12}	4,50	5,57	-0,018	0,017	1,63	1,11	0,13	1,24
b_{13}	10,25	5,57	0,049*	0,017	-1,88	1,11	-0,63	1,24
b_{23}	6,00	5,57	0,027	0,017	2,38	1,11	0,63	1,24
r	0,67		0,84		0,92		0,72	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Los geles tienden a presentar la mayor **capacidad de retención de agua** (Fig.23.4;

Tabla 18.3) en aquellas fórmulas en las que se adiciona NaCl o CaCl₂ ($p \leq 0,01$ en su componente cuadrático); siendo menor la retención de agua en los geles cuando dichas sales se incorporan a concentraciones inferiores al porcentaje intermedio. También los iones calcio presentaron este mismo efecto en los geles de músculo de bacaladilla con adición de goma garrofín.

Figura 23.4.- Capacidad de retención de agua

Tabla 18.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L*, a*, b*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % goma guar y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl₂ ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L*		a*		b*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	77,26	1,12	69,11	0,32	-2,25	0,018	4,92	0,12
b ₁	-1,06	0,74	-0,013	0,21	-0,021	0,012	0,050	0,083
b ₂	0,89	0,74	0,16	0,21	-0,0043	0,012	-0,013	0,083
b ₃	-0,57	0,74	1,36**	0,21	0,080**	0,012	-0,19*	0,080
b ₁₁	2,99**	0,72	0,78**	0,21	0,056**	0,011	0,15	0,080
b ₂₂	1,29	0,72	0,63*	0,21	0,052**	0,011	0,12	0,080
b ₃₃	4,33**	0,72	-0,23	0,21	0,043**	0,011	0,15	0,080
b ₁₂	-0,41	0,97	0,11	0,28	-0,039*	0,015	-0,098	0,11
b ₁₃	-0,78	0,97	0,28	0,28	0,031	0,015	-0,05	0,11
b ₂₃	0,16	0,97	-0,52	0,28	-0,014	0,015	-0,03	0,11
r	0,92		0,94		0,96		0,77	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Por otra parte, la adición de sales, y especialmente CaCl₂, tienden a aumentar la

luminosidad como se observa en las gráficas (Fig.23.5); y como se deduce por los coeficientes de regresión con influencia significativa (Tabla 18.3), cuyo resultado global es predecible por la sustitución de dichos coeficientes en la ecuación del apartado 2.5.1.4.

Figura 23.5.- Color (L^*)

La tendencia al **rojo** representada por el parámetro a^* (Fig.23.6; Tabla 18.3) tiende a aumentar por adición de Ca^{2+} y por adición de concentraciones superiores a la media para los cationes monovalentes (Na^+ , K^+); pero disminuye, en su componente cuadrático, si se combinan cationes monovalentes (Na^+ y K^+). Como se señala en la Tabla 18.3, la tendencia al **amarillo** (b^*) tiende a disminuir por la presencia de Ca^{2+} ($p \leq 0,05$ en su componente lineal).

Figura 23.6.- Color (a^*)

Por tanto, la concentración más adecuada para favorecer la mayoría de las características sería igual que la seleccionada en goma garrofín: sin adición de $CaCl_2$ y 0,5 % NaCl y 0,5 % de KCl.

1.3.2.3.- Goma xantana

La resistencia a la **prueba al plegado** (Tabla 19.1) se incrementa ligeramente por la adición extra de sodio ($p \leq 0,05$ en su componente lineal), sin embargo, tiende a disminuir por la presencia de cationes calcio y potasio ($p \leq 0,05$ en su componente lineal).

y $p \leq 0,01$ en su componente cuadrático, respectivamente). En la figura 24.1 y Tabla 19.1, se muestran las gráficas de superficie de respuesta de la **deformación hasta rotura** de los geles, favoreciéndose la obtención de geles deformables con la adición extra de NaCl y CaCl_2 , en el caso de los cationes divalentes sólo en su componente cuadrático ($p \leq 0,05$), ya que en la parte lineal ($p \leq 0,01$) muestra el efecto contrario. Según Ma y Barbosa-Cánovas (1997) el incremento de las propiedades viscoelásticas de la goma xantana por adición de iones sodio y calcio podría deberse a la formación de enlaces de tipo no covalente.

En la figura 24.2 y Tabla 19.1, se representan las gráficas de contorno de superficie de la **fuerza hasta rotura**. En la parte cuadrática que se corresponde en la gráfica con concentraciones superiores a 0,5 %, la presencia de cualquiera de las sales de cloruro tiende a disminuir la fuerza hasta rotura del gel, e incluso, también en la parte lineal, la presencia de cationes divalentes presenta este efecto negativo. Además, los cationes Na^+ y Ca^{2+} cuando se adicionan conjuntamente acentúan este efecto.

Tabla 19.1. - Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % goma xantana y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	5,00	0,058	10,48	0,19	3,19	0,087	33,34	0,79
b_1	0,098*	0,039	0,39*	0,12	0,047	0,058	1,43*	0,52
b_2	-0,037	0,039	0,11	0,13	-0,066	0,058	-0,14	0,52
b_3	-0,11*	0,039	-0,79**	0,12	-0,27**	0,058	-5,27**	0,52
b_{11}	-0,072	0,038	-0,16	0,12	-0,15*	0,056	-1,96**	0,51
b_{22}	-0,16**	0,038	-0,057	0,12	-0,15*	0,056	-1,78**	0,51
b_{33}	0,016	0,038	0,28*	0,12	-0,15*	0,056	-0,46	0,51
b_{12}	-0,063	0,051	-0,11	0,16	0,088	0,075	0,1	0,68
b_{13}	0,063	0,051	-0,24	0,16	-0,21*	0,075	-2,43**	0,68
b_{23}	-0,063	0,051	-0,088	0,16	0,088	0,075	-1,3	0,68
r	0,90		0,93		0,92		0,97	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 24.1.- Deformación hasta rotura

Figura 24.2.- Fuerza hasta rotura

De las gráficas de contorno de superficie que representan la evolución del **trabajo de penetración** (Fig.24.3; Tabla 19.1), se observa que la presencia de sodio favorece la obtención de altos valores en la parte lineal de la gráfica; pero la adición de cationes divalentes presenta un efecto negativo, igual que con el resto de los hidrocoloides estudiados. Sin embargo, en la parte cuadrática, que se corresponden con concentraciones superiores al 0,5 % de sodio y potasio, tienden a disminuir los valores de dicha propiedad reológica. Análogamente al efecto presentado en la fuerza hasta rotura, la presencia de Na⁺ y Ca²⁺ simultáneamente incrementa el efecto negativo.

Figura 24.3.- Trabajo de penetración

Los geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla con goma xantana tienden a ser **blandos** por la adición de iones sodio y menos **adhesivos** por la adición de iones calcio

en su componente cuadrático (Tabla 19.2).

Los cationes divalentes también originaron geles menos adhesivos en el caso de goma garrofín. Respecto a la **cohesividad** de los geles, hay una tendencia a aumentar por la presencia de iones sodio, como en el caso de goma garrofín; pero a disminuir por los iones calcio, como en el resto de los hidrocoloides estudiados. Sin embargo, los geles tienden a ser más **elásticos** (Fig.24.4) por la adición de calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal), como ocurría con goma garrofín y, ligeramente, tiende a aumentar con adición de altas concentraciones de sodio.

La **capacidad de retención de agua** de los geles con adición de xantana se ve favorecida por la presencia de iones calcio en su componente cuadrático, como también se observó con las galactomananas: goma garrofín y goma guar (Tabla 19.3).

Tabla 19.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5% goma xantana y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % $CaCl_2$ (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	126,98	5,13	0,53	0,024	51,70	0,97	44,35	0,41
b_1	-4,17	3,41	-0,023	0,016	1,44*	0,65	-0,32	0,27
b_2	-0,44	3,41	-0,0078	0,016	0,22	0,65	-0,39	0,27
b_3	-0,33	3,41	0,019	0,016	-2,01**	0,65	1,81**	0,27
b_{11}	-8,47*	3,32	-0,023	0,016	-0,61	0,63	0,67*	0,27
b_{22}	-1,40	3,32	-0,012	0,016	-1,32	0,63	0,14	0,27
b_{33}	-5,99	3,32	-0,045*	0,016	0,62	0,63	-0,22	0,27
b_{12}	8,5	4,45	0,045	0,021	0	0,84	0,75	0,36
b_{13}	-1,25	4,45	0,0043	0,021	-0,5	0,84	-0,25	0,36
b_{23}	3,50	4,45	0,016	0,021	1	0,84	0,25	0,36
r	0,77		0,81		0,84		0,93	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Respecto al color (Tabla 19.3), los geles tienden a ser más **luminosos** (L^*) por la adición

de calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) como sucede con todos los hidrocoloides estudiados. Además, el calcio tienden a aumentar la tonalidad **roja** (a^*) y disminuir la tonalidad **amarilla** (b^*) en su componente lineal.

Figura 24.4.- Elasticidad

Tabla 19.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % goma xantana y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % $CaCl_2$ ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	75,68	1,29	68,72	0,45	-2,32	0,034	4,85	0,086
b_1	1,81	0,85	-0,29	0,30	-0,030	0,023	-0,072	0,057
b_2	0,24	0,85	-0,058	0,30	-0,019	0,023	0,022	0,057
b_3	-0,85	0,85	1,14**	0,30	0,055*	0,023	-0,22**	0,057
b_{11}	0,11	0,83	-0,13	0,29	0,021	0,022	-0,066	0,055
b_{22}	-0,89	0,83	0,095	0,29	-0,030	0,022	-0,063	0,055
b_{33}	2,08*	0,83	0,21	0,29	0,020	0,022	-0,065	0,055
b_{12}	-1,31	1,11	-0,05	0,39	0,014	0,030	0,034	0,074
b_{13}	-0,99	1,11	0,72	0,39	0,019	0,030	0,019	0,074
b_{23}	0,16	1,11	0,18	0,39	0,0038	0,030	-0,044	0,074
r	0,78		0,82		0,75		0,82	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Por tanto, según las tendencias observadas en las gráficas de contorno de superficie de la mayoría de las características analizadas podría ser: 0,7 % de NaCl, 0,5 % KCl y 0 % $CaCl_2$.

1.3.2.4.- Carragenato*iota*

La presencia de cationes tiende a disminuir la resistencia a la **prueba de plegado** en su

componente cuadrático (Fig.25.1; Tabla 20.1) y también en la parte lineal por adición de cationes divalentes, como se ha observado con el resto de los hidrocoloides estudiados. También el calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) interfiere negativamente en la **deformación hasta rotura** de los geles (Tabla 20.1), al igual que sucede en el resto de los hidrocoloides estudiados, excepto en el caso del alginato sódico. En la tabla 20.1, se indica el efecto negativo de la adición extra de sales de cloruro en la parte lineal de la **fuerza hasta rotura** de los geles con ι -carragenato, que como se observa en la figura 25.2 es el comportamiento más destacable. Este efecto se acentúa cuando están presentes simultáneamente el sodio y el calcio ($p \leq 0,05$).

Figura 25.1.- Prueba de plegado

Figura 25.2.- Fuerza hasta rotura

El **trabajo de penetración** parece que presenta la misma evolución que la fuerza hasta rotura, de tal modo, que disminuye por la adición extras de sales estudiadas en su componente lineal, si bien no se observa efecto de interacción entre los cationes. Según Ohashi *et al.* (1990a, 1991), los cationes ($\text{Ca}^{+2} > \text{K}^+ > \text{Na}^+$) se unen a los carragenatos bloqueando los grupos sulfatos impidiendo su interacción con la proteína. El efecto de los cationes depende de su concentración, así la baja concentración parece que estabiliza mientras que la alta concentración presenta efecto opuesto (Ambjerg Pedersen y Jørgensen, 1991).

Figura 25.3.- Trabajo de penetración

Tabla 20.1. - Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % ι -carragenato y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % CaCl₂ (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	4,67	0,14	6,96	0,14	2,22	0,057	15,23	0,55
b ₁	-7,5.10 ⁻¹⁸	0,091	-0,040	0,090	-0,19**	0,038	-1,28**	0,37
b ₂	0,15	0,091	0,020	0,090	-0,17**	0,038	-1,06*	0,37
b ₃	-0,69**	0,091	-0,41**	0,090	-0,17**	0,038	-2,23**	0,37
b ₁₁	-0,23*	0,088	-0,17	0,088	-0,015	0,037	-0,41	0,36
b ₂₂	-0,23*	0,088	-0,099	0,088	0,021	0,037	-0,10	0,36
b ₃₃	-0,23*	0,088	0,17	0,088	-0,015	0,037	0,47	0,36
b ₁₂	-0,25	0,12	-0,088	0,12	-0,038	0,050	-0,49	0,48
b ₁₃	-0,25	0,12	0,19	0,12	-0,14*	0,050	-0,41	0,48
b ₂₃	-7,9.10 ⁻¹⁷	0,12	-0,038	0,12	-0,038	0,050	-0,35	0,48
r	0,95		0,88		0,94		0,93	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Montero *et al.* (1992) estudiaron el efecto de diferentes niveles de NaCl en la gelificación del músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*), encontrando que para geles con adición de ι -carragenato junto con almidón, los valores más altos de trabajo de penetración, fuerza y deformación hasta rotura se obtuvieron a una concentración de NaCl 1 %.

Los geles de músculo de bacaladilla con ι -carragenato tienden a ser **blandos** por la adición de cationes divalentes (Tabla 20.2), como en el resto de los hidrocoloides estudiados en los apartados anteriores, y además poco **cohesivos**. Respecto a la

adhesividad (Tabla 20.2), la adición de sales influyen negativamente, igual comportamiento se observó con goma garrofín. Sin embargo, los geles tienden a ser más **elásticos** con la adición de CaCl_2 (Fig.25.4; Tabla 20.2), lo cual, parece indicar que la resistencia a la prueba al plegado está más relacionada con la deformación hasta rotura y debilidad del gel que con la elasticidad determinada por medio del ensayo de relajación de tensión por compresión a deformación constante.

Tabla 20.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % ι -carragenato y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % CaCl_2 (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	124,69	3,66	0,61	0,017	44,25	1,23	49,90	1,15
b_1	-4,84	2,43	-0,028*	0,011	0,44	0,81	-0,40	0,76
b_2	-5,13	2,43	-0,034*	0,011	0,59	0,81	-1,26	0,76
b_3	-12,04**	2,43	-0,0075	0,011	-3,52**	0,81	4,66**	0,76
b_{11}	0,67	2,43	-0,0060	0,011	-0,46	0,79	1,60	0,74
b_{22}	0,67	2,36	0,011	0,011	-0,46	0,79	0,71	0,74
b_{33}	-1,98	2,36	-0,043**	0,011	2,02*	0,79	0,18	0,74
b_{12}	-4,38	3,17	0,0020	0,015	-1,88	1,06	0,63	0,99
b_{13}	0,88	3,17	-0,0043	0,015	0,63	1,06	0,13	0,99
b_{23}	-0,88	3,17	-0,020	0,015	0,38	1,06	-0,38	0,99
r	0,89		0,89		0,87		0,91	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 25.4.- Elasticidad

En general, la **capacidad de retención de agua** de los geles (Fig. 25.5; Tabla 20.3) tiende a aumentar en la parte lineal de la gráfica debido a la adición de cationes monovalentes (Na^+ y K^+) pero disminuye en la parte cuadrática, que se corresponde con concentraciones superiores a 0,5 %. En cuanto al calcio, su adición tiende a disminuir la capacidad de retención de agua de los geles ($p \leq 0,01$ en su componente lineal). Trius *et al.* (1994a) observaron, en salchichas de cerdo, el aumento de la capacidad de retención de agua al adicionar KCl en combinación con ι -carragenato.

Figura 25.5.- Capacidad de retención de agua

Según la gráfica de contorno de superficie (Fig.25.6), los valores de **luminosidad** tienden a incrementarse, como con el resto de los hidrocoloides estudiados, por adición de cationes calcio en la parte lineal de la gráfica; pero se produce el efecto contrario en la parte cuadrática de la gráfica, que se corresponde con concentraciones altas de CaCl_2 . En este caso, también el sodio y el potasio influyen aumentando la luminosidad de los geles, ambos en la parte lineal de la gráfica (Tabla 20.3). La tendencia **rojo** (parámetro a^*), en general, tiende a aumentar ligeramente con adición de calcio (Fig.25.7; Tabla 20.3), como también se observó en el caso de las galactomananas (goma garrofín y goma guar); aunque con ι -carragenato, la adición de KCl provoca una disminución de esta tonalidad, tanto en su componente lineal como en el de su interacción con calcio. La tonalidad **amarilla** (b^*) sólo se ve afectada por la presencia de iones calcio disminuyendo ligeramente (Tabla 20.3), tal y como sucedía con la goma guar y la goma xantana.

Tabla 20.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % ι -carragenato y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
	b_0	77,66	1,36	72,47	0,31	-2,34	0,023	5,11

134 Influencia de cationes

b ₁	2,88**	0,90	-0,68**	0,21	-0,040	0,015	-0,10	0,050
b ₂	2,61*	0,90	0,55*	0,21	-0,054**	0,015	-0,02	0,050
b ₃	-6,98**	0,90	1,40**	0,21	0,10**	0,015	-0,13*	0,050
b ₁₁	-3,15**	0,88	-0,14	0,20	-0,011	0,015	-0,018	0,049
b ₂₂	-2,47*	0,88	-0,016	0,20	0,011	0,015	0,0082	0,049
b ₃₃	-0,86	0,88	-1,29**	0,20	-0,023	0,015	-0,085	0,049
b ₁₂	-0,73	1,18	0,54	0,27	0,005	0,020	0,053	0,066
b ₁₃	0,92	1,18	0,10	0,27	0,03	0,020	-0,04	0,066
b ₂₃	2,14	1,18	0,59	0,27	-0,055*	0,020	0,05	0,066
r	0,95		0,99		0,94		0,79	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 25.6- Color (L^*)

Figura 25.7- Color (a^*)

Por los resultados obtenidos, parece indicar que el ι -carragenato contiene en su composición los cationes necesarios para la gelificación, no siendo la adición extras de sales.

1.3.2.5.- Carragenatokappa

La prueba de plegado (Fig.26.1) muestra una tendencia similar a la presentada por el ι -

carragenato. Si bien, en este caso (Tabla 21.1) la presencia de concentraciones extras de NaCl superiores a 0,5 % muestra un efecto significativo y de signo negativo en la parte cuadrática de la gráfica, y de CaCl₂ su componente lineal.

Figura 26.1.- Prueba de plegado

También, al igual que la evolución mostrada por la resistencia al plegado, la **deformación hasta rotura** (Tabla 21.1) tiende a disminuir por la presencia de iones calcio, como ocurre con el resto de los hidrocoloides estudiados, excepto en el caso del alginato sódico. Pero además, se ve afectado también negativamente por la presencia de sales de sodio y potasio, ambos en su componente cuadrático.

Tabla 21.1.- Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % κ -carragenato y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % CaCl₂ (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	4,01	0,095	6,76	0,21	2,62	0,062	17,82	0,81
b ₁	0,062	0,063	0,13	0,14	-0,22**	0,041	-0,93	0,54
b ₂	0,073	0,063	0,14	0,14	-0,17**	0,041	-0,52	0,54
b ₃	-0,47**	0,063	-0,63**	0,14	-0,29**	0,041	-3,34**	0,54
b ₁₁	-0,15*	0,062	-0,45**	0,14	-0,025	0,040	-1,44*	0,52
b ₂₂	-0,060	0,062	-0,41*	0,14	-0,043	0,040	-1,49*	0,52
b ₃₃	-0,060	0,062	-0,0058	0,14	-0,096*	0,040	-0,33	0,52
b ₁₂	0	0,083	-0,088	0,19	0,013	0,054	-0,19	0,70
b ₁₃	3,2.10 ⁻¹⁸	0,083	0,013	0,19	-0,088	0,054	-0,54	0,70
b ₂₃	0,13	0,083	-0,19	0,19	-0,063	0,054	-0,81	0,70
r	0,93		0,90		0,96		0,92	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Al igual que en el caso de ι -carragenato, la adición de sales de cloruro tiende a disminuir la **fuerza hasta rotura** (Fig.26.2; Tabla 21.1) ajustándose al modelo con un coeficiente de correlación múltiple también muy elevado ($r = 0,96$).

De la gráfica de contorno de superficie del **trabajo de penetración** (Fig.26.3; Tabla 21.1), se muestra como la adición de sales de cloruro produce un efecto similar al que se mostró en el caso de goma xantana. Destaca, como con el resto de los hidrocoloides estudiados, que los cationes divalentes (Ca^{2+}) originan un efecto de disminución de los valores de trabajo de penetración en su componente lineal. En cuanto que los iones monovalentes también producen una acusada disminución (en su componente cuadrático).

Figura 26.2.- Fuerza hasta rotura

Figura 26.3.- Trabajo de penetración

La adición extra de sales tiende a dar lugar a geles con menores valores de **dureza** (Fig.26.4; Tabla 21.2); mientras que en el caso de ι -carragenato sólo se veía influenciado por los cationes divalentes (Ca^{2+}). También DeFreitas *et al.* (1997c) hallaron que la adición de KCl afectaba la efectividad de ι y κ -carragenato dando lugar a

salchichas de cerdo más blandas. Por otro lado, Shand *et al.* (1994) describieron que los efectos más pronunciados de κ -carragenato sobre la textura se originaron con niveles de sal del 1%.

Figura 26.4.- Dureza

Tabla 21.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % κ -carragenato y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % CaCl₂ (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	144,57	3,72	0,78	0,032	38,17	0,99	52,57	1,28
b ₁	-6,74*	2,47	-0,076**	0,021	0,91	0,66	-0,55	0,85
b ₂	-7,99**	2,47	-0,051*	0,021	0,57	0,66	1,00	0,85
b ₃	-18,32**	2,47	-0,013	0,021	-5,98**	0,66	4,73**	0,85
b ₁₁	1,87	2,41	0,025	0,021	-0,78	0,64	0,049	0,82
b ₂₂	-4,32	2,41	-0,028	0,021	0,98	0,64	0,23	0,82
b ₃₃	-5,56*	2,41	-0,064**	0,021	-0,96	0,64	-1,19	0,82
b ₁₂	-0,13	3,23	-0,015	0,028	-0,38	0,86	1	1,11
b ₁₃	-0,63	3,23	4,9 ⁻⁴	0,028	-0,88	0,86	1	1,11
b ₂₃	1,13	3,23	6,4 ⁻⁴	0,028	-0,13	0,86	1,75	1,11
r	0,94		0,87		0,95		0,89	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Dentro de los carragenatos, el κ -carragenato es el menos sulfatado y, por otro lado, presenta menor capacidad gelificante. El κ -carragenato utilizado se encuentra en forma

de sal potásica, neutralizando las cargas negativas de los grupos sulfato de las dobles hélices que son las responsables de las repulsiones electrostáticas, por tanto, como resultado no fue necesario agregar iones K^+ . La presencia de K^+ es necesaria para obtener geles fuertes (Fernandes *et al.*, 1991b). Las características reológicas de los geles puros de carragenatos varían con la adición de iones, especialmente K^+ originando geles fuertes a concentraciones superiores a 0,5 % (szman *et al.*, 1987).

Ipsen (1997) observó que la adición de NaCl originó una disminución de los valores de trabajo de penetración y firmeza de los geles elaborados con proteína de soja o de guisante con adición de κ -carragenato; mientras que la adición de CaCl₂ no influyó en las propiedades reológicas. Según el autor, puede ser debido al efecto de la sal sobre la proteína, que modifica la solubilidad proteica y la estabilidad térmica, o bien sobre el hidrocoloide, variando la temperatura de gelificación.

En cuanto a la **adhesividad** (Tabla 21.2), se observa una pequeña disminución debido a la adición extras de sales al igual que con ι -carragenato. La **cohesividad** (Fig.26.5; Tabla 21.2) de los geles, al igual que en el caso del ι -carragenato, disminuye con la adición en la fórmula de CaCl₂ ($p \leq 0,01$) en su componente lineal. Sin embargo, se incrementa la **elasticidad** de los geles en estas mismas condiciones, como sucede con el resto de los hidrocolides estudiados.

Figura 26.5.- Cohesividad

Konstance (1993) encontró una disminución drástica de la dureza del gel de caseinato sódico al añadir KCl junto con κ -carragenato e ι -carragenato, al igual que una disminución de la cohesividad, de la elasticidad, de la fuerza de adhesión y de la capacidad de retención de agua respecto al gel de caseinato sódico con sólo adición de κ -carragenato.

La **capacidad de retención de agua** de los geles con adición de κ -carragenato tiende a disminuir por la adición de CaCl₂ (Tabla 21.3), como también se observó con ι -carragenato. Trius *et al.* (1994a) observaron pérdidas de agua en el cocinado si se

adiciona KCl. Los autores sugirieron que la presencia de KCl induce la formación de una estructura capaz de retener el agua. Asimismo, da Ponte *et al.* (1985) indicaron que a baja concentración de potasio, el κ -carragenato es difícil de hidratar y, por tanto, de gelificar dentro del músculo picado de bacalao.

Asimismo, como con el resto de los hidrocoloides estudiados, los valores de **luminosidad** (Fig.26.6; Tabla 21.3) tienden a incrementarse con la adición de CaCl_2 , pero como ocurría en el caso de ι -carragenato, se observa una tendencia contraria con concentraciones elevadas (parte cuadrática de la gráfica).

Tabla 21.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % κ -carragenato y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	68,02	1,51	71,71	0,33	-2,25	0,029	4,86	0,075
b_1	1,25	1,01	-0,23	0,22	-0,025	0,019	-0,19**	0,050
b_2	0,54	1,01	0,23	0,22	0,0062	0,019	-0,031	0,050
b_3	-5,71**	1,01	1,32**	0,22	0,12**	0,019	-0,082	0,050
b_{11}	-0,43	0,98	0,18	0,22	-0,033	0,019	0,066	0,048
b_{22}	-0,48	0,98	0,27	0,22	-0,0014	0,019	0,093	0,048
b_{33}	0,45	0,98	-0,71**	0,22	-0,069**	0,019	0,013	0,048
b_{12}	-2,70	1,32	0,031	0,29	0,021	0,025	0,041	0,065
b_{13}	-0,019	1,32	0,049	0,29	0,029	0,025	0,084	0,065
b_{23}	0,46	1,32	0,0013	0,29	-0,011	0,025	-0,036	0,065
r	0,89		0,92		0,92		0,85	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 26.6.- Color (L^*)

La presencia de calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) también produce un aumento de la tonalidad **roja** (a^*) (Fig.26.7; Tabla 21.3), al igual que en el caso de las galactomananas (goma garrofín y goma guar), goma xantana e ι -carragenato; pero con un efecto contrario en la parte cuadrática a elevadas concentraciones de CaCl_2 . Sin embargo, la tonalidad **amarilla** (b^*) tiende a disminuir ligeramente por la adición extra de sodio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal).

Figura 26.7.- Color (a^*)

Por tanto, según se deduce de las gráficas de contorno de superficie las concentraciones más idóneas para conseguir valores elevados de la mayoría de las características analizadas: 0,5 % NaCl, 0,5 % KCl y 0 % CaCl_2

1.3.2.6.- Carboximetilcelulosa sódica

La presencia de iones calcio ($p \leq 0,01$ en su componente lineal) influye negativamente sobre la **resistencia al plegado** (Tabla 22.1) como se ha observado en el resto de hidrocoloides estudiados; si bien lo favorece en su componente cuadrático.

Tabla 22.1. - Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % carboximetilcelulosa sódica y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	3,75	0,15	6,48	0,13	2,27	0,048	14,65	0,56

b ₁	0,17	0,10	-0,16	0,089	-0,14**	0,032	-1,33**	0,37
b ₂	0,098	0,10	0,096	0,089	-0,13**	0,032	-0,62	0,37
b ₃	-0,45**	0,10	-0,47**	0,089	-1,19**	0,032	-2,55**	0,37
b ₁₁	-0,016	0,10	-0,025	0,086	0,062	0,031	0,35	0,36
b ₂₂	-0,016	0,10	0,028	0,086	0,044	0,031	0,35	0,36
b ₃₃	0,25*	0,10	0,38**	0,086	0,026	0,031	1,25**	0,36
b ₁₂	-0,19	0,13	-0,23	0,12	-0,038	0,042	-0,73	0,48
b ₁₃	0,19	0,13	-1,3.10 ⁻¹⁸	0,12	-0,038	0,042	-0,095	0,48
b ₂₃	0,063	0,13	0,05	0,12	-0,038	0,042	-0,20	0,48
r	0,88		0,92		0,95		0,94	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

La evolución de la **deformación hasta rotura** se muestra en la figura 27.1, tiende a disminuir en la parte lineal por la adición de CaCl₂ (Tabla 22.1), como con el resto de los hidrocoloides estudiados; pero aumenta en la parte cuadrática, mostrando la menor deformación hasta rotura a concentraciones próximas al 0,5 %.

Figura 27.1- Deformación hasta rotura

Respecto a la **fuerza hasta rotura** tiende a disminuir con la adición extra de cualquiera de las sales en su componente lineal (Fig.27.1; Tabla 22.1), como también se observó con los carragenatos. El comportamiento de **trabajo de penetración** (Tabla 22.1) con la adición de sales es bastante similar a la evolución mostrada por la deformación hasta rotura; pero a diferencia de ésta, se vé influenciada negativamente por el sodio.

Figura 27.2.- Fuerza hasta rotura**Figura 27.3.-** Trabajo de penetración

Sobre la **dureza** (Fig.27.4d; Tabla 22.2), las sales de cloruro adicionadas junto con carboximetilcelulosa presentan un efecto parecido que en el caso de κ -carragenato (apartado 1.3.2.5); se produce una tendencia a obtener geles más blandos por la adición de sales de cloruro, aunque presenta un componente cuadrático positivo el potasio que origina el efecto contrario.

Figura 27.4.- Dureza

Tabla 22.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % carboximetilcelulosa sódica y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl₂ ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	126,21	2,98	0,65	0,016	44,55	1,09	50,33	0,46
b_1	-5,41*	1,98	-0,030*	0,011	0,42	0,73	0,98**	0,31

b ₂	-7,74**	1,98	-0,042**	0,011	-0,64	0,73	-0,25	0,31
b ₃	-8,00**	1,98	-0,0038	0,011	-3,45**	0,73	2,97**	0,31
b ₁₁	3,87	1,93	0,033**	0,010	-0,87	0,71	-0,43	0,30
b ₂₂	6,87**	1,93	0,027*	0,010	1,07	0,71	-0,78*	0,30
b ₃₃	-3,20	1,93	-0,053**	0,010	0,90	0,71	-0,96**	0,30
b ₁₂	-0,13	2,58	-0,0052	0,014	-0,13	0,95	0	0,40
b ₁₃	0,38	2,58	3,3 ⁻⁴	0,014	0,38	0,95	-1,25**	0,40
b ₂₃	3,38	2,58	0,0079	0,014	-0,88	0,95	0,5	0,40
r	0,93		0,94		0,87		0,96	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Asimismo, se obtuvo que la presencia de sales (NaCl, KCl, CaCl₂) tiende a disminuir la **adhesividad** (Fig.27.5; Tabla 22.2). En cuanto a la **cohesividad**, los geles tienden a resultar menos cohesivos por la adición de iones calcio en su componente lineal (Tabla 22.2), al igual que con los otros hidrocoloides estudiados en los apartados anteriores.

Figura 27.5- Adhesividad

Según se deduce en la gráfica de contorno de superficie (Fig.27.6), los geles más **elásticos** tienden a obtenerse con la adición de NaCl y CaCl₂ ($p \leq 0,01$ en su componente lineal), si bien el efecto de interacción entre Na⁺ y Ca²⁺ fue negativo (Tabla 22.2). Además, concentraciones de alrededor 0,5 % de KCl tienden a dar lugar a geles menos elásticos y también esto sucede con concentraciones muy elevadas de CaCl₂

Figura 27.6.- Elasticidad

La **capacidad de retención de agua** (Fig.27.7; Tabla 22.3) tiende a disminuir con la adición de cationes divalentes (Ca^{2+}), como ocurría en el caso de los carragenatos. También disminuye con la adición de cationes monovalentes (Na^+ y K^+) en la parte cuadrática de la función, es decir, con concentraciones algo superiores al 0,5 %.

Tabla 22.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % carboximetilcelulosa ácida y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	82,80	0,86	72,81	0,38	-2,20	0,022	5,55	0,057
b_1	1,16	0,57	-0,29	0,25	-0,038*	0,015	-0,049	0,038
b_2	1,08	0,57	-0,28	0,25	-0,022	0,015	-0,072	0,038
b_3	-4,50**	0,57	0,84**	0,25	0,022	0,015	-0,27**	0,038
b_{11}	-3,08**	0,55	-0,061	0,25	0,012	0,014	-0,056	0,037
b_{22}	-2,77**	0,55	0,066	0,25	0,018	0,014	-0,021	0,037
b_{33}	-1,08	0,55	-0,51	0,25	0,0018	0,014	0,034	0,037
b_{12}	0,37	0,74	0,40	0,33	-0,0025	0,019	0,021	0,049
b_{13}	-1,02	0,74	0,13	0,33	0,013	0,019	-0,0088	0,049
b_{23}	-0,66	0,74	0,39	0,33	-0,0025	0,019	-0,016	0,049
r	0,96		0,82		0,76		0,93	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 27.7.- Capacidad de retención de agua

El color de los geles se ve modificado por la presencia de los tres tipos de sales de cloruro. Así, la **luminosidad** (L^*) tiende a incrementarse por la presencia de iones calcio, como con el resto de hidrocoloides estudiados. Sin embargo, la tonalidad **roja** (a^*) se aclara por la adición extra de NaCl. La tendencia al **amarillo** (b^*) (Fig.27.8; Tabla 22.3) presentó una tendencia a disminuir por adición de CaCl_2 ($p \leq 0,01$ en su componente lineal), como también se observó en el caso de goma guar, goma xantana y carragenato *iota*.

Figura 27.8.- Color (b^*)

Por las tendencias observadas en las propiedades analizadas y por los resultados obtenidos experimentalmente, la adición extra de sales más adecuada parece ser: adición de 1 % KCl y sin adición de NaCl ni CaCl_2 .

1.3.2.7.- Alginato sódico

El efecto de los cationes sobre la **prueba de plegado** (Fig.28.1; Tabla 23.1) de geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla con adición de alginato sódico, muestra el efecto del catión divalente (Ca^{2+}) que tiende a originar geles más quebradizos, como se ha observado también en el resto de los casos estudiados, y además, también por la adición de los cationes monovalentes, mostrando estos últimos un efecto de interacción significativo.

Figura 28.1.- Prueba de plegado

La **deformación hasta rotura** no se mostró influenciada significativamente por la presencia de iones. Sin embargo, tanto la **fuerza hasta rotura** como el **trabajo de penetración** tienden a disminuir con la adición extra de sales en su componente lineal (Tabla 23.1), similar comportamiento al del resto de hidrocoloides analizados, especialmente, por la presencia de calcio.

Según Ustunol *et al.* (1992), altos niveles de NaCl (0,5 M) desestabilizaron las interacciones electrostáticas entre el alginato y las proteínas miofibrilares de cerdo. Montero *et al.* (1992) estudiaron el efecto de CaCl₂ más adecuado en las fórmulas con alginato, obteniendo los mejores resultados (los mayores valores de trabajo de penetración, fuerza y deformación hasta rotura) con un 0,5 % CaCl₂ en el músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*), encontrando que para los geles con adición de carragenato junto con almidón los valores más altos de trabajo de penetración se obtenían con adición de 1 % NaCl.

Tabla 23.1. - Modelo de regresión ajustado para la prueba de plegado y el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % alginato sódico y sales: % NaCl (b=1), % KCl (b=2) y % CaCl₂ (b=3), elaborados por tratamiento térmico

	Prueba de plegado		Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	3,51	0,15	7,77	0,21	2,11	0,063	16,21	0,88
b ₁	0,073	0,096	-0,12	0,14	-0,17**	0,042	-1,34*	0,58
b ₂	-0,22*	0,096	0,074	0,14	-0,21**	0,042	-1,35*	0,58
b ₃	-0,88**	0,096	-0,012	0,14	-0,28**	0,042	-2,11**	0,58
b ₁₁	-0,22*	0,094	-0,25	0,14	-0,053	0,041	-0,87	0,57
b ₂₂	-0,042	0,094	-0,11	0,14	-0,018	0,041	-0,41	0,57
b ₃₃	-0,042	0,094	-0,12	0,14	-0,054	0,041	-0,55	0,57
b ₁₂	0,13	0,13	-0,13	0,18	0,038	0,055	-0,013	0,76
b ₁₃	-0,38*	0,13	-0,025	0,18	-0,088	0,055	-0,64	0,76
b ₂₃	0,13	0,13	0,1	0,18	0,038	0,055	0,59	0,76
r	0,96		0,61		0,95		0,86	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$
 ** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 28.2.- Fuerza hasta rotura

La adición de cationes muestra un fuerte y claro efecto sobre la **dureza** (Fig.28.3; Tabla 23.2), al igual que con κ -carragenato y carboximetilcelulosa, como resultado los geles tienden a ser más blandos. La pérdida de **adhesividad** (Fig.28.4; Tabla 23.2) se observa con la adición de NaCl y CaCl_2 . Sobre la **cohesividad** (Tabla 23.2) influyen negativamente los iones sodio (en su componente cuadrático) y calcio (en su componente lineal) (Fig.28.5).

Tabla 23.2.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5% alginato sódico y sales: % NaCl (b_1), % KCl (b_2) y % CaCl_2 (b_3), elaborados por tratamiento térmico

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	110,95	3,10	0,53	0,017	41,85	1,04	51,29	1,66
b_1	-6,72**	2,06	-0,047**	0,011	-0,023	0,69	-0,12	1,10
b_2	-6,73**	2,06	-0,025	0,011	-0,83	0,69	0,83	1,10
b_3	-21,12**	2,06	-0,044**	0,011	-7,46**	0,69	8,15**	1,10
b_{11}	-4,99*	2,00	-0,0051	0,011	-1,97*	0,67	0,70	1,07
b_{22}	-4,11	2,00	-0,023	0,011	-0,38	0,67	0,52	1,07
b_{33}	-6,94**	2,00	-0,038**	0,011	0,15	0,67	0,70	1,07
b_{12}	4	2,69	-0,0051	0,015	1,25	0,90	2	1,44
b_{13}	2,25	2,69	0,018	0,015	-1	0,90	-1,5	1,44
b_{23}	2,75	2,69	2,5 ⁻⁴	0,015	0,25	0,90	-0,25	1,44
r	0,97		0,92		0,96		0,92	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$
 ** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Figura 28.3.- Dureza

Figura 28.4.- Adhesividad

Figura 28.5.- Cohesividad

La **elasticidad** (Fig.28.6; Tabla 23.2) tiende a aumentar con la adición de CaCl_2 ($p \leq 0,01$ en su componente lineal), como en la mayoría de los hidrocoloides estudiados. De tal manera, que se puede llegar a modificar la elasticidad en un 20-30 % según la concentración de cationes calcio añadidos.

Figura 28.6.- Elasticidad

La **capacidad de retención de agua** (Fig.28.7; Tabla 23.3) del gel tiende a disminuir con adición del catión divalente (Ca^{2+}) en su componente lineal, mostrando a altas concentraciones de sal una ligera tendencia a recuperar los niveles de retención de agua

perdidos, también tiende a incrementarse con la adición de cationes monovalentes como Na^+ ($p \leq 0,05$ en su componente lineal). Con la variación en la concentración de cationes, se puede modificar la capacidad de retención de agua en un 20 %.

El color de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de alginato sódico, se modifica por la adición de cationes calcio. El parámetro L^* que representa la **luminosidad** tiende a aumentar, al igual que ocurriría con los otros hidrocoloides. La tendencia al **rojo**, representado por el parámetro a^* , no muestra influencia significativa por la adición de estas sales de cloruro. La tonalidad **amarilla** (b^*) tiende a disminuir por la adición de CaCl_2 , como en otros casos observados en los apartados anteriores dando en conjunto una tonalidad más blanca.

Figura 28.7.- Capacidad de retención de agua

Tabla 23.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo con 1 % de NaCl y adición de 0,5 % alginato sódico y sales: % NaCl ($b_1=1$), % KCl ($b_2=2$) y % CaCl_2 ($b_3=3$), elaborados por tratamiento térmico

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	67,79	1,41	71,62	0,41	-2,38	0,047	4,98	0,13
b_1	2,17*	0,93	0,11	0,27	-0,0095	0,031	-0,084	0,086
b_2	-1,89	0,93	-0,26	0,27	-0,061	0,031	-0,13	0,086
b_3	-8,37**	0,93	0,92**	0,27	0,058	0,031	-0,30**	0,086
b_{11}	-1,48	0,91	0,051	0,27	-0,0075	0,030	0,020	0,083
b_{22}	0,16	0,91	-0,51	0,27	-0,0075	0,030	-0,057	0,083
b_{33}	3,74**	0,91	-0,52	0,27	0,017	0,030	0,17	0,083
b_{12}	-0,48	1,22	-0,065	0,36	0,05	0,041	0,065	0,11
b_{13}	0,84	1,22	-0,38	0,36	0,065	0,041	-0,055	0,11
b_{23}	-0,078	1,22	0,52	0,36	-0,058	0,041	0,12	0,11
r	0,96		0,83		0,76		0,83	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Por los resultados obtenidos, parece indicar que el alginato sódico contiene en su composición los cationes necesarios para la gelificación, no siendo la adición extras de sales.

El color de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de alginato sódico, se modifica por la adición de cationes calcio. El parámetro L^* que representa la **luminosidad** tiende a aumentar, al igual que ocurría con los otros hidrocoloides. La tendencia al **rojo**, representado por el parámetro a^* , no muestra influencia significativa por la adición de estas sales de cloruro. La tonalidad **amarilla** (b^*) tiende a disminuir por la adición de CaCl_2 , como en otros casos observados en los apartados anteriores dando en conjunto una tonalidad más blanca.

Por los resultados obtenidos, parece indicar que el alginato sódico contiene en su composición los cationes necesarios para la gelificación, no siendo la adición extras de sales.

1.3.3.- Análisis multivariante

Dada la gran cantidad de datos obtenidos, se procede a realizar un análisis multivariante que nos permita establecer las relaciones existentes entre las características de los geles y la adición de sales en conjunto.

1.3.3.1.- Análisis factorial

Se realizó el análisis factorial de las propiedades analizadas en los geles con diversas sales y cada uno de los hidrocoloides y para todos los experimentos en global, con el fin de conocer las correlaciones entre las variables.

Las variables con elevada participación en un mismo factor tienden a estar altamente correlacionadas entre sí; mientras que las variables con escasa participación, tienden a estar poco correlacionadas.

1.3.3.1.1.- Goma garrofín

En rasgos generales, en la matriz de correlación (Tabla 24.1) destaca una alta correlación negativa de la concentración de CaCl_2 con la deformación hasta rotura y la cohesividad; y positiva con la elasticidad. Esto podría ser debido a que el ion calcio forme enlaces entre los puntos de conexión de la red, de manera que al aplicar una fuerza, se rompen fácilmente dichas uniones y se desmorona la estructura (geles poco deformables y cohesivos), pero que vuelven a orientarse y reestructurar al cesar la fuerza deformante aplicada (alta elasticidad).

La deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura están correlacionados en el mismo

sentido (positivo), por lo cual, el trabajo de penetración que es el producto de ambos parámetros, también está correlacionado con dichas propiedades.

La alta correlación positiva entre la adhesividad y la dureza, y negativa entre la adhesividad y la cohesividad, se puede explicar debido a que las fuerzas de conexión de la red del gel son fuertes (dureza) e interactúan con el exterior (alta adhesividad) pero no son capaces de mantener la estructura bajo una fuerza deformante (poco cohesivos).

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 89,7 % de la varianza está explicada por cinco factores. En la tabla 24.2, se muestra la contribución en orden descendiente de las variables a cada uno de los factores. El primer factor explica el 30,81 % de la variabilidad total y está formado mayoritariamente por las variables: cohesividad, elasticidad y CaCl_2 , estas dos últimos en sentido opuesto a la primera. El factor 2 también explica un alto porcentaje de la variabilidad total (24,65 %) y está constituido, principalmente, por las propiedades: fuerza hasta rotura y trabajo de penetración. El tercer factor está formado, principalmente, por las variables: tonalidad amarilla (b^*), NaCl . El cuarto factor (15,82 %) está constituido, principalmente, por KCl y el quinto factor (8,27 %) formado totalmente por la prueba de plegado.

Cada tipo de sal participa en un factor distinto; excepto en el caso de CaCl_2 que está presente en dos factores (Factor 1 y 2) aunque con predominio en el factor 1, donde su presencia disminuye la cohesividad, la deformación hasta rotura, el trabajo de penetración, pero sin embargo, favorece la elasticidad, la tonalidad roja (a^*), la capacidad de retención de agua, la dureza, la adhesividad. Por otro lado, el sodio (Factor 3) tiene un fuerte efecto negativo sobre la tonalidad amarilla (b^*) y la capacidad de retención de agua, y también aunque de forma menos acusada sobre la dureza y la adhesividad. La sal de potasio (Factor 4) también muestra un efecto negativo sobre la dureza, la adhesividad y la tonalidad roja (a^*); mientras que favorece la capacidad de retención de agua. El quinto factor está formado por la prueba de plegado.

Como se puede observar hay características como la elasticidad, fuerza hasta rotura, tonalidad amarilla (b^*), prueba de plegado, que sólo se ven influidas por la presencia de una sal; mientras que otras propiedades como la dureza de gel se ven afectadas por las tres sales.

1.3.3.1.2.- Goma guar

Como comportamiento general, la matriz de correlación entre las distintas variables (Tabla 25.1) muestra una alta correlación negativa entre la concentración de CaCl_2 y la deformación hasta rotura, la fuerza hasta rotura, el trabajo de penetración y la cohesividad. Como en el apartado anterior, la adición del catión divalente parece originar enlaces intermoleculares en el gel, que se rompen fácilmente (bajas valores en las propiedades determinadas en el ensayo de penetración) y se desmorona la estructura (baja cohesividad) que, al contrario a la goma garrofín, no se recuperan al cesar la fuerza deformante. Además, el calcio favorece la obtención de geles luminosos (L^*).

Y como también se encontró con goma garrofín, existe una alta correlación positiva entre la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura, y por tanto, con ambos con el trabajo de penetración ya que es el producto de los otros dos. Sin embargo, cuanto mayores son estos valores, menor cohesividad presenta el gel.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 90,1 % de la varianza está explicada por cinco factores. En la tabla 25.2 se muestra la contribución de las distintas variables a cada uno de los factores. El primer factor explica prácticamente la mitad de la variabilidad total (47,66 %) está constituido principalmente por las propiedades del ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración), la cohesividad, concentración de CaCl_2 , luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*). El hecho de que el calcio participe en la composición del factor 1 con la mayoría de las propiedades da una idea del fuerte efecto que su presencia provoca en ellos, ya sea a favor o en detrimento de los valores según el sentido positivo o negativo del coeficiente de participación.

El segundo factor formado mayoritariamente por la capacidad de retención de agua, tonalidad amarilla (b^*). El tercer factor principalmente: por la dureza, la adhesividad, la prueba de plegado. Ninguno de estos dos factores se ven influidos por las sales.

El cuarto factor está representado por la elasticidad y por el efecto negativo que ejerce sobre ella la presencia de KCl. Y el quinto factor, mayoritariamente por la concentración de NaCl, que muestra el efecto de interacción de esta sal sobre la adhesividad y menor sobre la cohesividad.

La deformación hasta rotura, el trabajo de penetración, la fuerza hasta rotura y el color (L^* , a^*) sólo se ven influidos por la sal cálcica. Si bien, la cohesividad se ve afectada también por el calcio y en menor medida por el sodio.

1.3.3.1.3.- Goma xantana

De la matriz de correlación (Tabla 26.1), hay que resaltar la correlación negativa de la concentración de cationes calcio con la deformación hasta rotura y con el trabajo de penetración. Existe, como en el caso de goma garrofín (apartado 1.3.3.1.2), una alta correlación positiva entre CaCl_2 y la elasticidad.

Y como también se observó con los hidrocoloides neutros (goma garrofín y goma guar), existe una alta correlación positiva entre el trabajo de penetración y la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura, ya que el primero es el producto de los otros dos, lo cual indica que a su vez están correlacionados entre sí. También como con goma garrofín, la adhesividad se encuentra correlacionada positivamente con la dureza.

Hay que destacar, por otra parte, la correlación negativa entre la elasticidad y la deformación hasta rotura, que indica que aunque el gel se recupere bien tras la compresión al 60 %, no presenta mayor deformabilidad hasta rotura medida por técnicas de penetración.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 89,8 % de la varianza estaba explicada por cuatro factores. En la tabla 26.2, se muestra la contribución de las variables a cada uno de dichos factores. El primer factor explica más de un 40 % de la variabilidad total y está formado por las variables: CaCl_2 , deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, elasticidad, color (L^* , a^* , b^*). El segundo factor está formado principalmente por las propiedades: dureza, adhesividad y capacidad de retención de agua.

Y el tercer factor está formado principalmente por las variables: NaCl, cohesividad y prueba de plegado. El cuarto factor, mayoritariamente por KCl, muestra su influencia negativa sobre la tonalidad roja (a^*).

Se puede observar que CaCl_2 y NaCl presentan un efecto contrario sobre las características del gel, así el calcio favorece la elasticidad y el sodio la disminuye o por el contrario, el sodio favorece la cohesividad y el calcio la disminuye (Tabla 26.2).

El trabajo de penetración, elasticidad, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, cohesividad y prueba de plegado se ven afectados por el calcio y el sodio, en general, en sentido inverso. Sin embargo, el potasio no modifica estas características.

1.3.3.1.4.- Carragenato*iota*

La matriz de correlación entre las distintas variables (Tabla 27.1) muestra una correlación negativa de la concentración de calcio con la prueba de plegado, la deformación hasta rotura, el trabajo de penetración, la dureza, la capacidad de retención de agua; y positiva con la elasticidad. Como con los anteriores hidrocoloides analizados, el calcio parece que forma enlaces débiles (geles blandos, poco deformables) pero con gran tendencia a restablecerse tras su rotura (elásticos). Además, los cationes calcio influyen en el color del gel, de manera que su adición aumenta la luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*).

Como también se encontró con los hidrocoloides analizados en los apartados anteriores, existe una alta correlación positiva entre el trabajo de penetración y la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura. Al igual que en el caso de goma xantana, existe una correlación negativa de la elasticidad con la deformación hasta rotura y con la prueba de plegado, indicando que no siempre los geles deformables son elásticos.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 91,1 % de la varianza estaba explicada por cuatro factores. En la tabla 27.2, se muestra la contribución de las variables a cada uno de dichos factores. El primer factor explica alrededor de un 40 % de la variabilidad total, está formado por las variables dependientes: elasticidad, capacidad de retención de agua, prueba de plegado, tonalidad roja (a^*).

El segundo factor está formado principalmente por las características del gel: deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y luminosidad (L^*). Ambos factores presentan una clara influencia por la presencia del ion calcio, principalmente el factor 1, por tanto, la adición de CaCl_2 modifica negativamente la capacidad de retención de agua, la prueba de plegado, la cohesividad, la deformación hasta rotura, el trabajo de penetración, la dureza, la tonalidad amarilla (b^*) y, sin embargo, tiende a aumentar la elasticidad, la tonalidad roja (a^*), la luminosidad (L^*).

El tercer factor está formado principalmente por las propiedades: adhesividad, fuerza hasta rotura, dureza, trabajo de penetración. El KCl presenta un efecto negativo sobre dichas características. Además, KCl participa en el factor 1 aunque en menor medida y de manera opuesta al CaCl_2 .

El cuarto factor está formado mayoritariamente por NaCl que tiende a disminuir la fuerza hasta rotura del gel, la dureza, la adhesividad, la luminosidad (L^*) y la tonalidad amarilla (b^*) de los geles con adición de ι -carragenato.

Por tanto, la firmeza del gel (fuerza hasta rotura, dureza) y la tonalidad amarilla (b^*) se ven afectados negativamente por la adición de cualquiera de los cationes. Sin embargo, la adhesividad y la luminosidad se incrementan por la presencia de calcio pero ambas disminuyen por la adición de potasio

1.3.3.1.5.- Carragenatokappa

Como se muestra en la matriz de correlación (Tabla 28.1), la adición de calcio influye en la mayoría de las propiedades analizadas. Existe una alta correlación negativa entre la concentración de CaCl_2 y la prueba de plegado, el trabajo de penetración, la dureza, la cohesividad y la capacidad de retención de agua; y positiva con la concentración de CaCl_2 y la elasticidad, y el color (L^* , a^*). Estas correlaciones son muy similares a las observadas en el otro tipo de carragenato analizado (apartado 1.3.3.1.4). Como también se encontró con los hidrocoloides analizados en los apartados anteriores, existe una alta correlación positiva entre la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura, y, por tanto, con el trabajo de penetración.

Otra correlación positiva elevada se encuentra entre la dureza y la fuerza hasta rotura del gel. Ambas propiedades miden la fuerza que opone el gel pero por distintos métodos: ensayo de compresión y ensayo de penetración, que no siempre presentan buena correlación dependiendo de la materia prima y las condiciones de gelificación (Burgarella *et al.*, 1985; Lee y Chung, 1989; Hamann y MacDonald, 1992). También existe una

correlación positiva entre la cohesividad y la prueba de plegado.

Por otra parte, se observa una alta correlación positiva entre la capacidad de retención de agua y la prueba al plegado, deformación hasta rotura, trabajo de penetración y cohesividad. Es conocido que el contenido en agua del gel está relacionado con la capacidad gelificante (Hermansson, 1986; Lee, 1994; Álvarez et al., 1995), ya que es necesario un niveles mínimos para facilitar la hidratación de la proteína miofibrilar y de los hidrocoloides para su posterior gelificación.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 92,5 % de la varianza estaba explicada por cuatro factores. En la tabla 28.2, se muestra la contribución de las propiedades a cada uno de los factores. El primer y el segundo factor explican un porcentaje muy elevado de la variabilidad total (34,91 % y 29,78 %, respectivamente). En ambos factores influye la adición de CaCl_2 , que favorece el aumento de elasticidad del gel y el color (L^* , a^*); pero disminuye la cohesividad, la capacidad de retención de agua, la deformación hasta rotura, la fuerza hasta rotura, el trabajo de penetración, la prueba de plegado y la dureza.

En el tercer factor influye la adición de NaCl que modifica negativamente las propiedades de adhesividad, fuerza hasta rotura, dureza y tonalidad amarilla (b^*). El cuarto factor constituido mayoritariamente por la concentración de KCl , que presenta un efecto negativo sobre la fuerza hasta rotura, dureza y adhesividad.

La firmeza del gel (fuerza hasta rotura, dureza) se ve afectada negativamente por todas las sales. El calcio afecta también negativamente a la deformación hasta rotura, la cohesividad y la capacidad de retención de agua; sin embargo, favorece la elasticidad. En cuanto al color, el calcio incrementa la luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*); mientras que el catión sodio disminuye la tonalidad amarilla (b^*).

1.3.3.1.6.- Carboximetilcelulosa sódica

La matriz de correlación (Tabla 29.1) muestra, en general, un comportamiento muy similar al del resto de los hidrocoloides: destaca la correlación negativa entre la concentración de calcio y el trabajo de penetración, la cohesividad, la tonalidad amarilla (b^*); y positiva con la elasticidad. Como también se encontró con los hidrocoloides analizados en los apartados anteriores, existe una alta correlación positiva entre la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura, y de ambos con el trabajo de penetración.

Hay que distinguir también la correlación negativa entre la elasticidad y las propiedades del ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración). Con ι -carragenato y goma xantana, se encontró la correlación negativa entre la elasticidad y la deformación hasta rotura.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 91,2 % de la varianza estaba explicada por cuatro factores. En la tabla 29.2, se muestra la contribución de las variables a cada uno de los factores. El primer factor explica prácticamente la mitad de la variabilidad total (44,07 %) y está representado por las propiedades obtenidas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración), elasticidad y la luminosidad (L^*). El calcio participa en éste factor y también sobre el factor 3 que también modifica positivamente a la elasticidad; pero disminuyendo la prueba de plegado, la capacidad de retención de agua y la tonalidad amarilla (b^*).

El potasio participa principalmente en el factor 2 donde su presencia modifica a la dureza, adhesividad, fuerza hasta rotura y al color del gel (L^* , a^* , b^*), también participa, aunque en menor medida y con efecto contrario en el factor 3. Además KCl muestra un efecto opuesto al del NaCl en el factor 4, donde el NaCl tiene un elevado porcentaje de variabilidad.

Se puede observar que hay varias características que se modifican por más de una de las sales estudiadas, si bien no siempre con la misma intensidad. Así por ejemplo, la elasticidad se ve mucho más afectada por el catión calcio que por el sodio, aunque ambos influyen. Análogamente, un efecto similar presenta la dureza con las tres sales, siendo KCl la que presenta una mayor influencia.

1.3.3.1.7.- Alginato sódico

La matriz de correlación entre las distintas variables (Tabla 30.1) muestra la correlación negativa de la concentración de CaCl_2 con la prueba de plegado, la dureza y la cohesividad; y positiva con la elasticidad. Es decir, el ion calcio ejerce el mismo efecto sobre las características de los geles que en la mayor parte de los hidrocoloides estudiados.

En cuanto a la prueba de plegado, destaca su alta correlación positiva con la dureza, la cohesividad y con las propiedades del ensayo de penetración (fuerza hasta rotura y trabajo de penetración) y capacidad de retención de agua; y una correlación negativa con la elasticidad. Hay que destacar la baja correlación mostrada con la deformación hasta rotura, ya que en principio la prueba de plegado se suele relacionar con esta propiedad.

Otro resultado a señalar, es la correlación positiva entre la adhesividad y la dureza, como también se halló con la goma garrofín. La dureza también está correlacionada con la fuerza hasta rotura, igual que ocurría en el caso de κ -carragenato. En cuanto a la elasticidad, está correlacionada negativamente con la dureza y la cohesividad. Respecto a la capacidad de retención de agua se muestra correlacionada negativamente con la elasticidad y positivamente con la cohesividad.

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 92,81 % de la varianza estaba explicada por cuatro factores. En la tabla 30.2, se muestra la contribución de las variables a cada uno de dichos factores. La mayoría de las variables participan en el primer factor que explica la mitad de la variabilidad total (52,72 %), los cuales están influenciados por la concentración de CaCl_2 que favorece el aumento de elasticidad, color (L^* , a^*) pero disminuye la cohesividad, la capacidad de retención de agua, la prueba de plegado, la dureza, la fuerza hasta rotura, el trabajo de penetración y la adhesividad.

La fuerza hasta rotura y el trabajo de penetración están influenciados negativamente por la presencia del sodio (Factor 2) y el potasio (Factor 3); sin embargo, la deformación hasta rotura (Factor 4) parece no verse influida por ninguna de las sales. Además, NaCl muestra su efecto negativo sobre la adhesividad y la dureza; y el KCl sobre el color del gel (L^* , a^* , b^*).

1.3.3.1.8.- Análisis global

Al analizar de manera global todos los geles con los diferentes hidrocoloides y sales (Tabla 31.1), la matriz de correlación entre las variables respuesta (prueba de plegado, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad, elasticidad, capacidad de retención de agua y color) y las variables independientes (NaCl, KCl, CaCl₂) muestra la interacción que existe entre las mismas.

La prueba de plegado está correlacionada positivamente con la cohesividad, la deformación hasta rotura y la capacidad de retención de agua. Como en el caso de ι -carragenato y alginato sódico, también presentan una correlación negativa la elasticidad y la prueba de plegado. Es de destacar la correlación entre la prueba de plegado, la deformación hasta rotura y la cohesividad, lo cual, parece que tiene que ver con la capacidad de interaccionar consigo mismo, a pesar de que los geles no sean elásticos.

En cuanto al hecho de que la concentración de CaCl₂, no presente una alta correlación con las propiedades analizadas; pero sí al analizar cada hidrocoloide individualmente, puede ser debido a que presente distinta tendencia en cada caso, por lo cual, el efecto en conjunto, resulta menor. Más evidente, aparece la relación de la dureza con la fuerza hasta rotura, igual que ocurría en el caso de κ -carragenato y alginato sódico. También la adhesividad se encuentra correlacionada positivamente con la dureza, como con goma garrofín y alginato sódico. hace pensar

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 90,31 % de la varianza estaba explicada por cinco factores. En la tabla 31.2, se muestra la contribución de las variables a cada uno de los factores. El primer factor explica prácticamente la mitad de la variabilidad total (48,82 %).

El calcio participa notablemente en los tres factores primeros y, de ahí, influye sobre las propiedades que se modifican en ellos. En cuanto al efecto del potasio, su adición tiende a disminuir la adhesividad y la dureza del gel. Respecto al sodio, también disminuye la adhesividad del gel, pero incrementa su capacidad de retención de agua.

1.3.3.2.- Análisis Clúster

Para agrupar los geles según características comunes, se realizó análisis Clúster a partir de las propiedades analizadas en los geles con diversos hidrocoloides y sales. Todos los geles fueron clasificados en tres grupos, cada uno de ellos con unas características detalladas en la tabla 32 y en la figura 29.1:

* GRUPO 1

Contiene 28 casos que son la mayoría de los geles que contienen los hidrocoloides neutros (goma garrofín, goma guar) y se caracterizan por originar geles con valores elevados en las características reológicas y capacidad de retención de agua; pero con baja elasticidad y luminosidad (Fig.29.1).

* GRUPO 2

Contiene 71 casos que se corresponden mayoritariamente con los geles con adición de hidrocoloides gelificantes (ι -carragenato, κ -carragenato, alginato sódico) y, en parte, también por geles de carboximetilcelulosa y algún gel con alginato sódico. Destacan por sus menores propiedades reológicas y capacidad de retención de agua; pero con altos valores de elasticidad. También presentan valores de luminosidad superiores a la media de los geles (Fig.29.1).

* GRUPO 3

Contiene 31 casos que son principalmente los geles de músculo de bacaladilla con goma xantana. Este grupo se caracteriza por incluir geles cohesivos y con altas valores en las propiedades analizadas en el ensayo de penetración pero con bajos valores de adhesividad, elasticidad, color (L^* , b^*) respecto a la media (Fig.29.1).

En la representación gráfica del análisis clúster (Fig. 29.2), las variables canónicas son una combinación lineal de las variables que mejor definen a lo largo del eje de abscisas (X) y del eje ordenadas (Y) respectivamente las características de los grupos formados. Se puede observar que del conjunto de todos los geles con adición de sales quedan incluidos en tres grandes grupos afines por originar geles de bacaladilla con características similares. El grupo 2 es el más amplio y presentan elementos más o menos dispersados; el grupo 1 también muestra algunos elementos más separados del grupo, es decir, geles con características que se alejan de las propias que definen el grupo como tal.

Tabla 32.- Medias de las propiedades reológicas de los geles inducidos térmicamente y de alta presión, con y sin hidrocoloides agrupados por análisis Clúster. Donde la prueba de plegado (PP), deformación hasta rotura (DR), fuerza hasta rotura (FR), trabajo de penetración (TP), dureza (Du), adhesividad (Ad), cohesividad (Co), elasticidad (El), capacidad de retención de agua (CRA), color (L^* , a^* , b^*)

Parece ser que las propiedades funcionales de los hidrocoloides determinadas según su estructura química (Xalabarder, 1992) son las responsables de la formación de los distintos grupos. Así el grupo 1 está formado por los geles con adición de hidrocoloides neutros (goma garrofín, goma guar); el grupo 2, por los hidrocoloides aniónicos con distinto comportamiento, probablemente por su contenido en grupos carboxílicos y el grupo 3, principalmente, aniónicos que destacan por su gran tamaño molecular.

1.3.3.3.- Análisis discriminante

Para valorar como de separados están los grupos establecidos por análisis clúster (apartado 1.3.3.2), se realizó un análisis discriminante a partir de todos los resultados obtenidos. Estas determinaciones fueron cada una de las doce propiedades determinadas (prueba de plegado, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, capacidad de retención de agua, color (L^* , a^* , b^*) para todos los geles con adición de cada uno de los siete hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato *iota*, carragenato *kappa*, carboximetilcelulosa, alginato sódico) y sales de cloruro (NaCl , KCl , CaCl_2).

De todas las características de los geles, destaca principalmente la deformación hasta rotura y dureza por su alta participación reflejada en el alto valor numérico del estadístico F, y en menor medida, por el color de los geles (L^* , a^* , b^*), prueba de plegado, trabajo de penetración (Tabla 33.1) por ser las características de los geles que más discriminan entre los geles según el efecto de la adición de sales junto con el hidrocoloide.

Tabla 33.1.- Tabla resumen del proceso donde los grupos están constituidos por los geles de músculo de bacaladilla con adición de hidrocoloides y cationes

Variable	Valor F
deformación hasta rotura	113,6
dureza	50,0
rojo (a^*)	19,1
prueba de plegado	17,7
amarillo (b^*)	18,6
trabajo de penetración	4,8
luminosidad (L^*)	5,8

Según determina el análisis discriminante (Tabla 33.2) utiliza: 38 casos en el grupo 1, 71 casos en el grupo 2 y 31 casos en el grupo 3 según los resultados del análisis clúster anterior (apartado 1.3.3.2). Los tres grupos presentan están bien defindidos con una media de clasificación de 96,4 %, sólo un elemento del grupo 1 y del grupo 3 presentan se confunde con el grupo 2 por presentar características afines a él y también dos casos del grupo 2 presentan características similares al grupo 1 y al grupo 3.

Tabla 33.2.- Clasificación de Jackknifed de los grupos formados a partir de los RSM de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de hidrocolooides y cationes

Por lo general, el catión divalente (Ca^{2+}) tiende a interferir en el proceso de gelificación del complejo hidrocoloide-miosistema ya que disminuyen casi todas las propiedades reológicas y la capacidad de retención de agua. Sin embargo, se incrementa la elasticidad con concentraciones de CaCl_2 inferiores a 1 % y también la luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*) de los geles.

En general, los cationes monovalentes parecen producir un efecto menos drástico en las propiedades estudiadas y en muchas ocasiones parecen tener un efecto semejante, como se puede apreciar, por ejemplo, en el efecto negativo de NaCl y KCl sobre la fuerza hasta rotura y trabajo de penetración en los geles con alginato o sobre dureza y adhesividad de los geles con goma garrofín. No obstante, sobre alguna de las características el efecto es el contrario, así sobre la tonalidad amarilla (b^*) de los geles con adición de ι -carragenato, la adición extra de NaCl aumenta dicha tonalidad, mientras que por adición de KCl disminuye.

La concentración y tipo de sales en las formulaciones que contienen cada uno de los hidrocolooides será diferente atendiendo a las propiedades que se deseen enfatizar en cada producto a desarrollar. Así por ejemplo, se puede generalizar que la adición de

calcio favorece la elasticidad y luminosidad en todas los geles independientemente del hidrocoloide utilizado; pero no siempre se puede concluir de manera tan general y hay que particularizar en la mayoría de los casos.

Para el desarrollo de los siguientes experimentos se ha escogido una formulación diferente según el hidrocoloide con objeto de favorecer la mayoría de las características determinadas. No obstante, la luminosidad y/o blancura que es otra característica muy considerada en la industria, no se ha potenciado pues iría en detrimento de la mayoría de las propiedades que se desean obtener, ya que la presencia de calcio sería importante.

1.4.- CARACTERÍSTICAS DE LAS FÓRMULAS SELECCIONADAS

1.4.1.- Características de la materia prima

Los geles obtenidos en esta parte del estudio se elaboraron a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla capturada a mediados del mes de mayo (Lote 4) con una longitud y peso medio de $23,42 \pm 1,17$ cm y $77,83 \pm 12,27$ g, respectivamente.

En la tabla 34, se detalla la composición en constituyentes básicos y color del músculo picado y lavado de bacaladilla que como en los lotes anteriores (apartados 1.1.1, 1.2.1, 1.3.1) se encuentra en rangos similares; aunque destacando por su elevado contenido en agua y menor porcentaje de proteína total, que a juzgar por el tamaño y la época de captura, se podrían encontrar en la fase posterior al desove.

Tabla 34.1.- Composición centesimal del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 4)

	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
Lote 4	$82,18 \pm 0,16$	$0,63 \pm 0,01$	$0,47 \pm 0,04$	$12,34 \pm 0,32$

No figura el porcentaje de crioprotectores añadidos

Tabla 34.2.- Color del músculo picado y lavado de bacaladilla (lote 4)

	<i>L</i>*	<i>a</i>*	<i>b</i>*
Lote 4	$56,14 \pm 3,35$	$-1,13 \pm 0,09$	$8,34 \pm 0,59$

1.4.2.- Características de los geles

En la tabla 35, se muestran las diferencias significativas realizadas mediante test de Dunnet (apartado 2.5.1.2) sobre las diversas propiedades analizadas en los geles elaborados con las fórmulas escogidas respecto al gel sin adición de hidrocoloides.

El efecto de la adición de hidrocoloides u otro aditivo (proteínas de origen no muscular) sobre la gelificación del músculo picado de pescado y de *surimi* depende de la calidad gelificante de la proteína miofibrilar (Lee, 1994; Lee *et al.*, 1992; Gómez-Guillén y Montero, 1996; Gómez-Guillén *et al.*, 1996a). Así, por ejemplo, la adición de estos aditivos sobre *surimi* de alta calidad gelificante logra disminuir la excesiva elasticidad, cohesividad, dureza de algunos productos gelificados; mientras que si el *surimi* es de baja capacidad gelificante, aumenta sus propiedades texturales y ligantes. En trabajos previos (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a), se utilizó un músculo de escasa capacidad gelificante, de tal forma que fue necesario la adición de algún aditivo coadyuvante de la gelificación, que en ese caso fue almidón.

En función de las tendencias observadas en el apartado 1.3.4, las concentraciones más adecuadas para obtener los máximos valores en la mayoría de las propiedades analizadas fueron: 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofín, goma guar y carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para goma xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y sin adición extra de sales para ι -carragenato y para alginato sódico.

Al comparar el efecto de los hidrocoloides individualmente sobre la gelificación del músculo picado y lavado de bacaladilla, se observa que la capacidad gelificante, reflejada en la resistencia a la **prueba de plegado** (Tabla 35), disminuye solamente al adicionar goma xantana.

La **deformación hasta rotura** (Tabla 35) aumentó considerablemente al añadir goma garrofín con respecto al gel elaborado sin adición de ningún hidrocoloide. Sin embargo, se produjo una disminución de la deformabilidad en el caso de añadir carragenatos, carboximetilcelulosa sódica o alginato sódico. Esto está de acuerdo con los resultados del trabajo de Gómez-Guillén y Montero (1997) que encontraron una disminución de los valores de deformación hasta rotura por adición de 2 % de ι -carragenato en la elaboración de geles de manto de calamar (*Dosidicus gigas*) con respecto a los elaborado sin adición de hidrocoloide.

En general, la adición de hidrocoloide disminuyó significativamente la **fuerza hasta rotura** (Tabla 35) respecto a los geles sin adición de hidrocoloides; excepto en el caso de goma garrofín que no se modificó. Gómez-Guillén y Montero (1997) no encontraron diferencias significativas en los valores de fuerza hasta rotura entre el gel de músculo de calamar (*Dosidicus gigas*) elaborado con y sin adición de un 2 % de ι -carragenato.

El efecto sobre el **trabajo de penetración**(Tabla 35) originó una disminución destacable

respecto al del gel elaborado sin adición de hidrocoloide, lo que parece indicar que no presenta un efecto de reforzamiento de la matriz proteica sino más bien que interfiere en su formación, excepto en el caso de goma garrofín. Montero *et al.* (1992) y Nakayama *et al.* (1988) encontraron incremento en el trabajo de penetración en los geles de músculo picado de sardina elaborados con adición de ι -carragenato. Según Llanto *et al.* (1990), el aumento de la capacidad gelificante del *surimi* de Alaska pollack por adición de carragenatos era debido a la interacción de los grupos sulfatos del carragenato con la proteína miofibrilar.

La **dureza** (Tabla 35) aumentó en los geles con adición de κ -carragenato o alginato sódico en comparación con los valores de dureza obtenidos en el gel elaborado sin adición de hidrocoloides. También Foegeding y Ramsey (1987) observaron este efecto del κ -carragenato determinando que era más efectivo que ι -carragenato para aumentar la dureza de geles de carne de vaca. Sin embargo, disminuyó significativamente en el caso de adicionar goma guar, goma xantana o carboximetilcelulosa sódica.

La adición de carragenatos, especialmente κ -carragenato, o alginato sódico originó un incremento significativo sobre la **adhesividad** (Tabla 35); pero una disminución muy acusada en el caso de adicionar goma xantana. Niwa *et al.* (1988b) encontraron una elevada fuerza de adhesión entre la suspensión de κ -carragenato y la superficie de los geles de *surimi* de Alaska pollack.

La adición de carragenatos, carboximetilcelulosa sódica o alginato sódico dio lugar a una disminución significativa de la **cohesividad** (Tabla 35). Asimismo la adición de carragenato iota dio lugar a geles con mayor **elasticidad** (Tabla 35).

La adición de goma garrofín, goma guar, ι -carragenato incrementó la **capacidad de retención de agua** (Tabla 35), este aumento es directamente atribuible al hidrocoloide individualmente, o bien a que la matriz formada por interacción de la proteína y el hidrocoloide da lugar a una estructura más adecuada para retener el agua físicamente. Otros autores también encontraron que la adición de ι -carragenato incrementó la capacidad de retención de agua en geles de carne de vaca (Foegeding y Ramsey, 1987); y en geles de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) (Gómez-Guillén y Montero, 1997). Según da Ponte *et al.* (1985), el ι -carragenato presenta mayor capacidad de retención de agua que el κ -carragenato y, además, previene la sinéresis durante el proceso de descongelación de los geles de pescado. Sin embargo, DeFreitas *et al.* (1997a) observaron que ambos carragenatos incrementaron la capacidad de retención de agua de las proteínas solubles de carne de cerdo. Según Barbut y Mittal (1996), la adición de carboximetilcelulosa (0,5 %) en la elaboración de salchichas tipo frankfurt disminuyó la

capacidad de retención de agua debido probablemente a que el hidrocoloide recubre la proteína miofibrilar impidiendo que ésta capture el agua.

La adición del hidrocoloide no originó modificaciones significativas sobre **luminosidad** del gel control (Tabla 35). Según Barbut y Mittal (1996), la adición de carboximetilcelulosa (0,5 %) en la elaboración de salchichas tipo frankfurt no modificó ninguna de las características texturales analizadas aunque disminuyó el valor de luminosidad.

Las modificaciones del **parámetro a*** (Tabla 35) fueron debidas a la presencia de goma garrofín, carboximetilcelulosa sódica o alginato sódico que aumentaron la tonalidad roja del gel. También fueron los geles con adición de carboximetilcelulosa sódica o alginato sódico los que presentaron una mayor tonalidad amarilla (**parámetro b***) (Tabla 35).

1.4.2.- Distribución de los hidrocoloides en los geles

En la figura 30.A, se muestra las imágenes obtenidas por microscopía óptica del gel elaborado a partir del músculo de bacaladilla **sin adición de hidrocoloides**. Se observa una matriz homogénea, no interrumpida por cavidades ni zonas de distinta coloración debido a que no contiene polisacáridos. En la figura 30.B, se aprecia la coloración verdosa en la matriz debida al colorante de contraste. El sorbitol añadido como conservante del músculo picado (4 %) no se detecta, probablemente, porque este derivado del monosacárido glucosa, se elimina con los lavados durante el proceso de tinción; mientras que los polisacáridos de alto peso molecular permanecen en la preparación.

En la figura 31.A se observa la distribución de la **goma garrofín** dentro del gel de músculo picado de bacaladilla, principalmente en el interior de las cavidades. Estas cavidades son de forma redondeada y de tamaño relativamente grande. El hecho de que la micrografía del gel sin hidrocoloide no presente cavidades, hace pensar que éstas se producen por un fenómeno de hinchamiento del hidrocoloide dentro de la matriz proteica; esto a su vez, explica el hecho de que el porcentaje de superficie teñida respecto a la matriz total sea superior a la concentración del hidrocoloide (1 % en el caso de goma garrofín) añadida en la formulación. A mayores aumentos (Fig.31.B), se aprecia la disposición filamentosa de la goma garrofín dentro de las cavidades, no mostrándose muchas zonas de interacción o contacto del hidrocoloide con la matriz proteica.

Muy similar aparece la distribución de la **goma guar** (Fig.32 A y B) en la matriz proteica, debido probablemente a que ambas gomas galactomananas son hidrocoloides neutros (PAS positivos, es decir, se tiñen con el reactivo de Schiff) por lo que presentan un

comportamiento similar. Sin embargo, el mayor número de cavidades teñidas en la preparación de goma garrofín podemos suponer se debe, fundamentalmente, a que se encuentra en una proporción del 1 % en la formulación del gel; mientras que la goma guar tan sólo en un 0,5 %. También se aprecia una estructura filamentosa en el interior de las cavidades, que además, se dispone tapizando su interior.

La **goma xantana** se dispone como una malla dentro de las cavidades que ha formado en la matriz proteica (Fig.33.A). Estas cavidades presentan diversos tamaños, algunos relativamente grandes y más irregulares que en los casos anteriormente descritos y no aparecen muchas zonas de contacto con la matriz proteica. Además de estar en las cavidades, se encuentra distribuida por toda la matriz como se aprecia en la figura 33.B con el objetivo de inmersión (Fig.33.B).

La tinción del gel proteico con adición de ι -**carragenato** (Figura 34.A y B) muestra la extensa distribución del hidocoloide, disperso por toda la matriz en numerosas cavidades alargadas densamente coloreadas de color azul alcián. Aunque el ι -carragenato gelificado representa en apariencia una alta proporción respecto a la matriz proteica, tan sólo se encuentra en un porcentaje de 0,5 g de hidocoloide en 100 g de la masa total del gel. Ya no aparece la disposición filamentosa de las anteriores muestras y las cavidades son de menor tamaño que con los hidocoloides neutros, pudiendo ser a que se encuentra gelificada rellenando toda la cavidad. Además, se observa una fuerte continuidad de la matriz proteica con el hidocoloide a lo largo de toda la superficie de la cavidad, lo que podría indicar una interacción entre ellos.

El κ -**carragenato** también se encuentra en cavidades o acúmulos muy densos, en la mayor parte tapizando la cavidad; pero en este caso, menores en número que en el caso de ι -carragenato aunque de mayor tamaño y de forma más redondeada y regular (Fig.35.A y B). Los bordes también muestran una fuerte continuidad con la matriz proteica, probablemente porque durante la gelificación se establezcan enlaces estables.

Trius *et al.* (1994b, 1995) también encontraron en salchichas de cerdo esta misma distribución según el tipo carragenato (*kappa* o *iota*). Los autores señalaron que podría ser debido a la diferente solubilidad de los carragenatos. Así el κ -carragenato solubiliza a 60-70 °C, cuando la miosina ha comenzado el proceso de gelificación; mientras que el ι -carragenato solubiliza a 50°C, antes de que la proteína miofibrilar haya gelificado, lo cual permite introducirse más en la matriz proteica. Sin embargo, Bater *et al.* (1992) observaron que la distribución del κ -carragenato en pechuga de pavo asada fue en finas bandas alargadas.

En la figura 36, se distingue la presencia de **carboximetilcelulosa sódica** en la matriz proteica del gel, localizada en pequeñas cavidades y poco numerosas, presentando gran similitud con la microfotografía del gel control (Fig.30.A). Como en otros casos, su distribución dentro de la cavidad fue el de una malla filamentosa de color azul alcián tal y como se aprecia a mayores aumentos (Fig.36.B), además, se observa como sólo una pequeña parte está ligada a la matriz. Hay que destacar el menor número de cavidades teñidas respecto a las encontradas en el resto de los casos, aunque el hidrocoloide se encuentre en la misma concentración en la formulación del gel, esto es, 0,5 %.

En el caso del **alginato sódico** (Fig.37.A), también teñido de color azul alcián, se encuentra gelificado en el interior de cavidades alargadas y de tamaño relativamente pequeño. También está esparcido por toda la matriz proteica del gel como se observa con el objetivo de inmersión (Fig.37.B). Asimismo, se observan zonas en las que el alginato sódico está conectado a la matriz proteica, aunque no en todo el contorno de la cavidad como ocurría en el caso de los otros hidrocoloides gelificantes (carragenatos), pero sin llegar a presentar el aspecto fibroso de los hidrocoloides no gelificantes.

Resumiendo, los hidrocoloides gelificantes (carragenatos y alginatos) gelifican ocupando la totalidad de la cavidad, la cual presenta diferente morfología según el tipo de hidrocoloide; mientras que los hidrocoloides espesantes (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carboximetilcelulosa) se disponen en filamentos formando una malla en el interior de las cavidades.

1.5.- MEZCLAS BINARIAS DE HIDROCOLOIDES

El estudio de la aplicación de mezclas de hidrocoloides permite el desarrollo de "nuevos" agentes gelificantes o espesantes con propiedades reológicas distintas a las obtenidas individualmente, diversificando así las posibilidades de uso (Morris, 1986; Doublier *et al.*, 1993; Ma y Barbosa-Cánovas, 1993; Hart *et al.*, 1994; Izzo *et al.*, 1995).

La combinación de algunos hidrocoloides en sistema modelo (medio acuoso o salino) origina un efecto de potenciación de las características reológicas. Sin embargo, este efecto sinérgico puede no producirse en el producto alimentario, debido a la interacción con otros componentes y competición por el agua y las sales entre los hidrocoloides y la proteína miofibrilar (Lee y Kim, 1985).

Se determinó la modificación de las características de los geles de homogeneizado de músculo de bacaladilla por efecto de la adición de las mezclas binarias. En todos los casos ensayados, se añadió un 1 % NaCl para la solubilización de la proteína miofibrilar, los hidrocoloides en las concentraciones seleccionadas en los apartados anteriores 1.2.3.8, es decir, 1 % para goma garrofín y 0,5 % para el resto de los hidrocoloides; así como una adición extra de sales, tomándose una concentración intermedia a la elegida para cada uno de los hidrocoloides: 0,5 % NaCl, 0,5 % de KCl y 0 % de CaCl₂.

Como referencia, se elaboraron geles de músculo de bacaladilla con adición de cada uno de los hidrocoloides individualmente con la concentración más adecuada de sales (apartado 1.3): 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofín, goma guar y κ -carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para goma xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y no requirieron adición extra de sales ni ι -carragenato ni alginato sódico. Las características de la materia prima utilizada para este ensayo fueron las mismas que las referidas en el apartado 1.4 como lote 4.

1.5.1.- Prueba de plegado

En la Fig.38 se muestra los valores obtenidos en la prueba de plegado de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de mezclas binarias de hidrocoloides y como control, el gel con adición de un solo hidrocoloide.

En general, se logró incrementar el valor de la prueba de plegado en las combinaciones binarias de goma xantana, ι -carragenato, carboximetilcelulosa sódica y alginato sódico. En cambio, no se modificó o disminuyó en los casos en que el gel control ya presentaban la máxima puntuación, esto es el caso de goma garrofín, goma guar y κ -carragenato.

Otros autores encontraron diferencias en la prueba de plegado debidas al efecto sinérgico de hidrocoloides. AsKonstance (1993) halló que la adición de la mezcla binaria de carragenatos (κ -carragenato e ι -carragenato) disminuyó la capacidad de plegado de geles de caseinato sódico frente a la obtenida con sólo adición de κ -carragenato. Shand *et al.* (1993) encontraron una disminución en la capacidad gelificante de la mezcla de carboximetilcelulosa con alginato, según los autores puede deber a que la carboximetilcelulosa interfiera en la gelificación del ácido algínico, posiblemente, debido a la repulsión iónica de los grupos cargados negativamente. También podría se debido al impedimento estérico de la carboximetilcelulosa para acoplarse con la red del alginato.

1.5.2.- Deformación hasta rotura

Los resultados obtenidos se muestran en la Fig.39. En las mezclas binarias de goma garrofín y de goma guar con otros hidrocoloides, se produce una disminución en los valores de deformación hasta rotura del gel, excepto en las combinaciones de la goma garrofín con los carragenatos ($p \leq 0,05$). Es decir, todos los hidrocoloides, excepto goma guar y goma xantana, al combinarse con goma garrofín aumentaron los valores de deformación hasta rotura ($p \leq 0,05$).

Los mayores valores de deformación hasta rotura se obtuvieron con goma garrofín y carragenato, pero sin llegar a superar los altos valores obtenidos con la adición de goma garrofín como único agente gelificante, si bien hay que destacar que el gel resulta demasiado gomoso. En general, la presencia de goma garrofín en la formulación originó geles con la mayor deformabilidad. Con el resto de los hidrocoloides, no se modificó la deformación hasta rotura, o apenas ligeramente, como en el caso de ι -carragenato con goma xantana o con carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$) o goma xantana con κ -carragenato o con alginato ($p \leq 0,05$).

Christensen y Trudsoe (1980) también observaron un incremento de los valores de deformación hasta rotura de gel en aquellas muestras con mayor proporción de goma garrofín respecto a κ -carragenato.

Otro ejemplo del efecto del comportamiento de las mezclas binarias de hidrocoloides, fue el de κ -carragenato con xantana o κ -carragenato con ι -carragenato que originó menores valores de deformación hasta rotura que los producidos por ι -carragenato utilizados en la elaboración de salchichas tipo frankfurt Bloukas *et al.*, 1997). También la deformación hasta rotura medida por compresión, fue mayor en los geles mixtos de κ -carragenato con goma garrofín en medio acuoso. Según Artignan *et al.* (1997), la cadena de goma

garrofín actúa formando uniones flexibles entre las dobles hélices del κ -carragenato, originando un incremento del porcentaje de deformación. La adición de ι -carragenato a la mezcla anterior dio lugar a un incremento de la dureza y de la fuerza hasta rotura.

1.5.3.- Fuerza hasta rotura

Los resultados obtenidos en el parámetro de fuerza hasta rotura (Fig.40) muestran que todas las combinaciones de hidrocoloides con goma garrofín presentaron mayores valores que el gel control con adición de un sólo hidrocoloide ($p < 0,05$). Por otra parte, la acción conjunta de garrofín con los carragenatos incrementó la fuerza hasta rotura respecto a los geles que contenían goma garrofín como único hidrocoloide ($p < 0,05$).

Christensen y Trudsoe (1980) estudiaron el efecto potenciador de la mezcla de goma garrofín y κ -carragenato en sistema modelo. Estos autores obtuvieron el máximo de fuerza hasta rotura de gel con una relación de hidrocoloide 1:1. Mientras que la combinación del κ -carragenato con ι -carragenato o goma xantana, dio lugar a una disminución de la fuerza hasta rotura del gel.

1.5.4.- Trabajo de penetración

En la Fig.41 se representa los valores de trabajo de penetración de los geles de músculo de bacaladilla con adición de mezclas binarias de hidrocoloides. Hay que destacar el efecto de cada uno de los hidrocoloides al combinarse con goma garrofín, dando lugar a geles con valores superiores respecto al de los geles con adición de un solo hidrocoloide. En el caso de la goma garrofín, la adición conjunta con otro hidrocoloide originó la disminución de los valores de trabajo de penetración, excepto en su combinación con carragenatos. Por el contrario, Gencer y Peleg (1986) señalaron que la mezcla de carboximetilcelulosa y goma garrofín presentó un efecto sinérgico positivo.

Al igual que para el parámetro anterior, los mayores valores de trabajo de penetración del gel se obtuvieron en las formulaciones que presentaron goma garrofín y, especialmente, en las combinaciones con κ -carragenato. El hecho de no haber encontrado un claro efecto sinérgico por la combinación de hidrocoloides en mezclas binarias se puede deber a que se produzca una fuerte competición por el agua entre los hidrocoloides y la proteína miofibrilar (Lee y Kim, 1985). Por tanto, sería interesante el estudio del efecto de la mezcla de hidrocoloides con mayor cantidad de agua disponible en el gel, bien por aumento del porcentaje de humedad en la formulación o por añadir el hidrocoloide en estado hidratado.

Asimismo, otros autores tampoco observaron efecto sinérgico de ι -carragenato combinado con almidón sobre la gelificación de músculo de sardina (Gómez-Guillén y Montero, 1996). Sin embargo, sí se observó efecto sinérgico en la gelificación de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) al combinar uno o dos hidrocoloides con una proteína no muscular (Gómez-Guillén y Montero, 1997).

1.5.5.- Dureza

Respecto a los valores de dureza (Fig.42), las combinaciones binarias de goma garrofín, originaron mayor dureza que aquellos geles con sólo goma garrofín como aditivo coadyuvante de la gelificación ($p \leq 0,05$); excepto la combinación con ι -carragenato. También se observó este efecto en el caso de goma xantana, excepto en sus combinaciones con carboximetilcelulosa o alginato sódico; así como en las mezclas de carboximetilcelulosa, exceptuando aquellas que contenían goma guar o goma xantana.

Con el resto de las gomas, el comportamiento de las mezclas binarias no dio lugar a incrementos destacables, e incluso a veces, una disminuyó la dureza ($p \leq 0,05$). De todos los hidrocoloides estudiados, el κ -carragenato fue el que confirió la mayor dureza al gel (apartado 1.2.3). Sin embargo, la combinación de hidrocoloides que presentó la mayor dureza fue la combinación de goma garrofín con goma xantana.

Baidón *et al.* (1987) estudiaron el efecto de la goma garrofín y goma guar en los geles de κ -carragenato. La presencia de la goma guar dio lugar a una notable disminución de la fuerza de gel a la compresión. Lo contrario, a lo observado con la adición de goma garrofín, que actuó sinérgicamente con κ -carragenato. Konstance (1993) en geles de caseinato sódico con adición de la mezcla de κ -carragenato e ι -carragenato observó aumento de la dureza del gel respecto al gel con adición de sólo κ -carragenato.

La mezcla de ι -carragenato con κ -carragenatos produjo salchichas tipo frankfurt más duras que las que contenían sólo ι -carragenato, debido probablemente a que el κ -carragenato forma geles duros y quebradizos (Bloukas *et al.*, 1997). Pero los geles mixtos de ι -carragenato y κ -carragenato presentaron menor dureza que la del gel puro de κ -carragenato. Mientras que la adición de goma garrofín, a concentraciones inferiores al 0,25 %, incrementó la dureza del gel puro de κ -carragenato (Artignan *et al.*, 1997).

Shand *et al.* (1993) observaron una pérdida de textura, reflejada en un ablandamiento de los embutidos de vacuno, al adicionar en la formulación ácido algínico con goma xantana o goma guar. Según los autores explican puede ser debido a que las gomas interfieran en la formación del gel proteico y/o del alginato cálcico.

1.5.6.- Adhesividad

Como se muestra en las gráficas de la Fig.43, en general, la adhesividad de los geles con adición de mezclas binarias de hidrocoloides (de goma garrofín, goma guar, goma xantana y carboximetilcelulosa) fue mayor que la del gel control con solo adición de un hidrocoloide ($p \leq 0,05$). En contraste, en general, se observa una disminución de la adhesividad con respecto a la mostrada en los geles que contienen un solo hidrocoloide al adicionar mezclas binarias que tienen alguno de estos aditivos: ι -carragenato o κ -carragenato o alginato ($p \leq 0,05$). Konstance (1993) consiguió similares valores de adhesividad en los geles de caseinato sódico con κ -carragenato, que con la mezcla de ι -carragenato con κ -carragenato.

1.5.7.- Cohesividad

La alta cohesividad (Fig.44) de los geles que contenían goma garrofín no se incrementó por efecto de la combinación con otros hidrocoloides. En cambio, la combinación de ι -carragenato con otro hidrocoloide originó geles más cohesivos que en el caso de adicionar sólo ι -carragenato. En el resto de los casos (goma guar, goma xantana, κ -carragenato, carboximetilcelulosa y alginato), los valores de cohesividad de los geles con adición de las mezclas binarias de hidrocoloides fueron, en la mayoría de los casos, significativamente iguales o inferiores a la de cada correspondiente gel control.

Tampoco Konstance (1993) halló diferencias en los valores de cohesividad al adicionar κ -carragenato o mezcla de κ -carragenato con ι -carragenato en geles de caseinato sódico. Artignan *et al.* (1997) describieron que la adición de ι -carragenato o goma garrofín al κ -carragenato en sistema modelo, no modificó los valores de cohesividad del gel puro de κ -carragenato; aunque fueron inferiores a los obtenidos respecto al gel puro de ι -carragenato.

1.5.8.- Elasticidad

En general, la elasticidad (Fig.45) no se modificó con la adición de mezclas binarias de hidrocoloide ($p \leq 0,05$); excepto en el caso de ι -carragenato, en cuyo caso la adición conjunta con cualquiera de los hidrocoloides dio lugar a geles menos elásticos que el gel control con sólo ι -carragenato ($p \leq 0,05$). Hay que señalar que de los hidrocoloides utilizados individualmente (apartado 1.2.3), el ι -carragenato sobresalió del resto por originar los geles más elásticos.

También Konstance (1993) halló que la elasticidad de geles de caseinato sódico con adición de la mezcla de κ -carragenato e ι -carragenato fue mayor que la obtenida sólo con κ -carragenato.

1.5.9.- Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (Fig.46) fue muy elevada en todos los casos, no mostrando grandes diferencias en la mayoría de los geles con adición de un hidrocoloide o de sus mezclas con otro hidrocoloide ($p \leq 0,05$).

Las diferencias a señalar, son las debidas a la combinación de carragenato *kappa* con otro hidrocoloide que dieron lugar una disminución de la capacidad de retención de agua, como es el caso con goma guar, ι -carragenato y carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$) y, por el contrario, aumentó en la combinación con goma garrofín. En sentido contrario, también destaca el aumento de la capacidad de retención de agua en la mayoría de los geles elaborados con mezclas binarias de goma xantana, carboximetilcelulosa o alginato con otro hidrocoloide ($p \leq 0,05$), respecto al gel control con adición del hidrocoloide individualmente.

Bloukas *et al.* (1997) encontraron que la adición de sólo ι -carragenato originó menor capacidad de ligar agua en salchichas tipo frankfurt que las mezclas de ι -carragenato con κ -carragenato o κ -carragenato con xantana. Como observaron Guiseley *et al.* (1980), la adición de goma garrofín junto con κ -carragenato, no sólo modificó la textura sino que inhibió la sinéresis.

Fernandes *et al.* (1992) trabajando en sistema modelo, detectaron un incremento de la capacidad de retención de agua por el efecto sinérgico de la asociación de κ -carragenato con goma garrofín. En este sentido, Baidón *et al.* (1987) observaron que al adicionar goma garrofín y goma guar, la reducción de la sinéresis fue mayor en los geles de κ -carragenato en sistema puro.

Según Christensen y Trudsoe (1980), la adición de ι -carragenato o goma xantana junto con κ -carragenato mejoró la capacidad de retención de agua de los geles de κ -carragenato y la estabilidad frente a la congelación-descongelación; aunque, la goma xantana por si sola no es estable a la congelación-descongelación. Glicksman (1983) señaló que la mezcla de carragenato con goma garrofín y carboximetilcelulosa era un excelente aditivo para retener agua.

Nielsen *et al.* (1996) encontraron que el efecto de la combinación de alginato,

carragenatos y goma garrofín sobre la capacidad de retención de agua en productos reestructurados de ternera fue igual a la suma de las capacidades de retención de agua individuales, no observándose un efecto mayor debido a la acción sinérgica.

1.5.10.- Color

El valor de L^* (luminosidad) de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de hidrocoloides se representa en la figura 47. En general, no se observan grandes diferencias entre la adición del hidrocoloide solo o en combinación con otro hidrocoloide. Las únicas diferencias a destacar sería el aumento de luminosidad en los geles con adición de goma guar con carboximetilcelulosa o con ι -carragenato; y de carragenato *iota* con carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$). Y de disminución de la luminosidad (L^*) al utilizar las mezclas de alginato sódico con goma garrofín o α -carragenato.

La tonalidad roja (a^*) se muestra en la figura 48. Tampoco presentó grandes diferencias debidas a la adición de las distintas mezclas binarias de hidrocoloides. En el caso de los geles con goma guar o de goma xantana o κ -carragenato disminuyó el color rojo en los geles con adición de estos hidrocoloides combinados con goma garrofín o con carboximetilcelulosa o con alginato ($p \leq 0,05$).

Según Shand *et al.* (1993), la adición de carboximetilcelulosa originó embutidos de vacuno con mayor coloración roja, pudiéndose deber a posibles interacciones del calcio con la carboximetilcelulosa. En el interior de salchichas tipo frankfurt, el color rojo (a^*) se incrementó por la presencia de carragenato debido probablemente a que aumentan los pigmentos de la matriz debido a captación del agua por parte del hidrocoloide (Bouloukas *et al.*, 1997).

En contraste, por lo general, la tonalidad amarilla (b^*), representada en la figura 49, aumentó por adición de mezclas de goma guar o goma xantana o κ -carragenato conjuntamente con carboximetilcelulosa o alginato ($p \leq 0,05$). La tonalidad amarilla (b^*) no se modificó en el interior de las salchichas tipo frankfurt en presencia de carragenato respecto a la muestra sin adición de hidrocoloide (Bouloukas *et al.*, 1997).

1 *Resultados y discusión*

1.5.- MEZCLAS BINARIAS DE HIDROCOLOIDES

El estudio de la aplicación de mezclas de hidrocoloides permite el desarrollo de "nuevos" agentes gelificantes o espesantes con propiedades reológicas distintas a las obtenidas individualmente diversificando así las posibilidades.

En sistema modelo de hidrocoloides (medio acuoso o salino) se ha observado una potenciación de las características reológicas resultado de la combinación de estos hidrocoloides. Sin embargo, este efecto sinérgico puede no producirse en el propio producto alimentario, originándose interacciones con otros componentes. La capacidad de los hidrocoloides para formar un gel mixto con el músculo de pescado depende de sus características para reforzar la matriz proteica.

En todos los casos ensayados, se añadió un 1 % NaCl para la solubilización de la proteína miofibrilar, los hidrocoloides en las concentraciones seleccionadas en los apartados anteriores 1.2.3.8, es decir, 1 % para goma garrofín y 0,5 % para el resto de los hidrocoloides; así como una adición extra de sales, tomándose una concentración intermedia a la óptima para cada uno de los hidrocoloides: 0,5 % NaCl, 0,5 % de KCl y 0 % de CaCl₂. Como referencia, se elaboraron geles de músculo de bacaladilla con adición de cada uno de los hidrocoloides individualmente con su concentración respectiva de sales (NaCl, KCl, CaCl₂): 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofín, goma guar y κ-carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para goma xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y no requirieron adición extra de sales ni ι-carragenato ni alginato sódico tal como se refiere en el apartado 1.3.5).

Se determinó la modificación del efecto de cada uno de los hidrocoloides, al combinarse en mezcla binaria sobre las características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles de músculo picado y lavado de bacaladilla.

De este modo, se muestra el abanico de características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles de músculo picado y lavado de bacaladilla obtenidos por tratamiento térmico y por adición de hidrocoloides individualmente o de forma combinada. Lo cual, resulta muy útil para seleccionar los aditivos gelificantes/espesantes según las características del producto a desarrollar.

Las características de la materia prima utilizada para este ensayo fueron las mismas que las indicadas en el apartado 1.4 referidas como lote 4.

1.5.1.- Prueba de plegado

En la Fig.40 se muestra los valores obtenidos en la prueba de plegado de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de mezclas binarias de hidrocoloides y como control, el gel con adición de un solo hidrocoloide.

Se logró incrementar, en general, el valor de la prueba de plegado en las combinaciones binarias de goma xantana, ι -carragenato, carboximetilcelulosa sódica y alginato sódico; excepto carboximetilcelulosa con goma guar o goma xantana que disminuyó; y alginato con goma xantana que no se modificó ($p \leq 0,05$). Aunque hubo disminución del valor de la prueba de plegado al combinar goma guar con xantana o con κ -carragenato o con carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$).

Konstance (1993) encontró que la adición de la mezcla binaria de carragenatos (κ -carragenato e ι -carragenato) disminuyó la capacidad de plegado de geles de caseinato sódico frente a la obtenida con sólo adición de κ -carragenato.

Según Shand *et al.* (1993), la carboximetilcelulosa interfiere en la gelificación del ácido algínico, posiblemente, debido a la repulsión iónica de los grupos cargados negativamente.

3 *Resultados y discusión*

1.5.2.- Deformación hasta rotura

Los resultados obtenidos se muestran en la Fig.41. En el caso de las mezclas binarias de goma garrofín y, también de goma guar, con otros hidrocoloides destaca una disminución en los valores de deformación hasta rotura del gel, excepto en las combinaciones de goma garrofín con los carragenatos ($p \leq 0,05$). Todos los hidrocoloides, excepto goma guar y goma xantana, al combinarse con goma garrofín aumentaron los valores de deformación hasta rotura ($p \leq 0,05$).

Los mayores de deformaciones hasta rotura se obtuvieron con 1 % de goma garrofín y 0,5 % de carragenato, pero sin llegar a superar los altos valores obtenidos con la adición de goma garrofín como único agente gelificante, si bien estos últimos resultaron demasiado gomosos. Parece ser que, en general, la presencia de goma garrofín en la formulación originó geles con una alta deformabilidad; mientras que la combinación de goma guar con otro hidrocoloide dio lugar a geles con baja deformabilidad ($p \leq 0,05$). Este efecto no se observó con ι -carragenato, probablemente debido a que el grado de sulfatación del carragenato modifica la interacción con los galactomananos.

Sin embargo, la adición de ι -carragenato o goma xantana a κ -carragenato originó geles con similar deformación hasta rotura ($p \leq 0,05$).

5 *Resultados y discusión*

Christensen y Trudsoe (1980) también observaron en geles de goma garrofín y κ -carragenato, un incremento de los valores de deformación hasta rotura de gel en aquellas muestras con mayor proporción de goma garrofín respecto a κ -carragenato.

Cuando ι -carragenato es adicionado a salchichas tipo frankfurt originó mayores valores de deformación hasta rotura que los producido por κ -carragenato con xantana o κ -carragenato con ι -carragenato (Bloukas *et al.*, 1997).

También la deformación hasta rotura medida por compresión, se encontró que fue mayor en los geles mixtos de κ -carragenato con la presencia de goma garrofín formado en medio acuoso mientras que fue menor en el gel mixto con ι -carragenato respecto al gel puro de κ -carragenato (Artignan *et al.*, 1997).

1.5.3.- Fuerza hasta rotura

Los resultados obtenidos en el parámetro de fuerza hasta rotura (Fig.42) muestran que todas las combinaciones de hidrocoloides con goma garrofín presentaron mayores valores que el gel control con adición de un sólo hidrocoloide ($p \leq 0,05$). Por otra parte, respecto a los geles con adición de goma garrofín la acción conjunta con los carragenatos incrementó la fuerza hasta rotura ($p \leq 0,05$).

En este caso, se observa una tendencia general a obtener la mayor fuerza hasta rotura en las formulaciones que presentaron goma garrofín y, especialmente, las combinaciones con κ -carragenato y carboximetilcelulosa que superaron los altos valores de los geles que contenían sólo goma garrofín ($p \leq 0,05$).

Otros autores estudiaron el efecto sinérgico potenciador de la mezcla de goma garrofín y κ -carragenato en sistema modelo. Así Christensen y Trudsoe (1980) observaron que el máximo de fuerza hasta rotura de gel se logró con una relación de hidrocoloide 1:1. Mientras que la combinación con ι -carragenato o goma xantana, dio lugar a una disminución de la fuerza hasta rotura del gel de κ -carragenato.

7 *Resultados y discusión*

1.5.4.- Trabajo de penetración

En la Fig.43 se representa los valores de trabajo de penetración de los geles de músculo de bacaladilla con adición de mezclas binarias de hidrocoloides. Hay que destacar el efecto de cada uno de los hidrocoloides al combinarse con goma garrofin, dando lugar a geles con valores superiores a la de los geles con adición de un solo hidrocoloide. En el caso de la goma garrofin, la adición conjunta con otro hidrocoloide tuvo como efecto la disminución de los valores de trabajo de penetración, excepto en su combinación con carragenatos. La carboximetilcelulosa sódica con sus combinaciones, destaca el alto valor del trabajo de penetración en la mezcla binaria con goma garrofin.

También Gencer y Peleg (1986) señalaron que la mezcla de soluciones de carboximetilcelulosa y goma garrofin presentó un efecto sinérgico positivo.

Al igual que para el parámetro anterior, los mayores valores de trabajo de penetración del gel se obtuvieron en las formulaciones que presentaron goma garrofin y, especialmente, en las combinaciones con κ -carragenato y carboximetilcelulosa sódica.

El hecho de no haber encontrado claros efecto sinérgico por la combinación de hidrocoloides en mezclas binarias se puede deber a que se produzca una fuerte competición por el agua entre los hidrocoloides y la proteína miofibrilar (Lee y Kim, 1985 en Gómez-Guillén y Montero, 1997).

Asimismo, otros autores tampoco observaron efecto sinérgico de ι -carragenato combinado con almidón sobre la gelificación de músculo de sardina (Gómez-Guillén y Montero, 1996). Sin embargo, sí se observó efecto sinérgico en la gelificación de calamar (*Dosidicus gigas*) al combinar uno o dos hidrocoloides con una proteína no muscular, como por ejemplo: almidón, ι -carragenato y clara de huevo (Gómez-Guillén y Montero, 1997).

9 *Resultados y discusión*

1.5.5.- Dureza

Respecto a los valores de dureza de los geles (Fig.44), los geles que contenían goma garrofín presentaron mayor dureza que aquellos que contenían la combinación de goma garrofín con cualquiera de los otros hidrocoloides ($p \leq 0,05$). También se observó este efecto en el caso de goma xantana, excepto en sus combinaciones con carboximetilcelulosa y alginato sódico; así como en las mezclas de carboximetilcelulosa, exceptuando aquellas que contenían goma guar o goma xantana.

Con el resto de las gomas, el comportamiento de las mezclas binarias no destacó por su incremento, sino que incluso, resultó producir una disminución de la dureza de los geles ($p \leq 0,05$). A pesar de que de entre todos los hidrocoloides estudiados, fue el κ -carragenato el que confirió mayor dureza de gel (apartado 1.2.2 y 1.5.1).

Baidón *et al.* (1987) estudiaron el efecto de la goma de garrofín y goma guar en los geles de κ -carragenato. La presencia de la goma guar dio lugar a una notable disminución de la fuerza de gel a la compresión. Lo contrario, a lo observado con la adición de goma garrofín que actuó sinérgicamente con κ -carragenato.

Konstance (1993) en geles de caseinato sódico con adición de la mezcla de κ -carragenato e ι -carragenato observó aumento de la dureza del gel respecto al gel con adición de sólo κ -carragenato.

Las salchichas tipo frankfurt que contenían ι -carragenato fueron más blandas sensorialmente que aquellas que tenían ι -carragenato y κ -carragenato (Bloukas *et al.*, 1997). Debido probablemente a que κ -carragenato forma geles duros y quebradizos; mientras que ι -carragenato forma geles más débiles y poco elásticos.

Al formar geles mixtos con la adición de ι -carragenato a κ -carragenato se disminuyó la dureza del gel puro de κ -carragenato; mientras que la adición de goma garrofín en concentraciones inferiores al 0,25 % incrementó la dureza (Artignan *et al.*, 1997).

11 *Resultados y discusión*

Shand *et al.* (1993) observaron una pérdida de textura reflejada en un ablandamiento de los embutidos de vacuno al adicionar en la formulación goma xantana o goma guar/ácido algínico, pudiéndose deber a que las gomas interfirieran en la formación del gel proteico y del alginato cálcico.

1.5.6.- Adhesividad

Como se muestra en las gráficas de la Fig.45, los valores de adhesividad de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de mezclas binarias de hidrocoloides fue mayor, y en algunos casos igual, respecto al gel control con solo adición de un hidrocoloide como fue el caso de goma garrofín, goma guar, goma xantana y carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$). En contraste, se observa una disminución de la adhesividad en los geles con combinaciones binarias de hidrocoloides en comparación con los geles con adición de sólo ι -carragenato o κ -carragenato o alginato ($p \leq 0,05$).

Konstance (1993) consiguió similares valores de adhesión en los geles de caseinato sódico con κ -carragenato, que con la mezcla de ι -carragenato con κ -carragenato.

13 *Resultados y discusión*

1.5.7.- Cohesividad

Los valores de cohesividad (Fig.46) de los geles que contenían goma garrofín, no se superaron con las combinaciones de esta goma con otros hidrocoloides. En cambio, la combinación de ι -carragenato con el resto de cada uno de los hidrocoloides originó geles más cohesivos que en el caso de adicionar sólo ι -carragenato. En el resto de los casos (goma guar, goma xantana, κ -carragenato, carboximetilcelulosa y alginato), los valores de cohesividad de los geles con adición de las mezclas binarias de hidrocoloides fueron, en la mayoría de los casos, significativamente iguales o inferiores a la de los geles control. Destaca la menor cohesividad de los geles con mezcla de ι -carragenato y κ -carragenato siendo inferior a la obtenida individualmente con los carragenatos ($p \leq 0,05$).

Konstance (1993) no encontró diferencias significativas en los geles de caseinato sódico con adición de κ -carragenato y mezcla de κ -carragenato e ι -carragenato.

Artignan *et al.* (1997) describieron que los valores de cohesividad de los geles mixtos de κ -carragenato con la adición de ι -carragenato o goma garrofín no se modificaron respecto al gel puro de κ -carragenato; aunque inferiores al comparar con los valores del gel puro de ι -carragenato.

1.5.8.- Elasticidad

En general, los valores de elasticidad de los geles (Fig.47), se modificó con la adición del hidrocoloide solo o en mezcla con otro hidrocoloide ($p \leq 0,05$). A excepción de ι -carragenato, en cuyo caso la adición conjunta con cualquiera de los hidrocoloides dio lugar a geles menos elásticos ($p \leq 0,05$); a pesar de que fue el ι -carragenato el hidrocoloide que originó los geles más elásticos como se vio en el apartado 1.2.2 y 1.5.1.

Konstance (1993) halló que la elasticidad de geles de caseinato sódico con adición de la mezcla de κ -carragenato e ι -carragenato fue mayor que la obtenida sólo con κ -carragenato.

1.5.9.- Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (Fig.48) fue muy elevada en todos los casos, no mostrando, en general, diferencias significativas en los geles con adición de un hidrocoloide o de sus mezclas con otro hidrocoloide; aunque conviene señalar que las mezclas con κ -carragenato (con goma guar, ι -carragenato o carboximetilcelulosa) presentaron menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$).

Hay que destacar el aumento de la capacidad de retención de agua en los geles que presentaron las combinaciones de goma xantana o de alginato con otro hidrocoloide ($p \leq 0,05$) con respecto al gel control con adición de sólo goma xantana o alginato sódico, respectivamente).

Bloukas *et al.* (1997) encontraron que ι -carragenato presentó menor capacidad de ligar agua que las mezclas de ι -carragenato con κ -carragenato o κ -carragenato con xantana en salchichas tipo frankfurt. Konstance (1993) en geles de caseinato sódico, no halló diferencias en los valores de cohesividad al adicionar κ -carragenato o mezcla de κ -carragenato con ι -carragenato.

Como observaron Guiseley *et al.* (1980), la adición de goma garrofín junto con κ -carragenato no sólo modificó la textura sino que inhibió la sinéresis.

Fernandes *et al.* (1992) trabajando en sistema modelo, detectaron un incremento de la capacidad de retención de agua por el efecto sinérgico de la asociación de κ -carragenato y goma garrofín.

Baidón *et al.* (1987) observaron que al mezclar goma garrofín y goma guar, la efectividad en la reducción de la sinéresis en los geles de κ -carragenato en sistema modelo fue mayor.

Según Christensen y Trudsoe (1980), la adición de ι -carragenato o goma xantana junto con κ -carragenato mejoró la capacidad de retención de agua de los geles de κ -carragenato y la estabilidad frente a la congelación-descongelación; aunque la goma xantana por sí sola no es estable a la congelación-descongelación.

Glicksman (1983) señaló que la mezcla de carragenato con goma garrofin y carboximetilcelulosa era un excelente aditivo para retener agua.

Nielsen *et al.* (1996) encontraron que el efecto de la combinación de alginato, carragenatos y goma garrofin sobre la capacidad de retención de agua en productos reestructurados de ternera fue igual a la suma de las capacidades de retención de agua individuales, no observándose un efecto mayor por acción sinérgica.

1.5.10.- Color

El valor de L^* (luminosidad) de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de hidrocoloides se representa en la figura 49. En general, no se produjeron grandes diferencias entre la adición del hidrocoloide solo o en combinación con otro hidrocoloide. Tan sólo se observó que en los geles con adición de goma guar o ι -carragenato como único hidrocoloide, aumentó la luminosidad al combinarse con carboximetilcelulosa ($p \leq 0,05$).

El valor de luminosidad (L)* no se modificó en las salchichas tipo frankfurt en presencia de carragenato (ι , κ o mezcla de ambos tipos) en concentraciones comprendidas entre 0,25-1 % respecto a la muestra control sin adición de carragenatos (Bloukas *et al.*, 1997).

La tendencia al rojo (a^*) se muestra en la figura 50. Tampoco presentó grandes diferencias debidas a la adición de las distintas mezclas binarias de hidrocoloides. En el caso de los geles con goma guar o de goma xantana o κ -carragenato disminuyó el color rojo en los geles con adición de estos hidrocoloides combinados con goma garrofin o con carboximetilcelulosa o con alginato ($p \leq 0,05$).

Según Shand *et al.* (1993), los embutidos de vacuno presentaron mayor coloración roja pudiéndose deber a posibles interacciones del calcio con la carboximetilcelulosa.

La tendencia a rojo (a^*) se incrementó en el interior de las salchichas tipo frankfurt en presencia de carragenato debido probablemente a que se incrementa los pigmentos de la matriz debido a captación del agua por parte del hidrocoloide. No se produjeron diferencias al usar ι -carragenato o ι -carragenato con κ -carragenato o κ -carragenato con goma xantana (Bloukas *et al.*, 1997).

En contraste, la tonalidad amarilla (b^*) representado en la figura 51, por lo general, aumentó en los geles con adición de mezclas binarias de goma guar o goma xantana o κ -carragenato conjuntamente con carboximetilcelulosa o alginato ($p \leq 0,05$).

La tendencia al amarillo (b^*) no se modificó en el interior de las salchichas tipo frankfurt en presencia de carragenato respecto a la muestra sin adición de hidrocoloide (Bloukas *et al.*, 1997).

2.- GELIFICACIÓN INDUCIDA POR ALTA PRESIÓN

2.1.- GELIFICACIÓN DEL MÚSCULO POR ALTA PRESIÓN

El tratamiento de alta presión (presión-tiempo-temperatura) más adecuadas para la gelificación está condicionado por numerosos factores tales como la especie, la calidad de la materia prima, el pH y la concentración proteica (Kazaki y Nakamura, 1992; Pérez-Mateos y Montero, 1997). Por esto, se consideró necesario estudiar las condiciones del procesado de alta presión más idóneas para el músculo picado de bacaladilla con alta o moderada capacidad gelificante. Se ensayaron márgenes de presión (200-420 MPa), tiempo (10-30 min) y temperatura (0-38°C) suficientemente amplios. En trabajos previos (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a), se utilizó un músculo de escasa capacidad gelificante, de tal forma que fue necesario la adición de algún aditivo coadyuvante de la gelificación, que en ese caso fue almidón.

2.1.1.- Características de la materia prima

Los geles obtenidos en esta parte del estudio se elaboraron a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla capturada a mediados del mes de mayo (Lote 4) como se describe en el apartado 1.4.1.

2.1.2.- Efectos de presión-tiempo-temperatura

Como se ha comentado anteriormente, por medio de un diseño de superficie de respuesta a partir de un número pequeños de ensayos (Tabla 2) se puede establecer un modelo de predicción de resultados y hallar las relaciones entre las variables. Las variables respuesta (características reológicas, capacidad de retención de agua, color) pueden ser descrita como una función de los parámetros tecnológicos estudiados (presión, tiempo, temperatura), donde b_i son los coeficientes estimados de la ecuación (b_1, b_2, b_3 coeficientes lineales; b_{11}, b_{22}, b_{33} coeficientes cuadráticos; b_{12}, b_{13}, b_{23} coeficientes de interacción):

En todas las condiciones ensayadas de presión-tiempo-temperatura, se obtuvieron geles con la máxima puntuación en la **prueba de plegado**. Pérez-Mateos y Montero (1997) trabajando en rangos similares de presión-tiempo-temperatura sobre músculo picado de sardina (*Sardina pilchardus*) obtuvieron también geles con la máxima puntuación en la prueba de plegado. Sin embargo, en procesos de presurización a temperaturas

superiores a 40 °C, el tratamiento de alta presión no logró impedir el efecto *modori* o destrucción irreversible del gel debido probablemente a la acción enzimática de *proteasas*, observándose una disminución de la capacidad gelificante y, por tanto, el valor de la prueba de plegado (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a,b; Pérez-Mateos y Montero, 1997).

Tabla 36.1.- Modelo de regresión ajustado para el ensayo de penetración de geles de homogeneizado de músculo inducidos por alta presión: presión (b_1), tiempo (b_2) y temperatura (b_3)

	Deformación hasta rotura		Fuerza hasta rotura		Trabajo de penetración	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	17,30	0,61	4,40	0,37	76,53	7,97
b_1	-0,53	0,40	-1,15**	0,24	-17,52**	5,29
b_2	-0,78	0,40	-0,77**	0,24	-14,01*	5,29
b_3	-1,71**	0,40	-1,86**	0,24	-32,54**	5,29
b_{11}	-1,08*	0,39	-0,13	0,24	-4,86	5,15
b_{22}	-0,57	0,39	0,26	0,24	1,43	5,15
b_{33}	-1,54**	0,39	-0,055	0,24	-4,72	5,15
b_{12}	-0,65	0,53	-0,38	0,32	-9,35	6,91
b_{13}	-0,68	0,53	0,13	0,32	-0,25	6,91
b_{23}	-0,83	0,53	-0,2	0,32	-4,35	6,91
r	0,91		0,95		0,93	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$
 ** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

La figura 50.1 muestra la evolución de la **deformación hasta rotura** en función de las variables presión, temperatura, tiempo. La temperatura presentó una influencia negativa sobre la deformación hasta rotura en todo el rango estudiado, mientras que la presión sólo en la parte cuadrática de la función (Tabla 36.1). Los geles con mayor deformación hasta rotura tienden a obtener en procesos de presurización de alrededor 300 MPa y temperaturas inferiores a 20°C. Pérez-Mateos y Montero (1997) en geles de músculo de sardina encontraron que la variable con efecto significativo sobre la deformación hasta

rotura fue solo la temperatura en ambos componentes lineal y cuadrático.

Figura 50.1.- Deformación hasta rotura

Los geles de *surimi* de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) inducidos por alta presión mostraron los valores mayores de deformación hasta rotura en rangos similares: 200-300 MPa, 0 °C, 10 min (Shoji *et al.*, 1991). Los geles elaborados de músculo picado de sardina (*Sardinops melanostictus*) y de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) presentaron valores de deformación hasta rotura mayores con el aumento de la presión aplicada (Ko *et al.*, 1990). Pérez-Mateos *et al.* (1997a) hallaron que tiempos de presurización superiores a 10 min incrementaron la deformación hasta rotura en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*).

Según los coeficientes estimados de la ecuación (Tabla 36.1), la **fuerza hasta rotura** está influenciada negativamente por la presión, el tiempo y la temperatura del tratamiento de gelificación, es decir, a mayor magnitud de dichos parámetros, mayor tendencia a la disminución de la fuerza hasta rotura del gel como se muestra gráficamente en la figura 50.2. No siempre estas mismas variables presentaron influencia sobre el parámetro de fuerza hasta rotura; así en músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) de baja capacidad gelificante fue el tiempo y la temperatura (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a); y en músculo de sardina (*Sardina pilchardus*), solamente la temperatura (Pérez-Mateos y Montero, 1997).

Figura 50.2.- Fuerza hasta rotura

Con otras especies, las condiciones de presión óptimas para obtener los máximos valores de fuerza hasta rotura fueron: 200 MPa, 0-10 °C o bien 400 MPa, 30 °C para músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) (Pérez-Mateos *et al.*, 1997a); para músculo de faneca plateada (*Pollachius virens*) a 400 MPa, 30 °C, 35 min (Serennes *et al.*, 1996); y para *surimi* de *Nemipterus tambuloides* 300 MPa, 5-10 °C, 15 min (Carlez *et al.*, 1995).

El **trabajo de penetración** (Fig.50.3; Tabla 36.1) presenta la misma evolución que la fuerza hasta rotura frente a los parámetros presión, tiempo y temperatura. Obteniéndose los mayores valores a diferentes presiones según las especies (Carlez *et al.*, 1995; Serennes *et al.*, 1996; Pérez-Mateos *et al.*, 1997a,b; Pérez-Mateos *et al.*, 1997a).

Figura 50.3.- Trabajo de penetración

La **dureza** (Fig.50.4; Tabla 36.2) presentó una disminución con el aumento de la presión en su componente lineal y también con el tiempo y la temperatura; teniendo en cuenta que a partir de tiempos superiores a 15 min aumenta la dureza (componente cuadrático). En la gráfica, que representa la presión y la temperatura en los ejes (interacción significativa), con el tiempo en su valor medio, se muestra que la tendencia para obtener los geles más duros se sitúa en presiones relativamente bajas (200 MPa) y temperaturas de refrigeración (<10°C).

Figura 50.4.- Dureza

Tabla 36.2. - Modelo de regresión ajustado para el ensayo de compresión de geles de homogeneizado de músculo inducidos por alta presión: presión (b=1), tiempo (b=2) y temperatura (b=3)

	Dureza		Adhesividad		Cohesividad		Elasticidad	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b ₀	84,12	6,81	0,22	0,016	68,84	0,94	42,30	0,94
b ₁	-28,31**	4,52	-0,055**	0,011	-4,95**	0,62	5,54**	0,62
b ₂	-14,09**	4,52	-0,012	0,011	-2,72**	0,62	2,75**	0,62
b ₃	-38,48**	4,52	-0,066**	0,011	-7,35**	0,62	6,64**	0,62
b ₁₁	5,40	4,40	0,018	0,010	-0,98	0,61	0,97	0,61
b ₂₂	10,47*	4,40	0,024*	0,010	0,0066	0,61	-0,44	0,61
b ₃₃	3,08	4,40	0,0092	0,010	-2,18**	0,61	1,15	0,61
b ₁₂	-3,8	5,91	-0,010	0,014	0,55	0,81	-0,88	0,81
b ₁₃	13,62*	5,91	0,028	0,014	-0,2	0,81	0,38	0,81
b ₂₃	4,5	5,91	0,0067	0,014	-0,95	0,81	0,63	0,81
r	0,97		0,94		0,98		0,98	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$

** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

También Pérez-Mateos *et al.* (1997a) obtuvieron los geles más duros a partir de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) inducidos por presión a temperaturas no muy elevadas (menores de 40°C) y presurizando alrededor de 200 MPa. Carlez *et al.* (1995) en geles de surimi de *Nemipterus tambuloides* encontraron la mayor firmeza con presiones superiores (300 MPa, 5-10°C, 15 min).

Según se muestra en la Fig.50.5 o en la Tabla 36.2, la **adhesividad** tiende a disminuir a medida que aumenta la presión aplicada, la temperatura del proceso y con tiempos intermedios de presurización. Por lo tanto, los geles más adhesivos tienden a obtenerse con tratamientos de alta presión de alrededor 200 MPa, <10°C, 10 min. También Pérez-Mateos *et al.* (1997a) determinaron que los geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) presentaron mayor adhesividad con presiones y temperaturas bajas (200 MPa, $\leq 15^\circ\text{C}$) o bien presiones y temperaturas intermedias (300 MPa, 40°C).

Figura 50.5- Adhesividad

Los valores de **cohesividad** (Fig.50.6; Tabla 36.2) presentan una evolución similar a la de la adhesividad. Los geles más cohesivos se obtienen con presiones relativamente bajas 200 MPa, tiempo cortos de 10 min y temperaturas de refrigeración. Pérez-Mateos *et al.* (1997a) consiguieron geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) cohesivos a presiones y temperaturas bajas; tanto la presión como la temperatura presentaron una influencia significativa sobre esta variable.

Pérez-Mateos y Montero (1997) observaron que el calentamiento durante la presurización del músculo lavado de sardina (*Sardina pilchardus*) originó un ablandamiento de los geles y una disminución de la adhesividad; y si estas condiciones se mantenían en el tiempo, los geles, además, eran menos cohesivos. También, se observó una tendencia a obtener geles más blandos al incrementar la presión. Sin embargo, Okamoto *et al.* (1990) encontraron que la dureza de los geles de actomiosina de carpa aumentó con la presión; pero, a la vez, la adhesividad disminuía.

Figura 50.6- Cohesividad

Sin embargo, los geles inducidos por presión con mayor **elasticidad** (Fig.50.7; Tabla 36.2), se tienden a obtener con tratamientos más severos: presiones altas aplicadas durante procesos largos y con temperaturas de calentamiento. Por tanto, en este caso las condiciones de tratamiento que favorecen la elasticidad de los geles, se opone a las de la deformación hasta rotura.

Figura 50.7.- Elasticidad

También Pérez-Mateos *et al.* (1997a) obtuvieron, comprimiendo al 50 % de la altura de los geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) inducidos por presión, mayor elasticidad que por tratamiento térmico, sobre todo con presiones superiores a 300 MPa en geles con 1 % NaCl. Sin embargo, Pérez-Mateos y Montero (1997) no encontraron diferencias destacables en los valores de elasticidad de geles de sardina (*Sardina pilchardus*) inducidos por presión y comprimidos al 50 %.

Aunque las diferencias en elasticidad varían según la especie, e incluso por la calidad gelificante dentro de una misma especie, existe otros factores que condicionan las propiedades determinadas por compresión como son: la compresión en dos ciclos o de relajación de tensión por compresión a deformación constante y, principalmente, al grado de compresión (Schubring, 1997).

La **capacidad de retención de agua** (Tabla 36.3) no se muestra influenciada por las variables presión-tiempo-temperatura en las condiciones estudiadas; si bien puede ser debido a que en todos los casos fue bastante elevada (alrededor de 90 %). Según algunos autores, el tratamiento de alta presión permite reducir la pérdida de agua (Deuch y Hayashi, 1991; Murakami *et al.*, 1994).

Tabla 36.3.- Modelo de regresión ajustado para la capacidad de retención de agua (CRA) y el color (L^* , a^* , b^*) de geles de homogeneizado de músculo elaborados por alta presión: presión ($b_1=1$), tiempo ($b_2=2$) y temperatura ($b_3=3$)

	CRA		L^*		a^*		b^*	
	CR	ES	CR	ES	CR	ES	CR	ES
b_0	90,45	0,43	61,11	0,52	-2,66	0,039	2,79	0,093
b_1	0,49	0,28	2,52**	0,35	0,012	0,026	0,044	0,062
b_2	0,52	0,28	0,44	0,35	-0,0023	0,026	-0,0073	0,062
b_3	0,51	0,28	1,15**	0,35	0,096**	0,026	0,25**	0,062
b_{11}	0,32	0,28	-0,44	0,34	-0,045	0,025	0,066	0,060
b_{22}	-0,17	0,28	0,036	0,34	-0,010	0,025	0,048	0,060
b_{33}	-0,30	0,28	0,11	0,34	0,025	0,025	0,066	0,060
b_{12}	-0,49	0,37	0,013	0,45	$3,9 \cdot 10^{-17}$	0,034	-0,013	0,080
b_{13}	-0,43	0,37	0,59	0,45	-0,025	0,034	-0,063	0,080
b_{23}	-0,40	0,37	0,54	0,45	$7,9 \cdot 10^{-17}$	0,034	0,063	0,080
r	0,79		0,94		0,81		0,83	

CR = coeficiente de regresión; ES = error estándar; * variable significativa a $p \leq 0,05$
** significativa a $p \leq 0,01$; r = coeficiente de correlación múltiple

Sin embargo, Okazaki (1991) indicó una disminución en la capacidad de retención de agua de proteínas sarcoplásmicas de músculo de sardina solubles a partir de 500 MPa mantenida durante 20 min. Pérez-Mateos *et al.* (1997a) en geles de músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) que contenían almidón, encontraron los mayores valores de capacidad de retención de agua con tratamientos largos (200 MPa, 25 min) en frío. Pérez-Mateos y Montero (1997) encontraron una tendencia a alcanzar los máximos valores estimados de capacidad de retención de agua en geles de músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) a esta misma presiones (200 MPa) a temperaturas de alrededor de 40 °C aplicadas durante tiempos inferiores (10 min).

La temperatura y la presión mostraron un claro efecto sobre la **luminosidad** en la parte lineal de la gráfica (Fig.50.8; Tabla 36.3), obteniéndose los mayores valores con la aplicación de altas presiones (400 MPa) y temperaturas de calentamiento moderado (40 °C). Otros autores también encontraron valores superiores de luminosidad con incrementos de la de la presión (Shoji *et al.*, 1990; Wada e Ide, 1991; Ohshima *et al.*, 1993) y también con la temperatura (Pérez-Mateos y Montero, 1997; Pérez-Mateos *et al.*, 1997a).

Figura 50.8.- Color (L^*)

Respecto a la tonalidad roja (a^*) y amarilla (b^*), ambos parámetros presentaron una tendencia a aumentar con la temperatura del proceso; debido, probablemente, a que la temperatura origina cambios más fuertes que el tratamiento de alta presión, por distinto efecto sobre la desnaturalización proteica.

En general, el tratamiento de presurización con el que se obtienen los mayores valores en las propiedades analizadas, es de presiones de alrededor de 200 MPa aplicadas a temperaturas de refrigeración (<10 °C) durante tiempos de procesado cortos. Por otra parte, condiciones de presurización más elevadas, tanto de presión, tiempo y temperatura originan geles con mayor elasticidad y luminosidad (375 MPa, 20 min, 37 °C).

2.1.3.- Análisis multivariante

En la matriz de correlación (Tabla 37.1) destacan la relación positiva de la presión aplicada con la luminosidad del gel, también con la elasticidad y también muestra una correlación negativa y menor con el resto de propiedades reológicas determinadas. Mientras que la temperatura presenta una alta correlación con la mayoría de las características del gel (fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y la tonalidad roja y amarilla). El tiempo presenta una menor correlación con las variables estudiadas.

Por otro lado, las variables dependientes se hallan altamente correlacionadas entre sí. Así la la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura está correlacionadas positivamente, por lo que también lo está el trabajo de penetración con ambas variables. El trabajo de penetración se encuentra positivamente correlacionado con la dureza, la adhesividad y la cohesividad. Es decir, a mayor capacidad gelificante, reflejada en los altos valores de trabajo de penetración, mayor conexión de la red del gel (dureza) y de interacción con el exterior (alta adhesividad); pero manteniendo la estructura bajo una fuerza externa deformante por interacción entre sus moléculas (cohesividad). Hay que destacar también la correlación negativa entre la elasticidad y la deformación hasta rotura, que puede indicar que el gel es muy deformable pero no se recupere bien tras la compresión, aunque hay que tener en cuenta que son medidas obtenidas por técnicas diferentes como son la penetración hasta rotura y la compresión sin rotura.

Del análisis de componentes principales se obtuvo un 95,2 % de la varianza explicada por cuatro factores. El primer factor es el que explica mayoritariamente la variabilidad total con una participación del 69,1 %; en él participa la temperatura, que muestra su influencia principalmente sobre la adhesividad, la dureza, la fuerza hasta rotura, tonalidad roja. El factor 2 explica 13,4 % y está constituido mayoritariamente por la presión, que muestra su efecto principalmente sobre la luminosidad (L^*), aunque también afecta a otras variables como son la adhesividad, la dureza, la fuerza hasta rotura, la elasticidad, la cohesividad y la capacidad de retención de agua. El tercer factor sólo explica el 9,7 % y participa, en parte, la temperatura que modifica principalmente la deformación hasta rotura y el trabajo de penetración y también sobre otras variables como la tonalidad amarilla (b^*). El tiempo de presurización participa en el cuarto factor, con un 7,8 % de la variabilidad total, destacando su influencia positiva sobre la capacidad de retención de agua (Tabla 37.2).

El hecho de que la temperatura participe en dos factores (1 y 3), pero principalmente en el primero, sin que en ninguno de ellos coparticipe la presión o el tiempo indican que no hay interacción entre dichas variables y que sus efectos son independientes. Esto podría indicar que la presión y la temperatura inducen distintos mecanismos de gelificación. A pesar de ello, hay algunas características que se ven modificadas por las tres variables como es el caso de la fuerza hasta rotura, elasticidad, trabajo de penetración, cohesividad y capacidad de retención de agua, pero no siempre con el mismo peso.

1.5.11.- Sumario de la adición de mezclas binarias de hidrocoloides

En general, cuando los geles con adición de hidrocoloide no alcanzaron la máxima puntuación en la prueba de plegado, al utilizar dicho hidrocoloide en combinación con otro hidrocoloide se provocó la disminución de la resistencia a la prueba de plegado del gel resultante.

Respecto a la deformación hasta rotura, los geles con adición de goma garrofín fueron los más deformables; en el resto de las combinaciones, la adición de mezclas binarias de hidrocoloides no incrementó la deformación hasta rotura. Este efecto es más destacable en el caso de la fuerza hasta rotura y trabajo de penetración, especialmente la mezcla de goma garrofín con los carrenatos (ψ κ).

añadir comentarios para el resto de parámetros.....

El hecho de no haber encontrado un efecto sinérgico superior al efecto individual de los hidrocoloides adiciones sobre el músculo picado y lavado de bacaladilla y, según la bibliografía producirse en sistema modelo, puede ser debido en parte a que en el miosistema se produzca competencia por el agua.

tirar esta hoja

2 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

2.2.- GELIFICACIÓN POR ALTA PRESIÓN CON HIDROCOLOIDES Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LOS GELES INDUCIDOS TÉRMICAMENTE

Las condiciones de presurización más adecuadas para la gelificación del músculo picado tal y como se ha mencionado en el apartado anterior (apartado 2.1) son: 200 MPa, <10 °C, 10 min y 375 MPa, 37 °C, 20 min. Esta última condición, que en principio favorece menos la potenciación de las características a determinar puede ser interesante para la acción de los hidrocoloides.

Las condiciones más comúnmente utilizadas para la gelificación de *surimi* o músculo picado de diversas especies, se sitúan alrededor de 200-300 MPa aplicadas a temperaturas de refrigeración y tiempos de procesado cortos (Shoji *et al.*, 1990; Carlez *et al.*, 1995; Pérez-Mateos *et al.*, 1997a,b; Pérez-Mateos y Montero, 1997).

Respecto a la gelificación de hidrocoloides se ve favorecida por las elevadas condiciones de presurización, esto es, mayor magnitud de las variables: presión, tiempo y temperatura. Así por ejemplo, para los carragenatos en sistema acuoso, la gelificación se produce a 330 MPa, 45 °C, 20 min (Tsen y King, 1994); para el κ -carragenato con proteína aislada de suero se situó en valores superiores de alrededor de 600 MPa, 30 °C, 10 min (Fernandes y Raemy, 1996), frente a los 70 °C necesarios para gelificar a presión atmosférica; para pectina se situó alrededor de 360-390 MPa, 43-45 °C, 30 min (King *et al.*, 1994); para almidón de trigo a partir de presiones de 300 MPa (Douzlas *et al.*, 1996). En músculo de bacaladilla con 5 % de almidón, Pérez-Mateos *et al.* (1997a,b) encontraron dos condiciones de presurización que dieron lugar a los mayores valores de trabajo de penetración: 200 MPa, <10 °C, 10 min y 375 MPa, 37 °C, 20 min.

2.2.1.- Características de la materia prima

Los geles obtenidos en esta parte del estudio se elaboraron a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla capturada en el mes de noviembre (Lote 2) cuyas características están referidas en el apartado 1.2.1.

2.2.2.- Características de los geles

El efecto de los hidrocoloides sobre la gelificación del músculo picado de bacaladilla fue diferente según las condiciones de presión-tiempo-temperatura, lo que se refleja en distintas características reológicas, estructurales, capacidad de retención de agua y color. En todos los casos estudiados se obtuvo la máxima puntuación en la prueba de plegado

independiente del hidrocoloide utilizado y del tratamiento de gelificación.

El homogeneizado de músculo de bacaladilla se elaboró con adición de 1 % de NaCl y ajustando la humedad a 80 %; la concentración de hidrocoloides y cationes adicionados al homogeneizado fueron elegidas según los resultados obtenidos en el apartado 1.2.3.8 y 1.3.5, respectivamente. Se escogió la concentración de 0,5 % de hidrocoloide y 1 % para la goma garrofín, ya que estas fueron las concentraciones inferiores que originaron elevados valores en la mayoría de las propiedades determinadas (apartado 1.2.2). En función de las tendencias observadas sobre las propiedades reológicas, capacidad de retención de agua y color (apartado 1.3.2), el tipo de sal y la concentración más adecuada para cada hidrocoloide fue 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofín, goma guar y κ -carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para goma xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y sin adición extra de sales ni en el ι -carragenato ni en el alginato sódico.

2.2.2.1.- Sin adición de hidrocoloides

Como se representa en la figura 51, el gel L (200 MPa, <10 °C, 10 min) presentó los mayores valores en las propiedades obtenidas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración) y, además, destaca por ser un gel más duro, cohesivo y menos elástico que los otros dos geles (T y H). Por otro lado, el gel inducido por tratamiento térmico (T) presentó valores muy altos de adhesividad ($p \leq 0,05$), siendo superiores a la de los geles inducidos por presión; aunque mostró la menor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$).

Respecto al color de los geles, el gel térmico (T) fue más luminoso (L^*) que los geles inducidos por presión (L y H) pero con mayor tonalidad amarilla (b^*). Esto se puede deber al efecto de la temperatura que provoca cambios (desnaturalización, oxidación de pigmentos) más drásticos que la presión, que se caracteriza por modificar en menor medida las características organolépticas del producto.

En la figura 52, se muestra la estructura de los geles de músculo picado y lavado de bacaladilla elaborados por diferentes tratamientos de gelificación. La microfotografía del gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (T) presenta una matriz de aspecto agregado, pero con cierto grado de orientación, relativamente menos compacta y densa que la de los geles inducidos por presión (L y H). La distribución irregular y número de cavidades en los geles inducidos con calentamiento (T y H) dio lugar a una matriz porosa que coincide con los menores valores en el ensayo de penetración. Sin embargo, los geles inducidos por presión (L y H) muestran una estructura sin ninguna dirección longitudinal predominante, especialmente el gel L que presentó los mayores valores de dureza, trabajo

4 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

de penetración y cohesividad.

Visualmente, los geles inducidos por alta presión en frío presentaron una superficie de aspecto uniforme, brillante y translúcido; los geles inducidos por alta presión a temperatura moderada fueron uniformes y opacos. Mientras que los geles inducidos térmicamente a presión atmosférica se mostraron menos uniformes y de apariencia más opaca.

El gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min) a pesar de obtenerse con mayor presión que el gel L (200 MPa, <10 °C, 10 min) presentó menores valores de trabajo de penetración, probablemente por presentar una matriz con cierto aspecto agregado, es decir, se caracteriza por tener propiedades intermedias entre ambos tratamientos: térmico y de alta presión. Otra diferencia en la estructura del gel H es la presencia de una tenue malla que podría resultar de un breve periodo de asentamiento (<5 min) debido al calentamiento a temperaturas moderadas (37 °C) hasta alcanzar la presión deseada (375 MPa) y/o durante el tiempo en que se mantiene la alta presión (20 min). Según Pérez-Mateos *et al.* (1997b) en geles de bacaladilla que contenían 5 % de almidón, el gel H se diferenció notablemente de los otros dos (T y L) por la mayor proporción de interacciones hidrofóbicas, siendo dichos enlaces característicos de la etapa de asentamiento (Wu *et al.*, 1985a; Niwa, 1992).

6 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

8 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

Respecto a la elevada capacidad de retención de agua del gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min), parece que el agua queda atrapada en las pequeñas cavidades distribuidas por toda la matriz, no liberándose por el efecto de la centrifugación (durante la determinación de la capacidad de retención de agua). Sin embargo, el gel T fue el que presentó la mayor sinéresis, pudiendo ser debido a una mayor agregación proteica.

En la figura 53, se muestra el perfil de DSC del músculo de bacaladilla homogeneizado con sal (*sol*). Fernández-Martín *et al.* (1998) observaron que no existían modificaciones entre el perfil del músculo picado y lavado con el correspondiente al homogeneizado.

Según las determinaciones térmicas mostradas en la figura 53, el efecto fue diferente según las condiciones del tratamiento de gelificación. Por el efecto del calentamiento moderado (37 °C 30 min: línea discontinua roja; 37 °C 20 min: línea discontinua amarilla), se observa una disminución del área correspondiente a la miosina situado alrededor de los 40-50 °C, manteniéndose prácticamente inalterado el pico de la actina (>70 °C). Sin embargo, debido al tratamiento térmico a altas temperaturas (90 °C), el perfil cambia de forma muy acusada, modificándose la curva de DSC de ambas proteínas.

La presión parece preservar a la miosina del efecto de la desnaturalización térmica, siendo más evidente cuando la presión es más alta; mientras que la actina sufre diferente grado de desnaturalización según la presión aplicada, produciéndose una desnaturalización parcial a 200 MPa y total a 375 MPa. Según estos resultados, un posible mecanismo de gelificación por presurización podría favorecer la formación de fibras por asociación de los filamentos de miosina y por agregación de la actina. Por tanto, el gel H que ha sido sometido durante su elaboración a altas presiones y temperaturas moderadas presenta un estado de desnaturalización con características intermedias entre el gel L y el gel T.

10 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

2.2.2.2.- Goma garrofín

Como se refleja en la figura 54, el gel inducido por tratamiento térmico presentó valores muy altos de adhesividad ($p \leq 0,05$). El gel inducido por presión en frío (gel L: 200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min), se caracteriza por tener los mayores valores de fuerza hasta rotura, trabajo de penetración y cohesividad ($p \leq 0,05$); sin embargo, mostró menor elasticidad, capacidad de retención de agua y luminosidad ($p \leq 0,05$). Por otra parte, el gel H (375 MPa, 37°C , 20 min) destaca por sus menores valores de dureza ($p \leq 0,05$); en general, presenta propiedades intermedias a las de los otros geles.

En la figura 55 se muestra la estructura de los geles de músculo picado de bacaladilla con adición de 1 % goma garrofín junto con 0,5 % NaCl y 0,5% KCl elaborados por tratamiento térmico: 37°C 30 min / 90°C 50 min a presión atmosférica (T), e inducidos por presión: 200 MPa, 5°C , 10 min (L) y 375 MPa, 37°C , 20 min (H). En los tres casos, la estructura formada parece muy compacta, sin distinguirse orientación longitudinal de las fibras proteicas.

Se distingue la presencia de la goma garrofín en el interior de las cavidades como se observó por microscopía óptica en el apartado 1.4. A mayores aumentos (Fig. 55.2), el hidrocoloide aparece recubriendo las paredes de la cavidad en el gel inducido por alta presión y calentamiento a temperaturas moderadas (gel H); mientras que extendiéndose como una malla por el interior en forma de fina estructura reticular. Esta diferente disposición del hidrocoloide según el tratamiento, podría explicarse por la temperatura elevada de solubilidad de la goma garrofín que no se alcanza en el gel inducido por presión en frío (gel L). En el gel T se alcanzan temperaturas superiores a la de solubilidad de la goma garrofín (85°C) a presión atmosférica; pero también se consigue el estado hidratado de dicho hidrocoloide con temperaturas inferiores y alta presión como se observa en las fotomicrografías electrónicas.

La matriz del gel L muestra un aspecto compacto y denso. El mayor grado de compactación de la matriz del gel L, coincidió con que fue éste el gel que presentó los mayores valores de trabajo de penetración y, además, probablemente por presentar la matriz de aspecto continuo dio lugar a altos valores de dureza. En cuanto a los otros dos geles (T y H), las matrices presentan un aspecto agregado con poros pequeños distribuidos regularmente.

12 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

14 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

16 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

18 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

2.2.2.3.- Goma guar

En la figura 56, se muestran las características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles de bacaladilla con adición de goma guar obtenidas por diferentes tratamientos de gelificación. El gel inducido por tratamiento térmico presentó valores altos de adhesividad y tonalidad amarilla ($p \leq 0,05$), siendo muy superiores a la de los geles inducidos por presión.

Destaca el gel L (200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min) por sus mayores valores en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración) y cohesividad ($p \leq 0,05$); sin embargo, presentó menor elasticidad y luminosidad ($p \leq 0,05$) que los otros geles. El gel H (375 MPa, 37°C , 20 min) fue el más blando ($p \leq 0,05$), con mayor capacidad de retención de agua que el gel inducido por presión en frío (gel L); parece ser que la alta presión y las temperaturas de calentamiento favorecen el estado hidratado del hidrocólide. En general, presenta características intermedias entre el gel T y el L, mostrando algunas propiedades semejantes a uno, debidas a la presión, y otras al otro, debidas al efecto de la temperatura.

En las microfotografías obtenidas por SEM (Fig.57.1 y 57.2), los geles de músculo picado y lavado de bacaladilla con adición de 0,5 % de goma guar junto con 0,5 % NaCl y 0,5% KCl mostraron diferente estructura según el proceso de gelificación. En el gel T aparecen mayor número de acúmulos sobre la matriz proteica respecto al gel sin adición de hidrocóides (Fig. 52). El gel L (200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min) presenta, como en los casos anteriores, una matriz proteica con aspecto compacto y denso que da lugar a los altos valores de trabajo de penetración y de dureza. En contraste, los geles elaborados con calentamiento, tanto por tratamiento térmico a presión atmosférica (37°C 30 min / 90°C 50 min) como por alta presión con calentamiento moderado (375 MPa, 37°C , 20 min) mostraron una matriz con aspecto más globular.

Mientras que en los geles inducidos por presión, se distingue una malla en la superficie de la matriz proteica del gel L con una estructura filamentosa en algunos puntos formando una red densa e incluso acúmulos (Fig.57.1) de aspecto liso y continuo; el gel H muestra en parte apariencia lisa y continua recubriendo la cavidad y en la matriz pequeños acúmulos.

24 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

26 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

Ultraestructuralmente (Fig.57.2), el gel H presenta una red bastante densa de aspecto globular más densa y gruesa dispuesta en racimos y rellenando las cavidades. Esta diferencia en la disposición del hidrocoloide debida a las condiciones de presurización, también apareció en la otra goma galactomanana (Fig.56) y puede ser debido a la diferente solubilidad del hidrocoloide en función de la presión y la temperatura.

2.2.2.4.- Goma xantana

A diferencia de otros hidrocoloides, los geles de bacaladilla con adición de xantana (Fig.58), en general, no presentaron diferencias significativas debidas al tratamiento de gelificación en las propiedades determinadas en el ensayo de penetración.

Por el contrario, sí hubo diferencias en las propiedades determinadas en el ensayo de compresión, y como en los apartados anteriores, el gel L (200 MPa, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min) fue el que presentó menor elasticidad y luminosidad; pero mayor cohesividad ($p \leq 0,05$). A su vez, el gel H (375 MPa, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 min) fue el más blando.

También, el gel inducido por tratamiento térmico presentó valores muy altos de adhesividad y tonalidad amarilla (b^*) ($p \leq 0,05$), siendo superiores a la de los geles inducidos por presión; pero presentó los menores valores de capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$), como ocurría en el gel control sin adición de hidrocoloides.

Zasykin *et al.* (1996) también observaron diferente comportamiento en geles de lactoglobulina con adición de goma xantana según el tratamiento de gelificación. Pero con diferentes resultados a los obtenidos en nuestro trabajo. Así, los autores obtuvieron una disminución de la elasticidad y firmeza en los geles elaborados térmicamente; pero un incremento de la elasticidad en los geles inducidos por alta presión (450 MPa, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min).

En el gel elaborado por tratamiento térmico ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 min / $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 50 min a presión atmosférica), se observa la matriz proteica con cierto grado de orientación longitudinal y además, de manera superpuesta, se extiende una malla dispuesta alrededor de las cavidades atribuible al hidrocoloide, como se observó en microscopía óptica (apartado 1.4).

Las imágenes obtenidas por SEM del gel L (200 MPa, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min) con adición de goma xantana, al igual que en los casos anteriores, mantiene el aspecto compacto pero menos denso, interrumpido por glóbulos o zonas homogéneas atribuibles a la presencia del hidrocoloide (Fig.59.1), este hecho puede ser la causa por la que los valores de trabajo de penetración fueron muy bajos en comparación con los obtenidos con otros hidrocoloides. El

aspecto del gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min) parece muy compacto pero interrumpido por cavidades recubiertas por el hidrocoloide. Los geles obtenidos térmicamente muestran una red de hidrocoloide sobre la matriz; mientras que no se aprecian en los geles inducidos por presión, al contrario de lo observado en los geles con adición de gomas galactomananas (Fig.58 y 59). Esto pone de manifiesto, la diferente actuación del tratamiento de gelificación según el tipo de hidrocoloide utilizado.

Ultraestructuralmente (Fig.59.2) en el gel inducido por tratamiento térmico (37 °C 30 min / 90 °C 50 min), se distingue la presencia del hidrocoloide formando una red a partir de pequeños glóbulos encadenados como las "cuentas de un collar" en algunos puntos se muestra adherido a la matriz proteica. Mientras que en los geles inducidos por presión, el hidrocoloide se encuentra expandido sobre la matriz proteica (L: 200 MPa, <10 °C, 10 min) o formando una estructura de aspecto esponjoso formada por filamentos cortos (H: 375 MPa, 37 °C, 20 min).

Zasytkin *et al.* (1996) estudiaron la estructura de geles elaborados por tratamiento térmico y de alta presión de geles de lactoglobulina con xantana. Las soluciones de lactoglobulina tratadas térmicamente presentaron agregados proteicos en filamentos; mientras que en los geles inducidos por presión, los filamentos aparecieron más gruesos. Estos resultados parecen bastante coherentes con nuestros resultados en geles de bacaladilla: filamentos finos en el gel térmico y más densos en el gel inducidos por presión y calentamiento (Fig.59.2).

2.2.2.5.- Carragenato *iota*

Utilizando ι -carragenato como agente coadyuvante de la gelificación del músculo de bacaladilla (Fig.60) se observa que el gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (T) destaca por los altos valores de adhesividad ($p \leq 0,05$), mayor luminosidad y color amarillo, y menor cohesividad. El gel inducido por presión en frío (200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min) presentó altos valores en las propiedades determinadas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración) y en cohesividad ($p \leq 0,05$); pero menor elasticidad y luminosidad ($p \leq 0,05$). Además, destaca una mayor capacidad de retención de agua que el gel inducido a presión atmosférica (37°C 30 min / 90°C 50 min). El gel H (375 MPa, 37°C , 20 min) fue el más blando ($p \leq 0,05$), mostrando características intermedias a la de los otros geles (T y L). Aunque este hidrocoloide es gelificante presenta un comportamiento bastante similar bajo los diferentes tratamientos de gelificación que en el caso de los hidrocoloides espesantes (goma garroñín, goma guar) de los apartados anteriormente descritos.

A pesar del distinto comportamiento reológico, el aspecto estructural a 500 aumentos es muy similar (Fig.61.1). Los tres geles presentan una matriz muy compacta, sin apenas cavidades, si bien, los geles inducidos por tratamiento térmico muestran un aspecto más agregado y con mayor porosidad en comparación con la matriz algo más orientada del gel inducido por presión en frío (200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min). Ultraestructuralmente (Fig.61.2) en el gel inducido por calor (T) se aprecia una red muy menuda y tupida, formada por filamentos cortos y finos. Sin embargo, en los geles inducidos por presión se aprecian formas globulares más o menos irregulares así como zonas continuas de aspecto algo translúcidas que se atribuyen al ι -carragenato gelificado bajo el efecto de la presión.

Según Tsen y King (1994) los carragenatos en sistema acuoso gelificaron con tratamientos de altas presiones con calentamiento: 330 MPa, 45°C , 20 min. Pero en los tratamientos a los que se somete el homogeneizado de músculo de bacaladilla, sí gelifican ya que se producen modificaciones tanto en las características de los geles respecto a las de los geles sin adición de hidrocoloide (Fig.51) como estructuralmente (Fig.52). Gómez-Guillén *et al.* (1996c), en geles térmicos de calamar gigante, describieron la presencia del ι -carragenato como una malla fina, de apariencia transparente y con puntos de conexión a la red proteica.

2.2.2.6.- Carragenato kappa

En la figura 62, se muestran las características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles de bacaladilla con adición de κ -carragenato obtenidas por diferentes tratamientos de gelificación.

El gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (gel T) fue el que presentó los mayores valores de dureza, adhesividad y color amarillo ($p \leq 0,05$); pero con menor cohesividad y capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$) que los geles inducidos por presión. El hecho de que el gel inducido por tratamiento térmico (T) sea el más duro, pero presente, sin embargo, los menores valores de trabajo de penetración podemos suponer se debe a que son propiedades determinadas con distinto ensayo y no siempre están correlacionados, tal y como sugirieron Burgarella *et al.* (1985) y Lee y Chung (1989). Según estos últimos autores, el ensayo de penetración mide el grado de compactación o de densidad de la red debido al grado de agregación; mientras que el ensayo de compresión mide en conjunto las propiedades de unión de la matriz. Sin embargo, en los geles inducidos por presión la mayor compactación de la matriz se debe al hecho físico de la presión y no a la mayor agregación proteica, ya que Pérez-Mateos *et al.* (1997b) en geles de bacaladilla encontraron mayor agregación proteica en los geles inducidos por tratamiento térmico que por alta presión.

Destacan los geles inducidos por presión, y especialmente el gel L (200 MPa, $<10^\circ\text{C}$, 10 min) por su alta deformación hasta rotura y cohesividad ($p \leq 0,05$); sin embargo, presentó la menor elasticidad y luminosidad ($p \leq 0,05$).

A presión atmosférica los carragenatos gelifican a temperaturas superiores a 70°C (Glicksman, 1983; Gelymar, 1997; de Ruiter y Rudolph, 1997). Con tratamiento de altas presiones, las condiciones más adecuadas descritas en la bibliografía para la gelificación del κ -carragenato mezclado con proteína de suero se situaron en 600 MPa, 30°C , 10 min (Fernandes y Raemy, 1996). En nuestro caso, aunque no se alcanzaron presiones tan altas, con temperaturas moderadas e incluso en frío, se modificaron las propiedades reológicas respecto al gel sin adición de hidrocoloides (Fig.51); además, puede distinguirse una red del κ -carragenato en el interior de la cavidades (Fig.63.2), por lo cual, la presión parece tener diferente mecanismo de gelificación que la producida por tratamiento térmico.

Al igual que en los apartados anteriores, los geles inducidos por presión presentan un aspecto más compacto, mientras que en el gel elaborado por tratamiento térmico muestra una estructura más porosa, con cavidades grandes e irregulares (Fig.63.1). A estos aumentos las mayores diferencias entre los geles inducidos por presión es el número y

44 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

tamaño de las cavidades; en el gel L son más grandes que en el gel H, que aparece con mayor porosidad distribuida homogéneamente por toda la matriz.

Como se observa en la microfotografías de la figura 63.2, existe una estructura reticular muy densa formada por pequeños filamentos que dan lugar a una estructura tridimensional en el gel elaborado por tratamiento térmico (gel T) y el inducido por presión en frío (gel L); mientras que otra parte se encuentra gelificada en una zona homogénea, principalmente en el gel elaborado por tratamiento térmico.

Brighman *et al.* (1994) también observaron que los geles del κ -carragenato presentaron una estructura homogénea de mezcla de fibras finas y gruesas; mientras que el ι -carragenato mostró una red formada por fibras más finas que el κ -carragenato, pero más gruesas que las de goma garrofín.

2.2.2.7.- Carboximetilcelulosa sódica

El músculo picado de bacaladilla con adición de carboximetilcelulosa (Fig.64) y sometido a tratamiento térmico a presión atmosférica (37 °C 30 min / 90 °C 50 min) dio lugar a geles duros, muy adhesivos, con mayor tonalidad amarilla pero con mucha menor cohesividad y capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$) que los geles inducidos por presión (L y H).

Respecto a los geles inducidos por presión, destaca el gel L (200 MPa, <10 °C, 10 min) por presentar valores muy altos en todas las propiedades obtenidas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración) y mayor capacidad de retención de agua ($p \leq 0,05$). Al igual que con adición de otros hidrocoloides, los geles obtenidos por presurización en estas condiciones fueron muy cohesivos y poco elásticos y además, poco adhesivos ($p \leq 0,05$). El gel inducido por presión y calentamiento moderado (gel H) destacó por ser el más elástico y con alta capacidad de retención de agua semejante a la del gel L.

En las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de los tres geles (Fig.65.1), apenas se observan cavidades, sino numerosos poros que dan un cierto aspecto más esponjoso que en los geles anteriores. En el gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (37 °C 30 min / 90 °C 50 min) las fibras presentan una cierta orientación que da lugar, probablemente, a los altos valores de dureza (apartado 2.2.2.6) y, con aspecto general de agregación, muy similar a la matriz del gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min).

A mayores aumentos (Fig.65.2), el gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (T) muestra la matriz de aspecto agregado y agrietado ofreciendo una apariencia muy porosa; no visualizándose de manera independiente el hidrocoloide, probablemente debido a su gran dispersión en pequeños acúmulos como se detectó en microscopía óptica (Fig.38). Sin embargo, los geles inducidos por presión muestran un aspecto más compacto (L y H), si bien menos denso que en las formulaciones anteriores con otros hidrocoloides. En los geles inducidos por alta presión destaca, además, la presencia de finos filamentos formando una malla laxa sobre la matriz (gel L) y, en el interior de las cavidades de ambos geles (L y H) atribuibles al hidrocoloide.

2.2.2.8.- Alginato sódico

En la figura 66, se muestran las características reológicas, capacidad de retención de agua y color de los geles de bacaladilla con adición de alginato obtenidas por tratamiento térmico y presurización. El gel inducido por tratamiento térmico a presión atmosférica (37 °C 30 min / 90 °C 50 min) destacó nuevamente por su mayor dureza y adhesividad ($p \leq 0,05$), muy superior a la obtenida en la mayoría de los casos anteriores, y por su mayor tonalidad amarilla (b^*). Como en los casos anteriores, son también menos cohesivos.

Respecto a los geles inducidos por presión, destacan los obtenidos por presurización en frío (200 MPa, <10 °C, 10 min) por presentar mayores valores de deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración, cohesividad y capacidad de retención de agua; siendo mucho menos adhesivos, elásticos y luminosos ($p \leq 0,05$). El gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min) fue el más elástico mostrando, en general, el resto de características intermedias entre los otros tipos de geles.

Como se muestra en las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido, los geles de músculo picado y lavado de bacaladilla con adición de 0,5 % de alginato sódico presentan un aspecto de la matriz bastante agregado, sin una orientación definida, y muy semejante en los tres casos, interrumpida con pequeñas cavidades (Fig.67). En el gel L (200 MPa, <10 °C, 10 min) las cavidades son algo más grandes que en los otros dos geles (T y H); aunque en el gel H hay algunas cavidades grandes.

En el gel H (375 MPa, 37 °C, 20 min), se observa la presencia del hidrocoloide gelificado en el interior de la cavidad, formando una malla muy fina y tupida. En los otros dos geles (T y L), no se aprecia la distribución del hidrocoloide debido, como se observó mediante tinción (apartado 1.4) en geles térmicos a que se encuentra en pequeñas cavidades.

A mayores aumentos (Fig.67.2) tampoco se distingue muy bien la distribución del hidrocoloide, sobre todo en el gel inducido por presión en frío (gel L). En el gel inducido por tratamiento térmico (T) aparece en ciertas zonas con grandes filamentos atribuibles al hidrocoloide que conectan con la matriz proteica. En el gel H se aprecia con más detalle la red, fina y tupida, destacando la fuerte conexión con la matriz.

2.2.3.- Análisis multivariante

2.2.3.1.- Análisis factorial

Como se muestra en la matriz de correlación (Tabla 38.1), existe una alta correlación positiva del trabajo de penetración con la deformación hasta rotura y la fuerza hasta rotura. Hay que destacar también la correlación negativa de la elasticidad con la deformación hasta rotura y también con la cohesividad, lo que indica que, aunque sean capaces de mantener la estructura bajo una fuerza deformante (poco cohesivos y fuerza hasta rotura) no por eso son capaces de recuperarse tras la compresión (elasticidad).

Existe una correlación positiva entre la adhesividad y la dureza. Esto se puede explicar debido a que las fuerzas de conexión de la red del gel son fuertes (dureza) e interactúan con el exterior (alta adhesividad).

Los parámetros de color muestran una influencia entre ellos, así el color amarillo (b^*) presenta una alta correlación positiva con la luminosidad (L^*) y la tonalidad roja (a^*).

Del análisis de componentes principales se obtuvo que el 91,52 % de la varianza está explicada por tres factores. En la tabla 38.2, se muestra la contribución en orden descendiente de las variables a cada uno de los factores rotados. El primer factor explica la mitad de la la variabilidad total (50,36 %) y está mayoritariamente representado por las variables determinadas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración), cohesividad, y con una evolución opuesta, la elasticidad y la luminosidad. El segundo factor, por las variables adhesividad y dureza, y también participa la capacidad de retención de agua pero con efecto contrario a las propiedades anteriores. Y el tercer factor, principalmente, por los parámetros de color (rojo y amarillo).

2 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

2.2.3.2.- Análisis Clúster

A partir de las características determinadas en los geles que contienen hidrocoloides con las concentraciones seleccionadas de sales elaborados con los distintos tratamientos de gelificación tanto térmicamente como por alta presión, se procedió a un análisis clúster. La hipótesis es que hay ciertos grupos de elementos con una distribución semejante, por lo cual, se agruparon en tres grupos perfectamente diferenciados, si bien en el grupo 2 parece tener una tendencia a formar dos subgrupos, como se observa en la figura 67.1. Las características de cada grupo está definida en el perfil de distribución de dichas variables (Fig.67.2) y en la tabla 39.

El **grupo 1** está formado por todos los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (gel H: 375 MPa, 37 °C, 20 min), que se caracteriza por ser muy elásticos, luminosos con alta capacidad de retención de agua.

El **grupo 2** constituido por todos los geles inducidos por alta presión en frío (gel L: 200 MPa, <10 °C, 10 min), que se caracterizan por presentar altos valores en las propiedades determinadas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración), alta cohesividad y capacidad de retención de agua.

El **grupo 3** formado por todos los geles elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica (gel T: 37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min) que al contrario que el grupo anterior, presentan bajos valores en las propiedades determinadas en el ensayo de penetración y en la cohesividad. Además, se caracterizan por ser geles muy adhesivos, duros y por ser luminosos pero con mayor tonalidad amarilla que la media de los geles.

Tabla 39.- Caracterización de los grupos, según el tratamiento aplicado, por los valores medios de las características de los geles con y sin hidrocoloides y con diferente tratamiento de gelificación (gel H: 375 MPa, 20 min, 37 °C; gel L: 200 MPa, 10 min, <10 °C). Deformación hasta rotura: DR; fuerza hasta rotura: FR; trabajo de penetración: TP; dureza: Du; adhesividad: Ad; cohesividad: Co; elasticidad: El; capacidad de retención de agua: CRA; color: L^* , a^* , b^*

4 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

2.2.3.3.- Análisis discriminante

Los resultados obtenidos en el análisis discriminante (Tabla 40) muestran que los geles se encuentran completamente diferenciados (100 %) según el tratamiento de gelificación, no presentando ningún gel características generales que pudiera confundirlo con otro de los grupos de geles con diferente tratamiento. La diferencia entre las características resultantes de los geles según el tratamiento de gelificación, se puede deber a que la desnaturalización y la agregación se ven inducidas de diferente forma por las condiciones de presión-tiempo-temperatura, orientándose en estructuras diferentes tal y como se observó por microscopía electrónica (apartado 2.2.2).

Tabla 40.1.- Clasificación de Jackknifed donde los grupos, según el tratamiento aplicado, están constituidos por los geles de homogeneizado de músculo con y sin hidrocoloides y con diferente tratamiento de gelificación (gel H: 375 MPa, 20 min, 37 °C; gel L: 200 MPa, 10 min, <10 °C). En las columnas se indica el número de casos de casos clasificados en cada grupo

Las variables de clasificación y su coeficiente de participación se muestran en la tabla 40.2. Estas propiedades entran a formar parte de las funciones secuencialmente en función de su fuerza para discriminar entre los distintos grupos, recalculando en cada paso la fuerza del resto de las propiedades. Los geles asignados en los grupos anteriormente descritos se distinguen principalmente por la cohesividad y, en segundo lugar, por la elasticidad por presentar ambas propiedades un elevado valor del estadístico F, si bien el resto de las propiedades indicadas también participan pero en menor medida.

6 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

Tabla 40.2.- Variables dependientes que discriminan, según el tratamiento aplicado, los grupos formados a partir de las características de los geles de homogeneizado de músculo con y sin hidrocoloide y con diferentes tratamientos de gelificación (gel H: 375 MPa, 20 min, 37 °C; gel L: 200 MPa, 10 min, <10 °C)

Variable	Valor F
cohesividad	566,5
elasticidad	106,9
adhesividad	22,5
fuerza hasta rotura	13,3
amarillo (b^*)	8,1
rojo (a^*)	4,4

Dado que los geles se diferencian totalmente por el tratamiento de gelificación, se va a estudiar, a su vez por análisis clúster, en cada uno de los tratamientos las posibles agrupaciones que dentro de ellos se establezcan según los hidrocoloides ensayados.

Agrupación de los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado: gel H

Los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (gel H: 375 MPa, 37 °C, 20 min) presentan diferentes características debidas al tipo de hidrocoloide adicionado. En total son veinticuatro casos, tres réplicas para cada tipo de hidrocoloide más el control. Como se muestra en la tabla 41.1 y en la figura 68, el **grupo 1 del gel H** (tres casos) que está constituido por los geles con adición de *alginato*, caracterizándose por presentar principalmente alta adhesividad, dureza, capacidad de retención de agua y por el color (alta luminosidad, tonalidad roja y amarilla) frente al resto de geles H con adición de otros hidrocoloides.

El **grupo 2 del gel H** (trece casos) formado por los geles con goma *garrofín*, goma *guar*,

goma *xantana*, *carboximetilcelulosa* y un caso de gel sin adición de hidrocoloides presenta, en general, valores superiores a la media constituida por todos los geles H; excepto por su menor adhesividad y dureza.

8 *Gelificación por alta presión con hidrocoloides*

Al contrario, el **grupo 3 del gel H** (ocho casos), formado por los geles con *l*-carragenato, *κ*-carragenato y dos casos de gel *sin adición de hidrocoloides*, que muestra en general valores inferiores a la media del conjunto de geles H; excepto por su alta adhesividad y dureza.

Es decir, por una parte los hidrocoloides gelificantes y dentro de estos diferenciándose los carragenatos de los alginatos; y por otra, los agentes espesantes (galactomananas, goma xantana y carboximetilcelulosa).

Tabla 41.1.- Caracterización de los grupos, según el hidrocoloide adicionado, por los valores medios de las características de los geles con y sin hidrocoloides e inducidos por alta presión y temperaturas moderadas (gel H: 375 MPa, 20 min, 37 °C). Deformación hasta rotura: DR; fuerza hasta rotura: FR; trabajo de penetración: TP; dureza: Du; adhesividad: Ad; cohesividad: Co; elasticidad: El; capacidad de retención de agua: CRA; color: L^* , a^* , b^*

Los coeficientes de cada uno de las propiedades y las funciones de clasificación se muestran en la tabla 41.2. Los geles asignados en los grupos anteriormente descritos se distinguen principalmente por la tonalidad amarilla (b^*), la deformación hasta rotura y, en segundo lugar, por la dureza por presentar un elevado valor del estadístico F.

Tabla 41.2.- Variables dependientes que discriminan, según el hidrocoloide adicionado, los grupos formados a partir de las características de los geles de homogeneizado de músculo con y sin hidrocoloide e inducidos por tratamiento de alta presión y temperatura moderada (gel H: 375 MPa, 20 min, 37 °C)

Variable	Valor F
amarillo (b^*)	42,5
deformación hasta rotura	28,9
dureza	9,1

10 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

Características de los geles inducidos por alta presión y temperaturas de refrigeración: gel L

Los geles inducidos por alta presión y temperaturas de refrigeración (200 MPa, < 10 °C, 10 min) presentan diferentes características debidas al tipo de hidrocoloide adicionado. Como se muestra en la tabla 42.1 y en la figura 69.

El **grupo 1 del gel L** (doce casos) está formado por los geles con adición de goma *garrofin*, goma *guar*, *λ-carragenato* y por los geles *sin adición de hidrocoloides*. Se caracterizan por ser geles fundamentalmente con altos valores de fuerza hasta rotura y trabajo de penetración, dureza y adhesividad.

El **grupo 2 del gel L** (seis casos), por los geles con goma *xantana* y *κ-carragenato*. Dicho grupo de geles presentan principalmente altos valores de elasticidad; pero con baja adhesividad y bajos valores de las propiedades determinadas en el ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura y trabajo de penetración).

Y el **grupo 3 del gel L** (seis casos), por los geles con *carboximetilcelulosa* y *alginato sódico*. A diferencia del grupo 2, son geles muy deformables, cohesivos, con alta capacidad de retención de agua, y alta luminosidad y tonalidad amarilla (b^*).

Las agrupaciones son distintas a las encontradas en los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado, lo que vuelve a poner en evidencia el distinto comportamiento de los hidrocoloides dentro de la matriz proteica según el tratamiento aplicado.

Tabla 42.1.- Caracterización de los grupos, según el hidrocoloide adicionado, por los valores medios de las características de los geles con y sin hidrocoloides e inducidos por alta presión y temperaturas de refrigeración (gel L: 200 MPa, 10 min, <10 °C). Deformación hasta rotura: DR; fuerza hasta rotura: FR; trabajo de penetración: TP; dureza: Du; adhesividad: Ad; cohesividad: Co; elasticidad: El; capacidad de retención de agua: CRA; color: L^* , a^* , b^*

12 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

Las variables de clasificación y su participación se muestran en la tabla 42.2. Los geles asignados en los grupos anteriormente descritos se distinguen principalmente por la fuerza hasta rotura y, en segundo lugar, por la tonalidad amarilla (b^*), la adhesividad y la dureza. La agrupación de los geles que contienen las diversas formulaciones elaborados con este tratamiento de presurización (L) no se corresponden con la obtenida en el anterior tratamiento (H), por lo que esta distinta clasificación se debe atribuir a las variaciones en el procesado (presión-tiempo-temperatura), evidenciándose nuevamente que los mecanismos de gelificación son al menos en parte diferentes.

Tabla 42.2.- Variables dependientes que discriminan, según el hidrocoloide adicionado, los grupos formados a partir de las características de los geles de homogeneizado de músculo con y sin hidrocoloide e inducidos por tratamiento de alta presión y temperatura de refrigeración (gel L: 200 MPa, <10 °C, 10 min)

Variable	Valor F
fuerza hasta rotura	59,5
amarillo (b^*)	31,9
adhesividad	28,3
dureza	5,2

Características de los geles elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica: gel T

Los geles inducidos térmicamente a presión atmosférica (37 °C 30 min/ 90 °C 50 min) presentan diferentes características debidas al tipo de hidrocoloide adicionado. Como se muestra en la tabla 43.1 y en la figura 70.

El **grupo 1 del gel T** (cinco casos) por los geles con goma *garrofin* y dos casos de los geles con *l-carragenato*; que presentan, en general, elevadas características reológicas en comparación con el resto de geles térmicos.

14 Gelificación por alta presión con hidrocoloides

El **grupo 2 del gel T** (siete casos) por los geles con *carboximetilcelulosa* y *alginato sódico*, un caso de los geles con goma xantana. A diferencia del grupo 1, se caracterizan fundamentalmente por presentar alta elasticidad y color (L^* , a^* , b^*) y, por lo general, elevada capacidad de retención de agua.

Y el **grupo 3 del gel T** (doce casos), por los geles con goma *guar*, *κ -carragenato*, dos casos de goma *xantana*, un caso de ι -carragenato y los geles *sin adición de hidrocoloides*. Estos geles poseen unas características intermedias a las del conjunto de geles inducidos térmicamente a presión atmosférica.

Tabla 43.1.-Caracterización de los grupos, según el hidrocoloide adicionado, por los valores medios de las características de los geles con y sin hidrocoloides e elaborados térmicamente (gel T: 37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min). Deformación hasta rotura: DR; fuerza hasta rotura: FR; trabajo de penetración: TP; dureza: Du; adhesividad: Ad; cohesividad: Co; elasticidad: El; capacidad de retención de agua: CRA; color: L^* , a^* , b^*

Las variables de clasificación y su participación se muestran en la tabla 43.2. Los geles asignados en los grupos anteriormente descritos se distinguen principalmente por el trabajo de penetración y, en segundo lugar, por la tonalidad amarilla (b^*) y en tercer lugar por la cohesividad. Las agrupaciones son distintas a las encontradas en los geles inducidos por alta presión con las del tratamiento térmico, lo que vuelve a poner en evidencia el distinto comportamiento de los hidrocoloides dentro de la matriz proteica según el tratamiento aplicado.

Tabla 43.2.- Variables dependientes que discriminan, según el hidrocoloide adicionado, los grupos formados a partir de las

características de los geles de homogeneizado de músculo con y sin hidrocoloide elaborados por tratamiento térmico a presión atmosférica (gel T: 37 °C 30 min/ 90 °C 50 min)

Variable	Valor F
trabajo de penetración	54,3
amarilla (b^*)	31,6
cohesividad	4,7

El trabajo desarrollado en la presente memoria ha sido encaminado a cubrir el siguiente objetivo general: el estudio de la gelificación inducida térmicamente o por alta presión en músculo de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*); así como la incorporación de hidrocoloides (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carragenato iota, carragenato kappa, carboximetilcelulosa, alginato sódico), con objeto de obtener diversas características de los geles.

Esto se ha abordado mediante los siguientes objetivos parciales: 1) la gelificación mediante tratamiento térmico a presión atmosférica y 2) la gelificación mediante tratamiento de alta presión a diversas temperaturas y estudio comparativo con los geles inducidos térmicamente. En el primero se ha determinado el efecto de la adición de hidrocoloides a diferentes concentraciones y en forma de mezclas binaria; así como la influencia de la incorporación de sales. Y en el segundo objetivo, se ha llevado a cabo un estudio de las condiciones de gelificación: presión (200-420 MPa)-tiempo (10-30 min)-temperatura (0-37°C), para el músculo de bacaladilla. También se ha realizado un estudio comparativo de las características de los geles con hidrocoloides inducidos por diferentes condiciones de presión-tiempo-temperatura.

En este estudio se han determinado las propiedades mecánicas por medio del ensayo de compresión, relajación y penetración), la capacidad de retención de agua, color, calorimetría diferencial y análisis estructural (microscopía óptica y electrónica).

La concentración de hidrocoloide para incrementar la mayoría de las propiedades reológicas con respecto a los geles sin hidrocoloides resultó ser 0,5 % en todos los casos, excepto en la goma garrofin que fue del 1 %. Sin embargo, porcentajes superiores interfirieron dichas propiedades llegando a ser inferiores respecto a los geles sin hidrocoloides; produciéndose para cualquier concentración con goma xantana. El análisis multivariante concluye que la dureza es la propiedad reológica que discrimina prioritariamente el tipo de hidrocoloide incorporado; mientras que la deformación hasta rotura diferencia la concentración utilizada. El uso de mezclas binarias de hidrocoloides permite ampliar la diversidad de características de los geles, pero nunca tiene un efecto sumatorio. Entre ellas cabe destacar la combinación de carragenato (iota y kappa) con goma garrofin.

Respecto a la adición extra de sales para favorecer la acción de los hidrocoloides, el calcio mejora la elasticidad y la luminosidad de los geles, pero interfiere en el resto de las características determinadas. Los cationes sodio y potasio tienen un efecto menos evidente; mostrando, en general, una acción favorecedora con la mayoría de los hidrocoloides, si bien, es diferente en cada uno de ellos.

Por el estudio de microscopía óptica se observa que los hidrocoloides se distribuyen principalmente en cavidades de diferente morfología y que ocupan una proporción en la matriz muy superior al porcentaje de hidrocoloide presente en el gel. Los hidrocoloides espesantes (goma garrofin, goma guar, goma xantana, carboximetilcelulosa) formaron una

malla filamentosa en el interior de las cavidades. Sin embargo, los gelificantes (carragenatos, alginato), recubrieron toda la cavidad con una estructura continua, y conectando en todo el contorno con la matriz; si bien la disposición y forma fue diferente entre ellos.

La presión, el tiempo y la temperatura mostró una influencia independiente sobre las características de los geles, destacando la temperatura. Las condiciones óptimas de gelificación del músculo fueron: alrededor de 200 MPa durante tiempos cortos (10 min) y con temperaturas de refrigeración ($<10\text{ }^{\circ}\text{C}$) (gel L); excepto para las propiedades de elasticidad y luminosidad, las cuales se favorecen con condiciones de alrededor de 375 MPa, 20 min, 37°C (gel H).

Mediante calorimetría diferencial, se aprecia que a presión atmosférica el calentamiento moderado produce una desnaturalización de la miosina y con altas temperaturas tanto de la actina como de la miosina. La alta presión ocasiona una desnaturalización de la actina, parcial a 200 MPa y total a 375 MPa; sin embargo, cuanto mayor es la presión, menor desnaturalización de la miosina.

La presurización produce estructuralmente una matriz compacta y densa; mientras que el tratamiento térmico tiende a ocasionar estructuras más porosas. La combinación de ambos origina geles de aspecto intermedio. Esta misma agrupación se obtuvo mediante análisis multivariante con las características funcionales de los geles, con subgrupos debidos al tipo de hidrocoloide adicionado.

Los hidrocoloides se distribuyen principalmente en el interior de las cavidades bien sea recubriéndolas o formando filamentos según el tipo de hidrocoloide. El tratamiento (presión-tiempo-temperatura) aplicado modifica el comportamiento del hidrocoloide y es diferente en cada caso. Generalizando, se puede concluir que la acción de los aditivos y/o tratamiento permite obtener una mayor diversidad de características funcionales con directa aplicaciones industrial para la elaboración de productos reestructurados de pescado.

SUMARIO GENERAL

I.- GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO A PRESIÓN ATMOSFÉRICA

El músculo de bacaladilla presentó un claro efecto de asentamiento alrededor de 40 °C como se observa en el perfil de gelificación, por lo cual, el tratamiento más adecuado consta de dos etapas consecutivas de calentamiento. Los máximos valores en las propiedades del ensayo de penetración (deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración) se obtuvieron con: 37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min con adición de 1 % NaCl.

En relación con la adición de aditivos gelificantes o espesantes, en general, la presencia de hidrocoloide aumentó las características de los geles; excepto en el caso de la goma xantana, que dio lugar a una disminución de las propiedades reológicas. La concentración de hidrocoloide más adecuada para aumentar la mayoría de las propiedades reológicas en las condiciones ensayadas resultó ser 0,5 % en todos los casos, excepto con goma garroñín que fue del 1 %. Sin embargo, el 0,5 % originó la menor capacidad de retención de agua. A dichos porcentajes, destaca la goma garroñín por originar geles muy deformables, duros y adhesivos; el carragenato *iota* por su baja cohesividad; el carragenato *kappa* por la dureza y adhesividad pero con baja capacidad de retención de agua.

En general, el incremento de la concentración no aumentó los valores de las propiedades analizadas, excepto: la elasticidad y la capacidad de retención de agua en el caso de ι -carragenato o la firmeza (fuerza hasta rotura, dureza) y adhesividad en el caso de κ -carragenato. Además con concentraciones elevadas, los geles fueron menos blancos (menor luminosidad y mayor tonalidad roja y amarilla). Un caso particular, es el de carboximetilcelulosa que en el porcentaje de 4 % produce un incremento destacable de la elasticidad respecto al resto de las concentraciones utilizadas y también el 4 % de alginato, por su mayor capacidad de retención de agua.

Al establecer agrupaciones con todos los hidrocoloides la principal característica por la que se discrimina mejor los grupos es la deformación hasta rotura o la dureza, el color (L^* , a^*) dependiendo de si se han agrupado por tipo de hidrocoloide o por la concentración utilizada.

Respecto a la adición de sales extras para favorecer la acción de los hidrocoloides, el calcio favorece la elasticidad y la luminosidad de los geles, pero interfiere en el resto de las características determinadas; en el caso de goma guar no influye sobre la elasticidad. En general, los cationes monovalentes parecen producir un efecto menos drástico en las propiedades estudiadas y en muchas ocasiones parecen tener un efecto semejante, como se puede apreciar, por ejemplo, en el efecto negativo de NaCl y KCl sobre la fuerza hasta rotura y

2 Sumario general y conclusiones

trabajo de penetración en los geles con alginato o sobre dureza y adhesividad de los geles con goma garrofín. No obstante, sobre alguna de las características el efecto es el contrario, así sobre la tonalidad amarilla (b^*) de los geles con adición de ι -carragenato, la adición extra de NaCl aumenta dicha tonalidad, mientras que por adición de KCl disminuye.

Las condiciones más adecuadas para favorecer la mayoría de las características del gel: 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofín, goma guar y κ -carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y no requirieron adición extra de sales, ι -carragenato y alginato sódico.

Por análisis Clúster, los hidrocoloides parecen presentar una funcionalidad similar según la carga del hidrocoloide ya que los grupos formados se diferencian por su composición química y por el tamaño molecular. Por una parte, los hidrocoloides neutros; por otra, los hidrocoloides aniónicos dentro de los cuales se diferencia la goma xantana, probablemente por presentar mayor peso molecular. Las características de estos grupos están basados fundamentalmente en la deformación hasta rotura y dureza.

Estructuralmente, los hidrocoloides se distribuyen en cavidades de diferente morfología que ocupan una proporción en la matriz muy superior al porcentaje de hidrocoloide presente en el gel, esto hace pensar el hidrocoloide sufre un fenómeno de hinchamiento dentro de la matriz proteica. Los hidrocoloides espesantes (goma garrofín, goma guar, goma xantana, carboximetilcelulosa) formaron una malla filamentosa en el interior de las cavidades; mientras que los gelificantes (carragenatos, alginato), recubrieron toda la cavidad con una estructura continua, lo que podría indicar una interacción entre el hidrocoloide y la matriz proteica. Además, el ι -carragenato gelifica formando numerosas cavidades alargadas; mientras que κ -carragenato forma cavidades menores en número aunque de mayor tamaño y de forma más redondeada y regular.

El uso de mezclas binarias de hidrocoloides permite ampliar la diversidad de características de los geles, pero nunca tiene un efecto sumatorio. La combinación de carragenato con goma garrofín fue la que dio lugar a geles con las mayores propiedades reológicas analizadas: carragenato *iota* especialmente para favorecer la elasticidad y carragenato *kappa*, la dureza y adhesividad del gel.

II.- GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ALTA PRESIÓN A DIVERSAS TEMPERATURAS Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LOS GELES INDUCIDOS TÉRMICAMENTE

La presión, el tiempo y la temperatura mostraron una influencia independiente sobre las características de los geles de músculo de bacaladilla según el diseño de respuesta de superficie realizado para rangos de presión (200-420 MPa), tiempo (10-30 min) y temperatura (0-38 °C). Dichos parámetros tecnológicos favorecen el aumento de la luminosidad, la elasticidad y la capacidad de retención de agua. Además, la temperatura aumenta la coloración del gel (roja y amarilla), mientras que la presión tiende a incrementar más la luminosidad del gel.

Las condiciones óptimas de gelificación fueron: alrededor de 200 MPa durante tiempos cortos (10 min) y con temperaturas de refrigeración (<10 °C); excepto para las propiedades de elasticidad y luminosidad, las cuales se favorecen con condiciones de alrededor de 375 MPa, 20 min, 37 °C.

A presión atmosférica, el calentamiento moderado produce una desnaturalización de la miosina, y las altas temperaturas, la desnaturalización de la actina y la miosina. La alta presión produce una desnaturalización de la actina, parcial a 200 MPa y total a 375 MPa; preservando a la miosina del efecto de la desnaturalización. Según estos resultados, un posible mecanismo de gelificación por presurización podría favorecer la formación de fibras por asociación de los filamentos de miosina y por agregación de la actina. Por tanto, el gel H que ha sido sometido durante su elaboración a altas presiones y temperaturas moderadas presenta un estado de desnaturalización con características intermedias entre los otros geles.

Los geles inducidos por alta presión en frío presentaron una superficie de aspecto visual uniforme, brillante y translúcido; los geles inducidos por alta presión a temperatura moderada fueron uniformes y opacos. Mientras que los geles inducidos térmicamente a presión atmosférica se mostraron menos uniformes y con apariencia más opaca.

El gel obtenido a 200 MPa con temperaturas de refrigeración (<10 °C) presentó estructuralmente una matriz compacta y densa; mientras que los geles obtenidos con calentamiento, mostraron una estructura de aspecto más agregado. Estas diferencias morfológicas se reflejan en las diferentes características reológicas de los geles; así, la cohesividad, elasticidad y adhesividad fue muy diferente según el tratamiento aplicado. Los geles más cohesivos se obtuvieron con tratamiento de alta presión en frío; los geles adhesivos por tratamiento térmico y geles elásticos con calentamiento.

En cuanto a los hidrocoloides, se encuentran mayoritariamente en el interior de las cavidades,

4 *Sumario general y conclusiones*

presentando un aspecto filamentosos o recubriendo la red proteica distinto según el tratamiento, lo cual puede ser debido a la diferente solubilidad o estado de hidratación del hidrocoloide en función de la presión y la temperatura.

Los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (375 MPa, 37 °C, 20 min) se caracterizan principalmente, según análisis Clúster, por ser muy elásticos, luminosos y con alta capacidad de retención de agua. Los inducidos por alta presión en frío (200 MPa, <10 °C, 10 min) se caracterizan por ser muy deformables, fuertes y cohesivos. Mientras que los elaborados térmicamente a presión atmosférica (37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min), al contrario que el grupo anterior, son poco deformables, débiles y poco cohesivos; además, son muy adhesivos, duros y luminosos pero con tonalidad amarilla.

Los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (375 MPa, 37 °C, 20 min) se clasifican en tres grupos: principalmente la presencia de alginato confiere alta adhesividad, dureza, capacidad de retención de agua y color; las gomas garrofin, guar, xantana y la carboximetilcelulosa, menor adhesividad y dureza, y altos valores en la capacidad de retención de agua, cohesividad, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración; los carragenatos *iota* y *kappa*, alta adhesividad y dureza y menor capacidad de retención de agua, cohesividad, deformación hasta rotura, fuerza hasta rotura, trabajo de penetración.

Los geles inducidos por alta presión en frío (200 MPa, <10 °C, 10 min), se clasifican en tres grupos: l-carragenato, goma garrofin y goma guar son fuertes, duros y adhesivos; goma xantana y κ-carragenato, elásticos, débiles, poco deformables y adhesivos; carboximetilcelulosa y alginato, con alta retención de agua, deformables, cohesivos y luminosos y con tonalidad amarilla.

En los geles elaborados térmicamente a presión atmosférica (37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min) destacan tres grupos: goma garrofin, l-carragenato por su baja capacidad de retención de agua y elevadas características reológicas; carboximetilcelulosa, alginato sódico, alta capacidad de retención de agua, elásticos, luminosos, poco deformables y débiles; goma guar, κ-carragenato, goma xantana con características intermedias con los anteriores.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

I.- GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO TÉRMICO A PRESIÓN ATMOSFÉRICA

Respecto a las condiciones de gelificación del homogeneizado de músculo de bacaladilla (objetivo 1), se puede concluir:

Primera.- El músculo de bacaladilla presentó un claro efecto de asentamiento, por lo cual, el tratamiento más adecuado consta de dos etapas consecutivas. El máximo trabajo de penetración se obtuvo con: 37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min. ya se sabía antes

Del estudio del efecto de la adición de hidrocoloide a diferentes concentraciones (objetivo 2), se puede concluir:

Segunda.- En general, la adición de hidrocoloide aumentó las características de los geles; excepto en el caso de la goma xantana en que disminuyeron las propiedades reológicas.

Tercera.- La concentración de hidrocoloide para aumentar la mayoría de las propiedades reológicas resultó ser 0,5 % en todos los casos, excepto en la goma garrofin que fue del 1 %. Sin embargo, el 0,5 % origina la menor capacidad de retención de agua.

Cuarta.- La dureza es la propiedad reológica que discrimina prioritariamente el tipo de hidrocoloide incorporado; mientras que la deformación hasta rotura diferencia la concentración utilizada.

Respecto a la influencia de la incorporación de sales para favorecer la acción de los hidrocoloides (objetivo 3), se puede concluir:

Quinta.- El calcio favorece la elasticidad y la luminosidad, pero interfiere en el resto de las características determinadas. En cuanto al efecto del potasio, su adición tiende a dar lugar a geles blandos y poco adhesivos. El sodio incrementa la capacidad de retención de agua y favorece la obtención de geles con baja adhesividad. Las condiciones más adecuadas para favorecer la mayoría de estas características: 0,5 % NaCl y 0,5 % KCl para goma garrofin, goma guar y κ -carragenato; 0,7 % NaCl y 0,5 % KCl para xantana; 1 % KCl para carboximetilcelulosa y no requirieron adición extra de sales, ι -carragenato y alginato sódico.

Sexta.- La adición de sales e hidrocoloides presentaron una funcionalidad similar por una parte, los hidrocoloides neutros y, por otra, los hidrocoloides aniónicos dentro de los cuales se diferencia la goma xantana por presentar mayor peso molecular. Las características de estos

grupos están basados fundamentalmente en la deformación hasta rotura y dureza.

Séptima.- Estructuralmente, los hidrocoloides se distribuyen expandidos en cavidades de diferentes morfologías. Los hidrocoloides espesantes (goma garrofin, goma guar, goma xantana, carboximetilcelulosa) forman una malla filamentosa en el interior de las cavidades; mientras que los gelificantes (carragenatos, alginato), recubren toda la cavidad con una estructura continua.

De la adición de mezclas binarias de hidrocoloides con objeto de obtener nuevas características (objetivo 4), se puede concluir:

Octava.- El uso de mezclas binarias de hidrocoloides permite ampliar la diversidad de características de los geles, pero nunca tiene un efecto sumatorio.

II.- GELIFICACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ALTA PRESIÓN A DIVERSAS TEMPERATURAS Y ESTUDIO COMPARATIVO CON LOS GELES INDUCIDOS TÉRMICAMENTE

Respecto a las condiciones de gelificación para el músculo de bacaladilla (objetivo 5), se puede concluir:

Novena.- La presión, tiempo y temperatura mostraron una influencia independiente sobre las características de los geles mirar tabla de componentes principales

Décima.- Las condiciones óptimas de gelificación fueron: alrededor de 200 MPa durante tiempos cortos (10 min) y con temperaturas de refrigeración (<10 °C); excepto para las propiedades de elasticidad y luminosidad, las cuales se favorece con condiciones de alrededor de 375 MPa, 20 min, 37 °C.

Del estudio comparativo de las características de los geles con hidrocoloides inducidos por diferentes condiciones de presión- tiempo-temperatura (objetivo 6), se puede concluir:

Undécima.- Los geles inducidos por alta presión en frío presentaron una superficie de aspecto visual uniforme, brillante y translúcido; los geles inducidos por alta presión a temperatura moderada fueron uniformes y opacos; y los geles inducidos térmicamente a presión atmosférica se mostraron menos uniformes y con apariencia más opaca.

Duodécima.- A presión atmosférica, el calentamiento moderado (37 °C) produce una desnaturalización de la miosina, mientras que las altas temperaturas, la desnaturalización de la actina y la miosina. El tratamiento de alta presión produce una desnaturalización de la actina, siendo parcial a 200 MPa y total a 375 MPa; preservando a la miosina del efecto de la desnaturalización.

Decimotercera.- El gel obtenido a 200 MPa con temperaturas de refrigeración presentó estructuralmente una matriz compacta y densa; mientras que los geles obtenidos con calentamiento, mostraron una estructura porosa.

Decimocuarta.- La cohesividad, elasticidad y adhesividad de los geles fue muy diferente según el tratamiento aplicado.

Decimoquinta.- Los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (375 MPa, 37 °C, 20 min) se caracterizan principalmente por ser muy elásticos, luminosos y con alta

capacidad de retención de agua. Los inducidos por alta presión en frío (200 MPa, <10 °C, 10 min) se caracterizan por ser muy deformables, fuertes y cohesivos. Mientras que los elaborados térmicamente a presión atmosférica (37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min), al contrario que el grupo anterior, son poco deformables, débiles y poco cohesivos; además, son muy adhesivos, duros y luminosos pero con tonalidad amarilla. Dichas propiedades se ven reflejadas en la diversidad de estructuras, los hidrocoloides se encuentran mayoritariamente en el interior de las cavidades, presentando un aspecto filamentosos o recubriendo la red proteica.

Decimosexta.- Los geles inducidos por alta presión y calentamiento moderado (375 MPa, 37 °C, 20 min) se clasifican en tres grupos: principalmente la presencia de alginato confiere alta adhesividad, dureza, retención de agua y color; las gomas garroñín, guar, xantana y la carboximetilcelulosa, menor adhesividad y dureza altos valores en el resto; los carragenatos *iota* y *kappa*, alta adhesividad y dureza y menor capacidad de retención de agua.

Decimoséptima.- Los geles inducidos por alta presión en frío (200 MPa, <10 °C, 10 min), se clasifican en tres grupos: ι -carragenato, goma garroñín y goma guar son fuertes, duros y adhesivos; goma xantana y κ -carragenato, elásticos, débiles, poco deformables y adhesivos; carboximetilcelulosa y alginato, con alta retención de agua, deformables, cohesivos y luminosos y con tonalidad amarilla.

Decimooctava.- En los geles elaborados térmicamente a presión atmosférica (37 °C, 30 min/ 90 °C, 50 min) destacan tres grupos: goma garroñín, ι -carragenato por su baja capacidad de retención de agua y elevadas características reológicas; carboximetilcelulosa, alginato sódico, alta capacidad de retención de agua, elásticos, luminosos, poco deformables y débiles; goma guar, κ -carragenato, goma xantana con características intermedias con los anteriores.

Afolabi, O.A.; Young, K.W.; Whittle, K.J. y Howgate, P. **1981**. The frozen storage characteristics of blue whiting (*Micromesistius poutassou*). En: *Advances in the refrigerated treatment of fish*, Inter. Inst. Frozen (I.I.F.) Commission C2, D1, D2, D3: Boston, USA.

Aguilera y Kessler **(1989)** citados en Barbut (1994).

Álvarez, C. y Tejada, M. **1997**. Influence of texture of *suwari* gels on *kamaboko* gels made from sardine (*Sardina pilchardus*) surimi. *J. Sci. Food Agric* 75:472-480.

Álvarez, C.; Couso, I.; Solas, M.T. y Tejada, M. **1993**. Influence of manufacturing process conditions on gels made from sardine surimi. En: *Food Proteins Structure and Functionality*, Schwenke, K.D. y Mothes, R. (Ed.); VCH: Weinheim, Alemania, 347-353.

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.

Ambjerg Pedersen, H.C. y Jørgensen, B.B. **1991**. Influence of pectin on the stability of casein solutions studied in dependence of varying pH and salt concentration. *Food Hydrocolloids* 5(4):323-328.

AOAC. **1984**. *Official Methods of Analysis* ; Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC, USA.

Armengol, J. **1997**. Los aditivos. *Alimentación, equipos y tecnología* abril:73-76.

Arnaud, J.P.; Choplin, L. y Lacroix, C. **1989**. Rheological behaviour of *kappa*-carrageenan/locust bean gum mixed gels. *J. Texture Studies* 19:419-430.

Artignan, J.M.; Corrieu, G. y Lacroix, C. **1997**. Rheology of pure and mixed *kappa*-carrageenan gels in lactic acid fermentation conditions. *J. Texture Studies* 28:47-70.

Ayensa, M.G. **1997**. Gelificación térmica del músculo de pota (*Todaropsis eblanar*, Ball): estudio enzimático. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid.

Ayensa, M.G.; Montero, P. y Borderías, A.J. **1997**. Studies on gelation of actomyosin and minced muscle of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) and squid (*Toradopsis eblanae*). En: *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*, Luten, J.B., Børresen, T. y Oehlenschläger, J. (Ed.); Elsevier Sci.: Amsterdam, Holanda, 161-170.

Baidón, S.; Fiszman, S.M.; Costell, E. y Durán, L. **1987**. Sinéresis de los geles de

agar y de *kappa*-carragenato. Influencia de la adición de gomas de garrofin y de guar. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment* 27(4):545-555.

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

Barbut, S. **1994**. Protein gel ultrastructure and functionality. En *Protein functionality in food systems*; Hettiarachchy, N. y Ziegler, G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA, 13:383-433.

Barbut, S. y Mittal, G.S. **1996**. Effects of three cellulose gums on the texture profile and sensory properties of low fat frankfurters. *Int. J. Food Sci. Technol* 31:241-247.

Barbut, S.; Gordon, A. y Smith, A. **1996**. Effect of cooking temperature on the microstructure of meat batters prepared with salt and phosphate. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 29:475-480.

Bater, B.; Descamps, O. y Maurer, A.J. **1992**. Quality characteristics of hydrocolloid-added oven-roasted turkey breasts. *J. Food Sci.* 57(5):1068-1070.

Bennett, A.N. **1989**. Alginate gels. PE 0 345 886 A3.

Bernal, V.M.; Smajda, C.H.; Smith, J.L. y Stanley, D.W. **1987**. Interactions in protein/polysaccharide/calcium gels. *J. Food Sci.* 52(5):1121-1125, 1136.

Bezemer *et al.* (**1993**) citados en Pettit *et al.* 1995.

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

Bloukas, J.G.; Paneras, E.D. y Papadima, S. **1997**. Effect of carrageenan on processing and quality characteristics of low-fat frankfurters. *J. Muscle Foods* 8:63-83.

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

Borderías, A.J.; Lamua, M. y Tejada, M. **1983**. Texture analysis of fish fillets and minced fish by both sensory and instrumental methods. *J. Food Technol* 18:85-95.

Borderías, A.J.; Montero, P. y Martí de Castro, M.A. **1996**. Gelificación de serrín de merluza (*Merluccius australis*). *Food Sci. Technol. Inter* 2:293-299.

Bourne, M.C. **1982**. Principles of objective texture measurement. En: *Food Texture*

and Viscosity: Concept and Measurement; Academic Press: Nueva York, USA, 45-117.

Braudo, E.E. **1992**. Mechanism of galactan gelation *Food Hydrocolloids* 6(1):25-43.

Brigham, J.E; Gidley, M.J.; Hoffmann, R.A. y Smith, C.G. **1994**. Microscopic imaging of network strands in agar, carrageenan, locust bean gum and κ carageenan/locust bean gum gels *Food Hydrocolloids*(3-4):331-344.

Brownsey *et al.* (**1988**) citados en Miyoshiet *al.* (1996).

Bullens, C.W.; Llanto, M.G.; Lee, C.M. y Modliszewski, J.J. **1990**. The function of carrageenan-based stabilizers to improve quality in fabricated seafood products. En: *Advances Fish. Technol. Biotechnology for Increased Profitability* Voigt, M. y Botta, R. (Eds.), Technomic Pub. Co., Inc., Lancaster, Pennsylvania, Cap. 4:313-324.

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

Cairns, P.; Miles, M.J.; Morris, V.J. y Brownsey, G.J. **1987**. X-ray fibre diffraction studies of synergistic, binary polysaccharide gels *Carbohydr. Res* 160:411-423.

Carballo, J.; Cavestany, M. y Jiménez-Colmenero, F. **1992**. Rheological changes during thermal gelation of meat butters containing *surimi* from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) or sardine (*Sardina pilchardus*). *J. Sci. Food Agric.* 59:117-122.

Carlez, A.; Borderías, J.; Dumay, E. y Cheftel, J.C. **1995**. High pressure gelation of fish myofibrillar proteins. En: *Food Macromolecules and Colloids* ; Dickinson, E. y Lorient, D. (Ed.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, Inglaterra, 400-109.

Carpenter, R.P.; Cowie, W.P.; Heyes, A.H. y Sutton, A.H. **1975**. Protein Product. Patente U.S. 3891776.

Carroll *et al.* (1984) citados en Fiszman *et al.* (1987).

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. (Eds.); Inserm/John Libbey Eurotext: Montrouge, Francia, 224:195-207.

Cheftel, J.C. y Culioli, J. **1997**. Effects of high pressure on meat: a review. *Food Sci. Technol. Int* 1:75-90.

- Christensen, O. y Trudsoe, J. **1980**. Effect of other hydrocolloids on the texture of *kappa* carrageenan gels. *J. Texture Studies* 11:137-147.
- Chung, Y.C.; Gebrehiwot, A.; Farkas, D.F. y Morrissey, M.T. **1994**. Gelation of *surimi* by high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.* 59:523-524.
- Clark, R. **1980**. Hydrocolloid applications in fabricated mince fish products. 3rd National Technical Seminar on Mechanical Recovery and Utilization of Fish Flesh. Martin, R.E. (Ed.); National Fish. Institute, Washington, D.C., USA, 284-298.
- Clarke *et al.* (**1988**) citados en Nielsen *et al.* (1996).
- Cochran, W.G. y Cox, G.M. **1957**. *Experimental Designs*, Wiley International: Nueva York, USA.
- Connell, J.J. y Hardy, R. **1987**. Avances en tecnología de los productos pesqueros. Acribia (Ed.): Zaragoza, 24-28.
- Couso, I. **1994**. Estudio morfofuncional de geles de surimi de sardina (*Sardina pilchardus*). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid.
- Dalgleish, D. G. y Hunt, J.A. **1995**. Protein-protein interactions in food materials. En: *Ingredient Interactions*, Gaikar, A.G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc: Nueva York, USA, 7:199-233.
- Dea, I.C.M. y Morrison, A. **1975**. Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Ad. Carbohydr. Chem. Biochem.* 31:241-312.
- Dea *et al.* (**1979**) citados en Miyoshi *et al.* (1996).
- DeFreitas, Z; Sebranek, J.G.; Olson, D.G. y Carr, J.M. **1997a**. Carrageenan effects on salt-soluble meat proteins in model systems. *J. Food Sci.* 65(3):539-543.
- DeFreitas, Z; Sebranek, J.G.; Olson, D.G. y Carr, J.M. **1997b**. Carrageenan effects on thermal stability of meat proteins. *J. Food Sci.* 65(3):544-547.
- DeFreitas, Z; Sebranek, J.G.; Olson, D.G. y Carr, J.M. **1997c**. Freeze/thaw stability of cooked pork sausages as affected by salt, phosphate, pH and carrageenan. *J. Food Sci.* 65(3):551-554.
- 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.

- Dexter, D.R.; Sofos, J.N. y Schmidt, G.R. **1993**. Quality characteristics of turkey bologna formulated with carrageenan, starch, milk and soy protein. *J. Muscle Foods* 4:207-223.
- Dickinson, E. **1993**. Protein-polysaccharide interactions in food colloids. En: *Food colloids and polymers: stability and mechanical properties*, Dickinson, E. y Walstra, P. (Ed.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, Inglaterra, 77-93.
- Dickinson, E. y McClements, J. (Ed.) **1996**. *Advances in Food Colloids* ; Blackie Academic & Professional: Glasgow, Escocia.
- Dickinson, E. y Pawlowsky, K. **1996**. Effect of high-pressure treatment of protein on the rheology of flocculated emulsions containing protein and polysaccharide. *J. Agric. Food Chem.* 44:2992-3000.
- Dickinson, E. y Pawlowsky, K. **1997**. Effect of ι -carrageenan on flocculation, creaming and rheology of a protein-stabilized emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 45:3799-3806.
- Doi, E. **1993**. Gels and gelling of globular proteins *Trends Food Sci. Techn* 4:1-5.
- Doublier, J.L. y Launay, B. **1981**. Rheology of galactomannan solutions: comparative study of guar and locust bean gum. *J. Texture Studies* 12:151-172.
- Doublier, J.L. y Llamas, G. **1991**. Flow and viscoelastic properties of mixed xanthan gum + galactomannan systems. En: *Food Polymers, Gels and Colloids*, Dickinson, E. (Ed.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, Inglaterra, 349-356.
- Doublier, J.L.; Castelain, C. y Lefebure, J. **1993**. Viscoelastic properties of mixed polysaccharides systems. En: *Plant Polymeric Carbohydrates*, Meuser, F.; Manners, D.J. y Seibel, W. (Ed.); The Royal Society of Chemistry, 134:76-85.
- Douglas, J.P.; Marechal, P.A.; Coquille, J.C. y Gervais, P. **1996**. Microscopic study of starch gelatinization under high hydrostatic pressure. *J. Agric. Food Chem.* 44:1403-1408.
- 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.
- Dumoulin, M.; Ozwa, S. y Hayashi, R. **1997**. Textural properties of pressure-induced gels of food proteins obtained under different temperatures. En: *High pressure research in the Biosciences and Biotechnology* ; Heremans, K. (Ed.); Leuven

University Press: Lovaina, Bélgica: 383-386.

Dziezak, J.D. **1991**. A focus on gums. *Food Technol* 45(3):116-132.

FAO. **1996**. Estadísticas de pesca: capturas y desembarques. FAO Fisheries Series: Roma, Italia, Vol.78.

Farr, D. **1990**. High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci. Tech.* 1:4-16.

Fernandes, P.B. y Raemy, A. **1996**. High pressure treatment of whey protein/polysaccharide systems. En: *High Pressure Bioscience and Biotechnology* Hayashi, R. y Balny, C. (Ed.); Elsevier Sci.: Tokyo, Japón, 337-342.

Fernandes, P.B.; Gonçalves, M.P. y Doublier, J.L. **1991a**. Phase diagrams in *kappa* carrageenan/locust bean gum systems *Food Hydrocolloids* 5(1/2):71-73.

Fernandes, P.B.; Gonçalves, M.P. y Doublier, J.L. **1991b**. A rheological characterization of *kappa*-carrageenan/galactomannan mixed gels: a comparison of locust bean gum samples. *Carbohydr. Polym* 16:253-274.

Fernandes, P.B.; Gonçalves, M.P. y Doublier, J.L. **1992**. Effect of galactomannan addition on the thermal behaviour of κ -carrageenan gels. *Carbohydr. Polym.* 19:261-269.

Fernandes, P.B.; Gonçalves, M.P. y Doublier, J.L. **1994**. Rheological behaviour of *kappa*-carrageenan/galactomannan mixtures at a very low level of *kappa*-carrageenan. *J. Texture Studies* 25:267-283.

Fernández, P.; Barreto, G.; Carballo, J. y Jiménez-Colmenero, F. **1996**. Rheological changes during thermal processing of low-fat meat emulsions formulated with different texture-modifying ingredients. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* 203:252-254.

Fernández-Martín, F.; Pérez-Mateos, M. y Montero, P. **1998**. Pressure/heat combinations of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) mince: thermal and mechanical behaviour. *J. Agric. Food Chem* (en prensa).

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

Fizman, S. M.; Baidón, S.; Costell, E. y Durán, L. **1987**. Propiedades funcionales de la goma garrofín. Influencia en la resistencia a la compresión de geles de agar y de *kappa*-carragenato. *Rev. Agroquim. Tecnol. Alim* 27(4):519-529.

Floros, J.D. y Chinnan, M.S. **1988**. Computer graphics-assisted optimization for

products and process development *Food Technol.* 42(2):72-78,84.

Foegeding, E.A. y Ramsey, S.R. **1987**. Rheological and water holding properties of gelled meat batters containing *iota*-carrageenan, *kappa*-carrageenan or xanthan gum. *J. Food Sci.* 52(3):549-553.

Foegeding, E.A.; Bowland, E.L. y Hardin, C.C. **1995**. Factors that determine the fracture properties and microstructure of globular protein gels. *Food Hydrocolloids* 9(4):237-249.

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

Gekko, K. **1994**. The *sol*-gel transition of food macromolecules under high pressure. En: *Food Hydrocolloids: structure, properties and functions*; Nishinari, K. y Doi, E. (Ed.); Plenum Press: Nueva York, USA, 259-264.

Gelymar, S.A. **1997**. Carrageninas. *Alimentación, equipos y tecnología* abril:91-95.

Gencer y Peleg (**1986**) citados en Ma y Barbosa-Cánovas (1993).

Gilleland, G.; Lanier, T.C. y Hamann, D.D. **1997**. Covalent bonding in pressure-induced fish protein gels. *J. Food Sci.* 62:713-716,733.

Glicksman, M. **1982**. Functional properties. En: *Food Hydrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol 1:47-99.

Glicksman, M. **1983**. Red seaweed extracts (Agar, carrageenan, furcellaran). En: *Food Hydrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol 2:73-113.

Goldberg, I. **1994**. Functional Foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. Chapman & Hall Inc.: Nueva York, USA.

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

Gómez-Guillén, C. y Montero, P. **1996**. Addition of hydrocolloids and non-muscle proteins to sardine (*Sardina pilchardus*) mince gels. Effect of salt concentration. *Food Chem.* 56(4):421-427.

Gómez-Guillén, C. y Montero, P. **1997**. Improvement of giant squid (*Dosidicus gigas*) muscle gelation by using gelling ingredients. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 204:379-

384.

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

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

Gómez-Guillén, C.; Solas, T.; Borderías, J. y Montero, P. **1996c**. Effect of heating temperature and sodium chloride concentration on ultrastructural and texture of gels made from giant squid (*Dosidicus gigas*) with addition of starch, ι -carrageenan and egg white. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* 202:221-227.

Gómez-Guillén, C.; Borderías, A.J. y Montero, P. **1997a**. Thermal gelation properties of two different composition sardine (*Sardina pilchardus*) muscles with addition of non-muscle proteins and hydrocolloids *Food Chem.* 58(1-2):81-87.

Gómez-Guillén, C.; Solas, T. y Montero, P. **1997b**. Influence of added salt and non-muscle proteins on the rheology and ultrastructure of gels made from minced flesh of sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.* 58(3):193-202.

Gómez-Guillén, C.; Borderías, A.J. y Montero, P. **1997c**. Salt, nonmuscle proteins and hydrocolloids affecting rigidity changes during gelation of giant squid (*Dosidicus gigas*). *J. Agric. Food Chem* 45:616-621.

Gómez-Guillén, C.; Martí de Castro, M.A. y Montero, P. **1997d**. Rheological and microstructural changes in gels made from high and low quality sardine mince with added egg white during frozen storage. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* A 205:419-428.

Gordon y Barbut (**1990**) citados en Barbut (1994).

Guiseley *et al.* (**1980**) citados en Murayama *et al.* (1995b).

Hall, G.M. y Ahmad, N.H. **1997**. *Surimi* and fish-mince products. En: *Fish processing technology*, Hall, G.M. (Ed.); Blackie Academic Professional: Londres, Inglaterra, 74-92.

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 Studies* 10:117-130.

Hamann, D.D. **1994**. Rheological studies of fish proteins. En: *Food Hydrocolloids: structure, properties and functions*; Nishinari, K. y Doi, E. (Ed.); Plenum Press: Nueva York, USA, 225-234.

Hart, R.J.; White, J.A. y Dea, I.C.M. **1994**. Gelling agent. PE 0 602 991 A1.

Hayashi, R. **1989**. Application of high pressure to food processing and preservation: philosophy and development. En: *High pressure in Food Preservation and Processing*, Spiess, W.E.L. y Schubert, L.; Elsevier Appl. Sci.: Londres, Inglaterra.

Herald, C.T. **1986a**. Guar gum. En: *Food Hydrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol. 3:171-183.

Herald, C.T. **1986b**. Locust/Carob bean gum. En: *Food Hydrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol.3:161-169.

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

Hermans (**1949**) citado en Morris (1986).

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.

Hermansson, A.M. **1986**. Water and fatholding. En: *Functional properties of food macromolecules*; Mitchell, J.R. y Ledward, D.A. (Ed.); Elsevier Applied Science Publishers Ltd: Londres, Inglaterra, 6:273-314.

Hermansson, A.M.; Eriksson, E. y Jordansson, E. **1991**. Effects of potassium, sodium and calcium on the microstructure and rheological behaviour of *kappa*-carrageenan gels. *Carbohydr. Polym* 16:297-320.

Hibi, Y.; Matsumoto, T. y Hagiwara, S. **1993**. Effect of high pressure on the crystalline structure of various starch granules. *Cereal Chem.* 70(6):671-676.

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

Hotchkiss, R.D. **1948**. A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Biochem.* 16:131-141.

- Huang, C.Y.; Mikel, W.B. y Jones, W.R. **1997**. Carrageenan influences on the characteristics of restructured normal and pale, soft and exudative hams. *J. Muscle Foods*8:85-93.
- Hughes, E.; Cofrades, S. y Troy, D.J. **1997**. Effects of fat level, oat fibre and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30 % fat. *Meat Sci* . 45(3):273-281.
- Huidobro, A. y Tejada, M. **1995**. Alteration of the electrophoretic pattern of myofibrillar proteins in fish mince during frozen storage. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* . 200:247-251.
- Hultin, H.O; Feng, Y. y Stanley, D.W. **1995**. A re-examination of muscle protein solubility. *J. Muscle Foods*6:91-107.
- Igoe, R.S. **1982**. Hydrocolloids interactions useful in food systems. *Food Technol*. 36(4):72-74.
- Ikeuchi, Y.; Tanji, H.; Kim, K. y Suzuki, A. **1992**. Mechanism of heat-induced gelation of pressurized actomyosin: Pressure-induced changes in actin and myosin in actomyosin. *J. Agric. Food Chem* 40:1756-1761.
- Ikkai, T. y Ooi, T. **1969**. The effect of pressure on actomyosin systems. *Biochem.*, 8, 2615-2622.
- Imai, C.; Tsukamasa, Y.; Sugiyama, M.; Minegishi, Y. y Shimizu, Y. **1996**. The effect of setting temperature on the relationship between ϵ -(γ -glutamyl)lysine crosslink content and breaking strength in salt-ground meat of sardine and Alaska pollack. *Nippon Suisan Gakkaishi*62(1):104-111.
- Imeson, A.P.; Ledward, D.A. y Mitchell, J.R. **1977**. On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins. *J. Sci. Food Agric* . 28:661-668.
- Ipsen, R. **1995**. Mixed gels made from protein and κ -carrageenan. *Carbohydr. Polym* 28(4):337-339.
- Ipsen, R. **1997**. Uniaxial compression of gels made from protein and κ -carrageenan. *J. Texture Studies*28:405-149.
- Ishikawa, M.; Sakai, K.; Yamaguchi, T. y Rachi, S. **1991**. Rheological properties of gel formed by PressureHeat treatment of various fish *surimi*. En: *High Pressure Sciences for Food*, Hayashi, R. (Ed.); San-ei Publications: Kyoto, Japón.

- Ishizaki, S.; Tanaka, M.; Takai, R. y Taguchi, T. **1995**. 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.
- Izzo, M.; Stahl, C. y Tuazon, M. **1995**. Using cellulose gel and carrageenan to lower fat and calories in confections *Food Technol* 7:45-49.
- Jensen, J. **1993**. Fancy fish products, a new trend *Food Marketing Technology* 7(4):6-8.
- Johnston, D.E. **1992**. High pressure. En: *The Chemistry of muscle-bared food*; Johnston (Ed.); The Royal Society of Chemical: Cambridge, Inglaterra, 298-307.
- Keller, J.D. **1986**. Sodium carboxymethylcellulose (CMC). En: *Food Hidrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol.3:43-109.
- Kieran, K.M.; Lainé, K.I. y Finbarr O'Connor, J.F. **1995**. Rheological of sodium caseinate-carrageenan mixtures *J. Texture Studies* 26:635-652.
- Kim, J.M. y Lee, C.M. **1987**. Effect of starch on textural properties of *surimi* gel. *J. Food Sci.* 52:722-725.
- King, A. H. **1983**. Brown seaweed extracts (Alginates). En: *Food Hidrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol 2:115-189.
- King, V.A.E.; Huang, S.C. y Lin, C.J. **1994**. Studies on the characteristics of the thermal behaviour and the optimum process conditions of the gelation of high-methoxyl pectin induced by high pressure *J. Chinese Agric. Chem. Society* 32(5):513-521.
- 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* 37:637-642.
- Konstance, R.P. **1993**. Axial compression properties of calcium caseinate gels. *J. Dairy Sci.* 76:3317-3326.
- Kumazawa, Y.; Sano, K.; Seguro, K.; Yasueda, H.; Nio, N. y Motoki, M. **1997**. Purification and characterization of transglutaminase from Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Agric. Food Chem* 45:604-610.
- Lanier, T.C. **1990**. Interactions of muscle and nonmuscle proteins affecting heat-set gel rheology. En: *Macromolecular Interactions and Food Colloid Stability* Paris, N. y Barford, R. A. (Eds.); ACS Symposium Series: 268-284.
- Lanier, T.C. **1994**. Functional food protein ingredients from fish. En: *Seafood proteins* Sikorski, A.E.; Pan, B.S. y Shahidi, F. (eds.); Chapman & Hall: Londres, Inglaterra, 10:127-159.
- Lanier, T. y Lee, C. **1992**. *Surimi* Technology. Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA.
- Lanier, T.C.; Lin, T.S.; Liu, Y.M. y Hamann, D.D. **1982**. Heat gelation properties of actomyosin and *surimi* prepared from Atlantic croaker. *J. Food Sci.* 47:1921-1925.
- Lawless, H.T.; Tuorila, H.; Jouppila, K.; Virtanen, P. y Horne, J. **1996**. Effects of guar gum and microcrystalline cellulose on sensory and thermal properties of a high fat model food system. *J. Texture Studies* 27:493-516.
- Ledward (1979) citado en Rourke *et al.*, 1997.
- Ledward, D.A. **1994**. Protein-polysaccharide interactions. En: *Protein functionality in food systems*; Hettiarachchy, N. y Ziegler, G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.: Nueva

York, USA, 8:225-259.

Lee, C.M. **1994**. *Surimi* processing from lean fish. En: *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality* Shahidi, F. y Botta, J.R. (Ed.); Blackie Academic & Professional: Londres, Inglaterra, 14:263-287.

Lee, C.M. y Chung, K.H. **1989**. Analysis of *surimi* gel properties by compression and penetration test. *J. Texture Studies* 20:363-377.

Lee, C.M. y Chung, K.H. **1990**. The role of hydrodynamic properties of biopolymers in texture strengthening/modification and freeze-thaw stabilizing α -*surimi* gel. *Adv. Fish. Tech. and Biotech. for Increased Profitability* Voigt, M. y Botta, R. (eds.), Technomic Pub. Co., Inc., Lancaster, Pennsylvania: 397-412.

Lee y Kim (**1985**) citados en Gómez-Guillén y Montero (1997).

Lee, C.M. y Kim, J.M. **1986**. The relationship of composite characteristics to rheological properties of *surimi* gel. En: *Food Engineering and Process Applications* LeMaguer, M. y Jelen, P. (eds.); Elsevier Applied Science Pub., Ltd.: Essex, Inglaterra, vol.1:63-79.

Lee, C.M. ; Wu, M.C. y Okada, M. **1992**. Ingredient and formulation technology for *surimi*-based products. En: *Surimi Technology*, Lanier, T. y Lee, C. (Ed.); Marcel Dekker, Inc.: Nueva York, USA, 11:273-302.

Lee, N; Kato, N.; Yasunaga, K.; Nakagawa, N. y Arai, K. **1997**. A new simple method for evaluation of characteristic gel forming ability of walleye pollack frozen *surimi* in factory. *Nippon Suisan Gakkaishi* 63(6):977-984.

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.

Liu, Y.M.; Lin, T.S. y Lanier, T.C. **1982**. Thermal denaturation and aggregation of actomyosin from Atlantic croaker. *J. Food Sci.* 47:1916-1920.

Llanto, M.G.; Bullens, C.W.; Modliszewski, J.J. y Lee, C.M. **1990**. The function of carrageenan in *surimi* and *surimi*-based seafood analogues. En: *IFT Annual Meeting*, Anaheim, CA, USA.

Ma, L. y Barbosa-Cánovas, G.V. **1993**. Review: Rheological properties of food gums and food gum mixtures. *Rev. Española Ciencia Tecnol. Alimentos* 33(2):133-163.

Ma, L. y Barbosa-Cánovas, G.V. **1996**. Simulating viscoelastic properties of selected

food gums and gum mixtures using a fractional derivate model. *J. Texture Studies* 27:307-325.

Ma, L. y Barbosa-Cánovas, G.V. **1997**. Viscoelastic properties of xanthan gels interacting with cations. *J. Food Sci* 62(6): 1124-1128.

Ma, L.; Grove, A. y Barbosa-Cánovas, G.V. **1996**. Viscoelastic characterization of surimi gel: effects of setting and starch. *J. Food Sci* 61(5): 881-883/889.

MacDonald y Lanier **(1991)** citados en Venugopal y Shaidi (1995).

MacDonald, G.A.; Stevens, J. y Lanier, T.C. **1994**. Characterization of New Zealand hoki and southern blue whiting surimi compared to Alaska pollock surimi. *J. Aquatic Food Product Technol* 3(19):19-38.

Maga, J.A. y Fapojuwo, O.O. **1988**. The effect of various hydrocolloids on some physical properties of extruded corn grits. *Intern. J. Food Sci. Technol* 23:49-56.

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.

Martí de Castro, M.A.; Gómez-Guillén, M.C. y Montero, P. **1997**. Influence of frozen storage on textural properties of sardine (*Sardina pilchardus*) mince gels. *Food Chem.* 60(1):85-93.

Martoja, R. y Martoja-Pierson, M. (Ed.). **1970**. Histoquímica. En: *Técnicas de histología animal* Toray-Masson, S.A.: Barcelona: 156-164, 166-184.

Milas *et al.* **(1990)** citados en Pettitt *et al.* 1995.

Mills, A. **1990**. Utilization of retextured deboned mackerel fish. En: *Pelagic Fish: The Resource and its exploitation* Burt, J.R.; Hardy, R. y Whittle, K.J. (Eds); Fishing News Books Ltd: Oxford, Inglaterra.

Miyoshi, E.; Takaya, T.; Williams, P.A. y Nishinari, K. **1996**. Effects of sodium chloride and calcium chloride on the interaction between gellan gum and konjac glucomannan. *J. Agric. Food Chem* 44:2486-2495.

Montejano, J.G.; Hamann, D.D. y Lanier, T.C. **1983**. Final strength and rheological changes during processing of thermally induced fish muscle gels. *J. Rheol.* 276:557-579.

Montejano, J.G.; Hamann, D.D. y Lanier, T.C. **1984**. Thermally induced gelation of

selected comminuted muscle systems, rheological changes during processing, final strengths and microstructure *J. Food Sci.* 49:1496-1505.

Montero, P. y Gómez-Guillén, C. **1996**. Thermal aggregation of sardine muscle proteins during processing *J. Agric. Food Chem* 44(11):3625-3630.

Montero, P.; Pardo, M.V.; Gómez-Guillén, M.C. y Borderías, J. **1992**. Hidrocoloides como ponteciadores de la gelificación del músculo picado de sardina. En: // *Congreso Internacional de Química "Ciencia y Tecnología de los Alimentos"* : Industria alimentaria y distribución"; Burgos.

Montero, P.; Gómez-Guillén, M.C. y Borderías, 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* 2:111-122.

Montero, P.; Martí de Castro, M.A.; Solas, M.T. y Gómez-Guillén, M.C. **1997a**. Textural and microstructural changes in frozen stored sardine mince gels. *J. Food Sci.* 64(4):838-842.

Montero, P.; Pérez-Mateos, M. y Solas, T. **1997b**. Comparison of different gelation methods using sardine (*Sardina pilchardus*) mince: effect of temperature and pressure. *J. Agric. Food Chem* 45:4612-4618.

Moral, A. y Borderías, J. **1981**. Pasta de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) obtenidas por el sistema de "cutter" con adición de protectores proteicos y de antioxidantes. *Bol. Inst. Espa. Oceano*.VI (293):139-147.

Morris, V.J. **1986**. Gelation of polysaccharides. En: *Functional properties of food macromolecules*, Mitchell, J.R. y Ledward, D.A. (Ed.); Elsevier Applied Science Publishers Ltd: Londres, Inglaterra, 3:121-170.

Morris, V.J. **1991**. Weak and strong polysaccharide gels. En *Food polymers, gels and colloids*, Dickinson, E. (Ed.); Royal Society of Chemistry: Cambridge, Inglaterra, 310-321.

Morris *et al.* (1973) citados en King (1983).

Muhr, A.H. y Blanshard, J.M.V. **1982**. Effect of hydrostatic pressure on starch gelatinisation. *Carbohydr. Polym* 2:61-74.

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.

- Murayama, A.; Ichikawa, Y. y Kawabata, A. **1995a**. Rheological properties of κ -carrageenan with galactomannan *Biosc. Biotechnol. Biochem* 59:5-10.
- Murayama, A.; Ichikawa, Y. y Kawabata, A. **1995b**. Sensory and rheological properties of κ -carrageenan gels mixed with locust bean gum, tara gum or guar gum. *J. Texture Studies* 26:239-254.
- Nagaisha, E.; Nishimuro, S. y Fujita, T. **1981**. Kamaboko-forming ability of the jellied meat of Pacific hake. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* 49:901-906.
- Nagashima, Y.; Ebina, H.; Nagai, T.; Tanaka, M. y Taguchi, T. **1992**. Proteolysis affects thermal gelation of squid mantle muscle. *J. Food Sci.* 57(4):916-917,922.
- Nagashima, Y.; Ebina, H.; Tanaka, M. y Taguchi, T. **1993**. Effect of high hydrostatic pressure on the thermal gelation of squid mantle meat. *Food Research Inter.* 26:119-123.
- Nakayama, T.; Ichikawa, T.; Kanoh, S. y Niwa, E. **1987**. Manufacturing of restructured sardine meat by the aid of dialysis *Nippon Suisan Gakkaishi* 53(11):2021-2030.
- Nakayama, T.; Kashiwagi, Y.; Kanoh, S. y Niwa, E. **1988**. Manufacturing of sardine terrine by addition of carrageenan *Nippon Suisan Gakkaishi* 54(1):123-128.
- Nielsen, H.T.; Høegh, L. y Møller, A.J. **1996**. Effect of a κ -carrageenan/locust bean gum mixture on bind and cooking loss in high mannuronate alginate restructured beef. *J. Muscle Foods* 7:413-424.
- Nishinari, K.; Watade, M.; Rinaudo, M. y Milas, M. **1996**. Characterization and properties of gellan/ κ -carrageenan mixed gels. *Food Hydrocolloids* 10(3):277-283.
- Niwa, E. **1992**. Chemistry of *surimi* gelation. En: *Surimi Technology*, Lanier, T.C. y Lee, C.M. (Eds); Marcel Decker, Inc.: Nueva York, USA, 389-428.
- Niwa, E.; Koshihara, K.; Matsuzaki, M.; Nakayama, T.; Hamada, I. **1980**. Species-specificities of myosin heavy chain in setting and returning *Nippon Suisan Gakkaishi* 46:1497-1500.
- Niwa, E.; Wang, T.; Kanoh, S. y Nakayama, T. **1988a**. Strengthening effect of the various natural high polymers on the elasticity of the kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54(5):841-844.
- Niwa, E.; Wang, T.; Kanoh, S. y Nakayama, T. **1988b**. Contribution of gelling substance to muscular protein network structure within kamaboko. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54(6):989-992.

Niwa, E.; Tsujimoto, K. y Kanoh, S. **1992**. Kamaboko gel-strengthening effect of polyuronides and other polysaccharides *Nippon Suisan Gakkaishi*58(1):85-88.

Nnanna, I.A. y Dawkins, N.L. **1996**. Adsorption-isotherm and effect of gum blends on viscosity and microstructure of oat gum (β -D-glucan). *J. Food Sci* 61(1):121-126.

Norton *et al.* (**1984**) citados en Sanderson (1996).

Nowsad, A.K.M.; Katoh, E.; Kanoh, S. y Niwa, E. **1996**. Contribution of transglutaminasa to the setting of fish pastes at various temperatures. *Fisheries Sci.* 62(1):94-97.

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.

Ofstad, R.; Grahl-Madsen, E. y Solberg, C. **1992**. *Surimi* from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) produced on board m/s Uksnøy: process and quality. En: *Pelagic fish: the resource and its exploitation*; Burt, J.R.; Hardy, R. y Whittle, K.J. (Eds.); Fishing News Books, Blackwell Sci. Pub. Ltd.: Cambridge, Inglaterra, cap.7:82-93.

Ohashi, S.; Ura, F.; Ochi, T.; Iida, H. y Ukai, S. **1990a**. Interaction of thaumatin with carrageenans. I. Effects of pH, temperature and competing cations. *Food Hydrocolloids*4(2):105-119.

Ohashi, S.; Ura, F.; Takeuchi, M.; Iida, H.; Sakaue, K.; Ochi, T.; Ukai, S. y Hiramatsu, K. **1990b**. The decrease of thaumatin's sweetness intensity upon interaction with carrageenan. *Food Hydrocolloids*4(4):323-333.

Ohashi, S.; Ura, F.; Takeuchi, M.; Iida, H.; Sakaue, K.; Ochi, T.; Ukai, S. y Hiramatsu, K. **1991**. Interaction of thaumatin with carrageenans. II. Effects of pH, temperature and competing cations studied by circular dichroism. *Food Hydrocolloids*4(5):379-394.

Ohlsson, T. **1994**. Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trends Food Sci. Tech* 5:341-344.

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

Okada, M. **1974**. Elasticity of Kamaboko and its strengthening. En: *Fish Paste Products*, Okada, M.; Yokozeki, M. y Kinumaki, T. (eds.), Koseisha Koseikaku: Tokyo,

Japón: 180-202.

Okamoto, M.; Deuchi, T. y Hayashi, R. **1989**. Rheological and organoleptic properties of pressurized food proteins. En: *Use of high pressure in food*; Hayashi, R. (Ed.); San-Ei Shuppan 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* 54:183-189.

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

Park, J.W. **1995**. *Surimi* gel colors as affected by moisture content and physical conditions. *J. Food Sci.* 60(1):15-18.

Pedersen, J. **1977**. La carragenina en productos cárnicos gelificados. *Afinidad*, noviembre (XXXIV):637-642.

Pérez-Mateos, M. y Borderías, A.J. **1997**. Nuevas tecnologías destinadas a aumentar el tiempo de conservación de los productos pesqueros refrigerados. *Alimentación, Equipos y Tecnología* enero-febrero:79-84.

Peréz-Mateos, M. y Montero, P. **1997**. High pressure induced gel of sardine (*Sardina pilchardus*) washed mince as affected by pressure-time-temperature. *J. Food Sci.* 62(6):1183-1188.

Pérez-Mateos, M.; Lourenço, H.; Montero, P. y Borderías, A.J. **1997a**. Gelling of blue whiting muscle under the combined effects of high pressure-time-temperature. En: *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*; Luten, J.B., Børresen, T. y Oehlenschläger, J. (Ed.); Elsevier Sci.: Amsterdam, Holanda, 137-150.

Pérez-Mateos, M.; Lourenço, H.; Montero, P. y Borderías, A.J. **1997b**. Rheological and chemical studies on high pressure-induced gels from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle proteins. *J. Agric. Food Chem* 45:44-49.

Pettitt, D.J. **1982**. Xanthan gum. En: *Food Hydrocolloids*; Glicksman, M. (Ed.); CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, USA, Vol 1:127-149.

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.

Phillips, G.O. y Williams, P.A. **1995**. Interaction of hydrocolloids in food systems. En: *Ingredient Interactions*, Gaikar, A.G. (Ed.); Marcel Dekker, Inc: Nueva York, USA, 5:131-169.

Piculell, L. **1991**. Effects of ions on the disorder-order transitions of gel-forming polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 5:57-69.

Pons, M. y Fiszman, S.M. **1996**. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *J. Texture Studies* 27:597-624.

da Ponte, D.J.B.; Herst, J.M.; Roozen, J.P. y Pilnik, W. **1985**. Effects of diferentes tipos de carrageenans and carboxymethyl celluloses on the stability of frozen stored minced fillets of cod. *J. Food Tech* 20:587-598.

da Ponte, D.J.B.; Roozen, J.P. y Pilnik, W. **1987**. Effects of *iota* carrageenan, carboxymethyl cellulose and xanthan gum on the stability of formulated minced fish products. *Inter. J. Food Sci. Technol* 22:123-133.

Rees, D.A. **1969**. Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharides gels and networks. *Advances Carbohydr. Chem* 24:267-332.

Rees (**1972**) citado en Fiszman *et al.* (1987).

Reppond, K.D. y Babbitt, K. **1997**. Gel properties of *surimi* from various fish species as affected by moisture content. *J. Food Sci* 62(1):33-36.

Ring y Stainsby (**1982**) citados en Lee *et al.* (1992).

Rochas, C.; Tavel, F.R. y Turquois, T. **1990**. N.m.r. studies of synergistic *kappa* carrageenan-carob galactomanan gels. *Int. J. Biol. Macromol* 12:353-358.

Rockower, R.K.; Deng, J.C.; Otwell, W.S. y Cornell, J.A. **1983**. Effect of soy flour, soy protein concentrate and sodium alginate on the textural attributes of minced fish patties. *J. Food Sci* 48:1048-1052.

Rosett, T.R.; Kendregan, S.L.; Gao, Y.; Schmidt, S.J. y Klein, B.P. **1996**. Thickening agents effects on sodium binding and other taste qualities of soup systems. *J. Food Sci* 61(5):1099-1104.

Ross-Murphy, S.B. **1995**. Rheological characterisation of gels. *J. Texture Studies* 26:391-400.

Rourke, T.J.; Clarke, A.D.; Bailey, M.E. y Hedrick, H.B. **1997**. Ionic interactions in algin/calcium/myofibrillar protein gels *J. Muscle Foods* 8:33-46.

de Ruiter, G.A. y Rudolph, B. **1997**. Carrageenan biotechnology. *Trends Food Sci. Technol.* 8:89-95.

Saeki, H.; Shoji, T.; Hirata, F.; Nonaka, M. y Arai, K. **1992**. Effect of CaCl_2 on gel forming ability and cross-linking reaction of myosin heavy chain in salt-ground meat of skipjack tuna, carp and walleye pollack. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(11):2137-2146.

Sanderson, G.R. **1981**. Polysaccharides in foods *Food Technol* 35(7):50-57,83.

Sanderson, G.R. **1996**. Gums and their use in food systems *Food Technol* 3:81-84.

Sano, T.; Noguchi, S.F.; Tsuchiya, T. y Matsumoto, J.J. **1988**. Dynamic viscoelastic behaviour of natural actomyosin and myosin during thermal gelation. *J. Food Sci.* 53:924-928.

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.

Sato, S. y Tsuchiya, T. **1992**. Microstructure of surimi and surimi-based products En: *Surimi Technology*, Lanier, T.C. y Lee, C.M. (Eds); Marcel Decker, Inc.: Nueva York, USA, 501-515.

Schubring, R. **1997**. Possibilities of the use of physical and chemical methods by particularly consideration of instrumental texture measurement for characterisation of commercially processed minces *Inf. Fischwirtsch* 44(2):118-127.

Seki, N; Uno, H.; Lee, H.H.; Kimura, I.; Toyoda, K.; Fujita, T. y Arai, K. **1990**. Transglutaminase activity in Alaska Pollack muscle and surimi and its reaction with myosin B. *Nippon Suissan Gakkaishi* 56:125-132.

Serennes, F.; Chopin, C.; Mastail, M. y Vallet, J.L. **1996**. Influence des hautes pressions sur la texturation de la pulpe de lieur noir (*Pollachius virens*). *Sci. Aliments* 16:307-316.

- Shand, P.J.; Sofos, J.N. y Schmidt, G.R. **1993**. Properties of algin/calcium and salt/phosphate structured beef rolls with added gums. *J. Food Sci.* 58(6):1224-1230.
- Shand, P.J.; Sofos, J.N. y Schmidt, G.R. **1994**. *Kappa*-carrageenan, sodium chloride and temperature affect yield and texture of structure beef rolls. *J. Food Sci.* 59(2):282-287.
- 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.; Machida, R. y Takenami, S. **1981**. Species variations in the gel-forming characteristics of fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47(1):95-104.
- Shimizu, Y.; Nishioka, F.; Machida, R. y Shien, C.M. **1983**. Gelation characteristics of salt-added myosin. *Nippon Suisan Gakkaishi* 49:1239-1243.
- Shioya, T.; Hirano, R. y Tobitani, A. **1994**. Utilization of high hydrostatic pressure to make alginate gels. En: *Food hydrocolloids: structure, properties and functions*; Nishinari, K. y Doi, E. (Ed.); Plenum Press: Nueva York, USA, 265-268.
- 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* 56:2069-2076.
- 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**. Effect of storage temperature on changes in gel strength and myofibrillar protein of pressure-induced gel of walleye pollack *surimi*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58:329-336.
- 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* 60:101-109.
- Smith, J.G.M.; Hardy, R.; Thomson, A.B.; Young, K.W. y Parsons, E. **1980**. Some observations on the ambient and chill storage of blue whiting (*Micromesistius poutassou*). En: *Advances Fish. Sci. Technol.*; Connell, J.J. (Ed.); Fishing News Books: Inglaterra, 299-303.
- Spencer, K.E. y Tung, M.A. **1994**. *Surimi* processing from fatty fish. En: *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality* Shahidi, F. y Botta, J.R. (Ed.); Blackie

Academic & Professional: Londres, Inglaterra, 14:287-319.

Stone, A.P. y Stanley, D.W. **1992**. Mechanisms of fish muscle gelation. *Food Research Inter.*25:381-388.

Subhashchandra-Shetty, C.; Bhaskar, N.; Bhandary, M.H. y Raghumath, B.S. **1996**. Effects of film forming gums in the preservation of salted and dried indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*Cuvier). *J. Sci. Food Agric* 70:453-460.

Sudhakar, V.; Singhal, R.S. y Kulkarni, P.R. **1996**. Effect of salt on interactions of starch with guar gum. *Food Hydrocolloids*10(3):329-334.

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.

Taguchi, T.; Tanaka, M.; Nagashima, Y. y Amano, K. **1986**. Thermal activation of actomyosin Mg²⁺ATPases from flying fish and marlin muscles. *J. Food Sci.* 51:1407-1410.

Tako, M. y Nakamura, S. **1986**. Synergistic interaction between *kappa*-carrageenan and locust bean gum in aqueous media *Agric. Biol. Chem* 50(11):2817-2822.

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.

Tang, J.; Tung, M.A. y Zeng, Y.**1997**. Gelling properties of gellan solutions containing monovalent and divalent cations *J. Food Sci* 62(4):688-692/712.

Tejada, M. **1994**. Gelation of myofibrillar fish proteins. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* 34(3):257-273.

Thevelein, J.M.; Van Assche, J.A.; Heremans, K. y Gerlisma, S.**1981**. Gelatinisation temperature of starch, as influenced by high pressure. *Carbohydrate Research* 93:304-307.

Toda, J.; Wada, To.; Yasumatsu, K. e Ishii, K. **1971**. Application of principal component analysis to food texture measurements *J. Texture Studies*2:207-219.

Tokunaga, T. y Nishioka, F. **1987**. The improvement of technology for *surimi* production from fatty japanese sardine. En: *Fatty fish utilization: upgrading from feed to food*. Proceedings of the National Technical Conference; Davis, N. (Ed.): Sea Grant College Pub. 88-04: Raleigh, USA: 143-158.

Tolstoguzov, V.B. **1986**. Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. En: *Functional properties of food macromolecules*; Mitchell, J.R. y Ledward, D.A. (Ed.); Elsevier Applied Science Publishers Ltd.: Londres, Inglaterra, 9:385-415.

Tolstoguzov, V.B. **1988**. Some physico-chemical aspects of protein processing into foodstuffs. *Food Hydrocolloids*2(5):339-370.

Tolstoguzov, V.B. **1991**. Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocolloids*4(6):429-468.

Tolstoguzov, V.B. y Braudo, E.E. **1983**. Fabricated foodstuffs as multicomponent gels. *J. Texture Studies*14:183-212.

TombsWatase (**1974**) citado en Doi (1993).

Towle, G. **1995**. 8th Gums and Stabilisers for the food industry conference. *Trends Food Sci. Technol* 6:375-378.

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.

Trius *et al.* (**1994a**) citados en DeFreitaset *al.* (1997c).

Trius, A.; Sebranek, J.G.; Rust, R.E. y Carr, J.M. **1994b**. Carrageenans in a beaker sausage as affected by pH and sodium tripolyphosphate. *J. Food Sci.*59(5):946-951.

Trius, A.; Sebranek, J.G.; Rust, R.E. y Carr, J.M. **1995**. Ionic strength and chloride salt effects on the performance of carrageenans in a model system sausage. *J. Muscle Food* 6:227-242.

Trius, A. y Sebranek, J.G. **1996**. Carrageenans and their use in meat products. *Critical Rev. Food Sci. Nutritior*36(1-2):69-85.

Trout, G.R. **1988**. Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods- A review of methodology. *Meat Sci.* 23:235-252.

Truong, V.D.; Walter, W.M. y Giesbrecht, F.G. **1995**. Texturization of sweetpotato puree with alginate: effects of tetrasodium pyrophosphate and calcium sulfate. *J.*

Food Sci. 60(5):1054-1074.

Tsen, J.H. y King, V.A.E. **1994**. Studies on high-pressure-induced gelation of carrageenan using response surface methodology. *J. Chinese Agri. Chem. Soc.* 32(5):543-552.

Ustunol, Z.; Xiong, Y.L.; Means, W.J. y Decker, E.A. **1992**. Forces involved in mixed pork myofibrillar protein and calcium alginate gels. *J. Agric. Food Chem.* 40:577-580.

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

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 University: Uji Kyoto, Japón, 293-298.

Wan, J.; Miura, J. y Seki, N. **1992**. Effects of monovalent cations cross-linking of myosin in *suwari* gels from walleye pollack. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(3):583-590.

Watase y Nishinari (1982) citados en Arnaut *et al.*, 1989.

Whittle, K.J. y Hardy, R.. **1990**. Underused resources- recent process innovations. Proceedings of Seafood 2000. Canadian Institute of Fish. Technology, Technical University of Nova Scotia. Fishing News Books Ltd.

Whittle, K.J. y McDonald, I. **1982**. Blue whiting processing trials. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food; Waverley Press: Aberdeen, Escocia, 1-40.

Williams, P.A.; Day, D.H.; Langdon, M.J.; Phillips, G.O. y Nishinari, K. **1991**. Synergistic interactions of xanthan gum with glucomannans and galactomannans. *Food Hydrocolloids* 6:489-493.

Wu, M.C.; Lanier, T.C. y Hamann, D.D. **1985a**. Rigidity and viscosity changes of croaker actomyosin during thermal gelation. *J. Food Sci.* 50:14-19,25.

Wu, M.C.; Hamann, D.D. y Lanier, T.C. **1985b**. Rheological and calorimetric investigations of starch-fish protein systems during thermal processing. *J. Texture Studies* 16:53-74.

- Wu, Y.J.; Atallah, M.T.; Hultin, H.O. y Bakir, H. **1991**. 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.
- Xalabarder, R. **1992**. Funcionalidad de los aditivos. *Alimentación, equipos y tecnología* 4:149-157.
- Xiong, Y.L. y Blanchard, S.P. **1993**. Viscoelastic properties of myofibrillar protein-polysaccharide composite gels. *J. Food Sci* 58(1):164-167.
- Xuewu, Z.; Xin, L.; Dexiang, G.; Wei, Z.; Tong, X. y Yonghong, M. **1996**. Rheological models for xanthan gum. *J. Food Engineering* 27:203-209.
- Yamamoto, K.; Miura, T. y Yasui, T. **1990**. Gelation of myosin filament under hydrostatic pressure. *Food Structure* 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.
- Yoo, B. y Lee, C. **1993**. Rheological relationships between *surimi sol* and gel as affected by ingredients. *J. Food Sci* 58(4):880-883.
- Yoon, K.S.; Lee, C.M. y Hufnagel, L.A. **1991**. Textural and microstructural properties of frozen fish mince as affected by the addition of nonfish proteins and sorbitol. *Food Structure* 10:255-265.
- 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, K.; Heremans, K. y Masson, P. (Ed.); Inserm/John Libbey Eurotext: Montrouge, Francia, 325-327.
- Young, K.W. y Whittle, J. **1985**. Colour measurement of fish minces using Hunter L, a, b values. *J. Sci. Food Agric* 36:383-392.
- Zasytkin, D.V.; Dumay, E. y Cheftel, J.C. **1996**. Pressure and heat-induced gelation of mixed β -lactoglobulin/xanthan solutions. *Food Hydrocolloids* 10(2):203-211.
- Ziegler y Foegeding (**1991**) citados en Lee et al. (1992).

CONCLUSIONES DE APLICACIÓN o ? interes?¿? INDUSTRIAL

Primera.- El tratamiento térmico de gelificación más adecuado para el músculo de bacaladilla a presión atmosférica es el efectuado en dos etapas consecutivas, esto es con asentamiento previo a 37 °C previo a la etapa de calentamiento a 90 °C aplicados durante tiempos largos (30 min y 50 min, respectivamente). Sin embargo, por altas presiones el proceso óptimo consiste en una única etapa de presurización a 200 MPa sin calentamiento durante tiempos cortos (10 min).

Segunda.- Para obtener geles de músculo de bacaladilla muy deformables y cohesivos, se debe adicionar en la fórmula goma garrofín al 1 % y/o presurizar en frío.

Tercera.- Si se desea un gel de músculo de bacaladilla muy duro y adhesivo, se obtendrá con tratamiento térmico y adiciones crecientes de carragenato *kappa*, y combinado con goma garrofín o goma guar para favorecer la capacidad de retención de agua.

Cuarta.- Para lograr geles muy elásticos, se debe aplicar tratamiento térmico, tanto a presión atmosférica como por alta presión, y adición de carragenato *iota*, y combinado con goma garrofín para aumentar la firmeza del gel. Además, se favorece con adiciones de CaCl_2 , pero con detrimento de la dureza, fuerza, deformación, cohesividad y capacidad de retención de agua del gel.

Quinta.- La adición de alginato sódico favorece la obtención de geles luminosos por tratamiento térmico; además, el calcio también lo favorece, pero con detrimento de la dureza, fuerza, deformación, cohesividad y capacidad de retención de agua del gel.