

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Efecto de Pulsos Ultrasónicos de Alta Frecuencia Sobre las  
Propiedades Funcionales de un Concentrado Proteico de  
Manto de Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)**

**TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA**

Que para obtener el Título de:

**QUIMICO EN ALIMENTOS**

Presenta:

**Laura Stephany López Bermúdez**

Hermsillo, Sonora

Junio de 2016

# Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## **FORMA DE APROBACIÓN**

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Laura Stephany López Bermúdez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico en Alimentos.

### **Comité de Tesis**

---

Dr. Enrique Márquez Ríos  
Presidente

---

Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera  
Secretario

---

Dr. Alonso Alexis López Zavala  
Vocal

---

Dr. Aldo Arvizu Flores  
Suplente

## DEDICATORIA

*Dedico esta tesis principalmente a mi madre Sonia por su apoyo incondicional y por estar cuando más lo necesitaba. Gracias por darme una carrera para mi futuro, un hogar y todo lo indispensable para estar en este punto, este logro es tuyo también.*

*A mi abuela María de Jesús por ser mi segunda madre, darme un hogar, amor, experiencias inolvidables, consejos, por su preocupación por mí, por ser su nieta consentida y por haberse despedido de mi cuando sabía que ya no iba a estar conmigo, le agradezco de corazón por que personas como usted no hay dos, te extraño y te amo por siempre.*

*A Dios por darme salud, hogar, amor, una familia y demostrar estar conmigo cuando no encontraba salida y por darme una madre ejemplar y fuerte. Los amo con todo mi corazón.*

*A mi Tío Vicente por ser la mejor persona, esposo, padre y valiente que haya conocido, un tuve la dicha de despedirme de usted, pero sabe que lo amo.*

*A mi Tío Ernesto por ser otro ángel más en el cielo, lo quiero y lo extraño.*

*A mi hermano Gerardo porque gracias a su consejo no deje materias atrasadas y por soportarme siempre.*

*A mi mejor amiga de toda la vida por estar cuando más te necesito. Te quiero.*

*A mi mejor amiga Brenda por escucharme, convivir conmigo día a día y ser ese apoyo incondicional. Te quiero.*

*A mis amigas de la preparatoria Yesica, Zaila, Fernanda y Grecia por compartir su amistad y asistir a mi graduación.*

*A mi novio Guillermo por compartir su tiempo, amor y por ser la mejor persona que he conocido. Feliz aniversario.*

*A mis compañeros de universidad en especial a Fernanda Medina, Fernanda Escalante, Alma Salazar, Jesús Molina, Brisa Ibarra, Fernando Recéndiz, Gabriela Duarte ¡Gracias! amigos, porque cada uno de ustedes compartió experiencias en este camino universitario.*

*A todos aquellos que no creyeron en mí y esperaban mi fracaso en cada paso.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de Sonora, por aceptarme en su plan académico y por haberme brindado conocimientos que me ayudaron para el desarrollo de esta tesis.

Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) por permitirme realizar mis experimentales dentro de sus instalaciones.

A mi director de tesis: Permítame expresarle mi más sincero reconocimiento y admiración ¡Muchas gracias! Dr. Enrique Márquez por su orientación, apoyo, paciencia durante el tiempo que he trabajado en su proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por su apoyo económico para la realización de este trabajo.

A los integrantes de mi comité de tesis: Dr. Aldo Arvizu Flores, Dr. Alexis López Zavala, y Dr. Víctor Ocaño: ¡Muchas gracias! a cada uno de ustedes por su ayuda, consejos y comentarios para que esta tesis sea mejor; así también, les agradezco mucho el haber sido parte importante de mi formación profesional.

A mis compañeros de laboratorio de marinos del DIPA, por su apoyo a lo largo de mi tesis con su experiencia, sabiduría y amistad. En especial a Odilia Higuera y a Iván Tolano.

## CONTENIDO

FORMA DE APROBACIÓN.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	5
CONTENIDO.....	6
LISTA DE TABLAS.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
ANTECEDENTES.....	13
Aspectos Generales del Calamar Gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	13
Producción Pesquera del Calamar Gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	15
Composición Química y Estructural del Tejido Muscular.....	17
Manto.....	17
Proteínas del Tejido Muscular.....	19
Proteínas Miofibrilares.....	19
Proteínas Sarcoplásmicas.....	20
Proteínas Estromales.....	20
Propiedades Funcionales de las Proteínas.....	21
Propiedad Emulsificante.....	21
Propiedad Espumante.....	22
Propiedad Gelificante.....	22
Análisis de Perfil de Textura (APT).....	23
Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	25
Pulsos Ultrasónicos de Alta Frecuencia.....	26
HIPOTESIS.....	28
OBTETIVOS.....	29
Objetivo general.....	29
Objetivos específicos.....	29
JUSTIFICACIÓN.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
Materia Prima.....	31
Elaboración de Concentrado Proteico(CP).....	31

Determinación de Proteína.....	31
Aplicación de Pulsos Ultrasónicos de Alta Frecuencia.....	31
Evaluación de Propiedades Funcionales de las Proteínas.....	32
Propiedad Emulsionante.....	32
Propiedad Espumante.....	33
Propiedad de Gelificación.....	33
Elaboración de Soles y Geles.....	34
Análisis de Perfil de Textura (TPA).....	34
Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	34
Análisis Estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	35
Propiedad Emulsionante.....	35
Índice de Actividad Emulsificante (IAE).....	35
Índice de Estabilidad de Emulsiones (IEE).....	37
Propiedad Espumante.....	39
Capacidad Espumante (CE).....	39
Estabilidad Espumante (EE).....	41
Propiedad Gelificante.....	43
Capacidad de Retención de Agua (CRA).....	43
Análisis de Perfil de Textura (APT).....	44
CONCLUSIÓN.....	46
REFERENCIAS.....	47

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Propiedades funcionales del tejido muscular del manto del calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	26
Tabla 2.	Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia, sobre la CRA y APT de geles obtenidos de un concentrado proteico de manto de calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Anatomía externa e interna del calamar gigante.....	14
Figura 2.	Zonas de pesca del calamar gigante en el Golfo de California.....	16
Figura 3.	Representación de la composición del tejido en el manto de calamar...	18
Figura 4.	Representación gráfica de los parámetros registrados en el análisis de perfil de textura.....	24
Figura 5.	Efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en el índice de actividad emulsificante (IAE) de concentrado de manto de calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	36

Figura 6.	Efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en el índice de estabilidad emulsificante (IAE) de concentrado de manto de calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	38
Figura 7.	Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en la capacidad espumante (CE) del concentrado proteico de manto de calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	40
Figura 8.	Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en la estabilidad espumante (EE) del concentrado proteico de manto de calamar gigante ( <i>Dosidicus gigas</i> ).....	42

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido de alta frecuencia sobre la propiedad funcional emulsionante, espumante y gelificante de un concentrado proteico de manto de calamar gigante. Las soluciones proteicas del concentrado proteico de calamar gigante se ajustaron a 5 mg/mL para evaluar las propiedades de emulsión y espuma, las cuales se sometieron a pulsos ultrasónicos (20 kHz, 20 % de amplitud, 10s: encendido y 10s: apagado) a tiempos de 0 (control), 30, 60 y 90 segundos. En el caso de geles, se pulso el homogenizado de manto de calamar con una relación de 1:3 (manto: agua), por 0, 1 y 3 minutos, después se centrifugo obteniendo un concentrado proteico. En relación a la propiedad emulsionante, se obtuvieron los índices de actividad emulsificante (IAE) y de estabilidad emulsificante (IEE), siendo mayor a los 60 segundos de tratamiento, con valores de  $183.28 \pm 1.43$  m<sup>2</sup>/g de proteína y  $425.98 \pm 12.05$  minutos, respectivamente. Respecto a la propiedad espumante, la capacidad espumante (CE) fue significativamente mayor a los 60 y 90 segundos de tratamiento, con valores de 142.50 % y 147.50 %, respectivamente; mientras que la estabilidad espumante (EE) fue del 100 % para todos los tratamientos. Por otro lado, la capacidad de retención de agua (CRA), como una medida de la habilidad gelificante, mostró un aumento significativo después de la aplicación de 3 minutos de ultrasonido, mostrando  $10.73 \pm 0.42$  g y  $22.01 \pm 1.73$  g de agua retenida/ g de proteína, para los tratamientos de 0 y 3 minutos, respectivamente. Por último, en el análisis de perfil de textura (APT) de los geles, se observó una mejor propiedad gelificante mediante la aplicación de ultrasonido, incrementando significativamente los valores de dureza, fuerza de gel, elasticidad y cohesividad, dicho incremento fue más evidente con la aplicación de 3 minutos de ultrasonido. Estos resultados muestran que las propiedades funcionales de proteínas de un concentrado proteico de manto de calamar, pueden ser mejoradas mediante la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia.

## INTRODUCCIÓN

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco marino cefalópodo que pertenece a la familia *Ommastrephidae* (Okutani, 1980). Esta especie es la única pesquería de calamar con un desarrollo importante en el Pacífico Norte de México, particularmente en el Golfo de California, siendo Sonora y Baja California Sur los principales estados productores (Salinas y col., 2005; Luna y col., 2006). El impulso de la pesquería del calamar gigante está fuertemente asociado con la demanda externa, ya que el 89% de la producción pesquera se destina a la exportación, principalmente a mercados asiáticos, en tanto que sólo el 11% restante se comercializa en el mercado nacional (Luna y col., 2006). Sin embargo, se exporta como filete fresco congelado, precocido, precocido con azúcar, o precocido con sal, o con la adición de otros sazónadores; por lo cual su precio es bajo en el mercado (CONAPESCA, 2003), por la ausencia de aplicaciones tecnológicas. Aunque el atractivo comercial del calamar gigante radica en su gran abundancia, bajo costo, alto rendimiento, ya que puede aprovecharse hasta 75% de sus partes después del eviscerado, su bajo contenido de grasa, así como lo insípido y blanco de su carne (Luna y col., 2006; Cortes y col., 2008) y alto valor nutricional. Debido a sus características antes mencionadas lo hacen una especie atractiva para elaboración de concentrado proteico o surimi.

Por otra parte, debido a la creciente demanda de los consumidores de alimentos de alta calidad, se están desarrollando nuevos métodos seguros y efectivos de procesamiento y conservación de alimentos que opta por las ondas de sonido que se consideran en general seguro, no tóxico y amable con el ambiente, esto le da uso al ultrasonido una gran ventaja sobre otras técnicas (Kentish y Ashokkumar, 2011). Éste consiste en una onda de sonido de alta frecuencia que excede el límite de oído humano (~20 kHz). Su mecanismo funcional se basa en hacer pasar ondas que crean regiones de alta y baja presión, esta variación de presión acústica es directamente proporcional a la cantidad de energía aplica al sistema. Se puede clasificar en dos categorías: de baja frecuencia ( $1\text{W}/\text{cm}^2$ ), con frecuencia de 5-10 MHz y, alta frecuencia ( $10\text{-}1000\text{ W}/\text{cm}^2$ ), con frecuencias de 20-100 kHz (Gallego y col., 2010; Awad y col., 2012). El efecto del ultrasonido se relaciona con cavitación, calentamiento, agitación dinámica, esfuerzo de cizalla y turbulencia (Knorr y col., 2004; O`Donnell y col., 2010). Aunque en este caso, el ultrasonido pulsado se propone principalmente como un modo de funcionamiento de ahorro de energía, que puede ser igual o incluso menos efectivo que el ultrasonido continuo en algunos casos (Al-Juboori y col., 2015). Actualmente se ha mostrado interés en la aplicación de ultrasonido de alta frecuencia con el fin de mejorar las propiedades químicas, físicas y funcionales en diversos

alimentos. Sin embargo, es una tecnología que no ha sido aplicada para mejorar propiedades funcionales de extractos proteicos del calamar gigante.

Por lo tanto, en el presente estudio se obtuvieron concentrados proteicos del manto de calamar gigante para aplicar pulsos ultrasónicos de alta frecuencia a diferentes tiempos, ya que puede interactuar con las proteínas y alterar las estructuras primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias de las mismas, y así mejorar las propiedades funcionales de estas proteínas como espumantes, emulsionantes y gelificantes, con el fin de obtener productos de alta calidad funcional y tecnológica, favoreciendo el consumo y comercialización nacional e internacional.

## ANTECEDENTES

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

El calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es un molusco marino cefalópodo que pertenece a la familia *Ommastrephidae* (Okutani, 1980). Es uno de los cefalópodos de mayor talla y más abundantes en ambientes pelágicos, éste posee un manto (48%), vísceras (10%), cabeza (10%), tentáculos (16%) que poseen de 100 a 200 diminutas ventosas y una pluma quitinosa (Lluch y col., 2001). Las características anatómicas externas e internas del calamar gigante aparecen en la Figura 1.

El calamar gigante tiene un ciclo de vida corto de aproximadamente dos años y una elevada tasa de crecimiento (crece durante toda su vida), con una talla promedio de 87 cm y un peso de 13 kg. El manto puede alcanzar 1.5 m de longitud. Además, es un organismo monocíclico, es decir, sólo tiene un periodo reproductivo durante su vida (Nigmatullin y col., 2001). Posee tres corazones, un cerebro muy evolucionado y dos ojos bien desarrollados, su cuerpo tiene un esqueleto interno cartilaginoso llamado pluma, sus dos aletas laterales se utilizan de manera completaría con el sifón como un sistema de locomoción por propulsión a chorro, el cual le ayuda a desplazarse a grandes velocidades (Markaida, 2001; Cárdenas y Haard, 2005; IIM-CSIC, 2009).

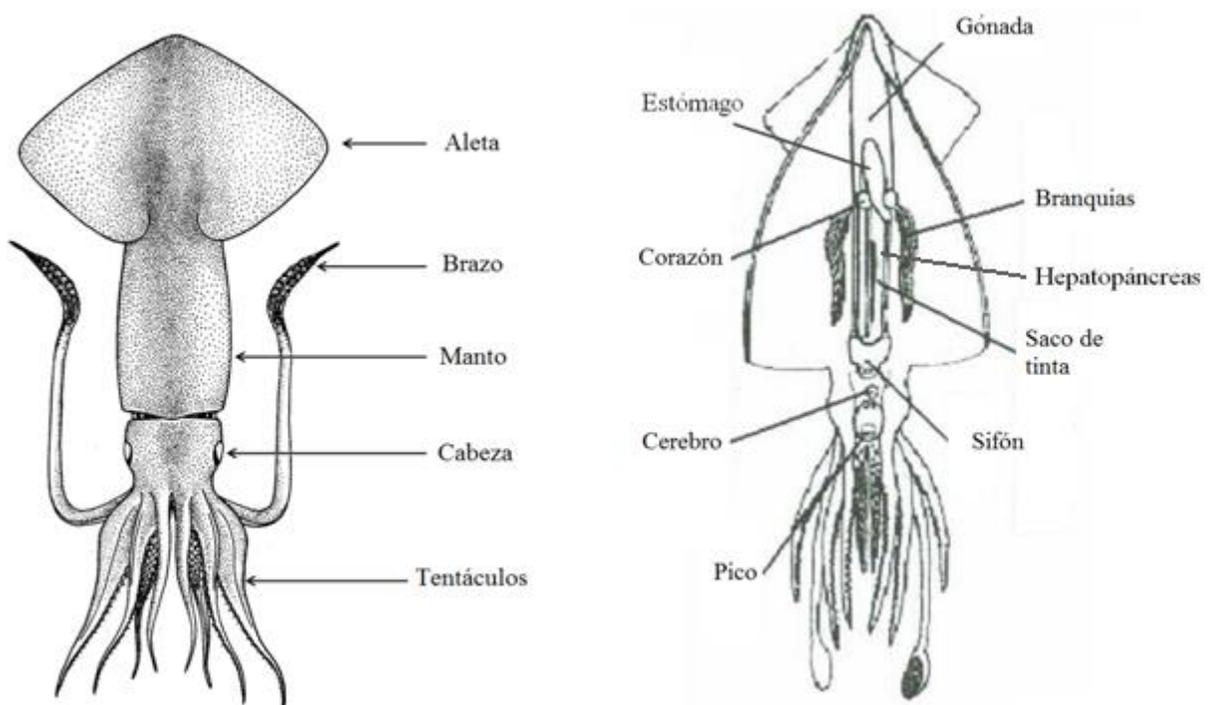


Figura 1. Anatomía externa e interna del calamar gigante (FAO, 1984; Brown y Kisiel, 2003).

## **Producción pesquera del Calamar Gigante (*Dosidicus gigas*)**

La captura de calamar gigante ha sido protagonizada por países como Perú, México y Chile, concentrando en estos casi la totalidad de la producción mundial de esta especie, donde la mayor parte de la pesca mexicana de calamar representa aproximadamente el 20% del total mundial. La mayor producción de calamar gigante en México se lleva a cabo en el Golfo de California, donde esta pesquería se extiende a todo el año, concentrándose frente a Baja California Sur, en Santa Rosalía, de primavera a verano, y frente a Sonora en Guaymas, de otoño a invierno (Salinas y Col., 2005; Markaida y Nishizaki, 2001; Salinas y Col., 2005). Los estados de Baja California Sur y Sonora, representan el 42.45% y el 46.53% respectivamente, de la captura total de calamar gigante en el país, pero también de manera frecuente se registran capturas en Baja California (6.61%) y Sinaloa (4.35%) (SAGARPA, 2009). La Figura 2 muestra las zonas de pesca del calamar gigante en el Golfo de California.

La producción pesquera de calamar gigante en el estado de Sonora se ha mantenido dentro de los primeros lugares a nivel nacional, en el 2003 tuvo su pico máximo, con un 54.3% de la producción nacional. Para el periodo del 2005 al 2007 tuvo un claro descenso en la producción, manteniéndose en segundo lugar a nivel nacional con un 24.3% de la producción. Sin embargo, la producción estatal en el 2008-2009 se recuperó obteniendo el 31% y el 47% de la producción respectivamente (Anuario estadístico de pesca, 2009).

En los años 2010 y 2011, el volumen de captura de calamar gigante a nivel nacional fue de 66,490 y 34,973 t, respectivamente (SAGARPA, 2010; SAGARPA, 2011). La variabilidad en cuanto al volumen de capturas en el Golfo de California se ha debido principalmente a aspectos como la disponibilidad de alimento, etapa de reproducción, presencia de depredadores y factores climatológicos de la zona (Markaida y Nishizaki, 2003). En la actualidad, el 89% de la producción pesquera de calamar es exportado principalmente a mercados asiáticos, mientras que el 11% restante se comercializa en el mercado nacional (Luna y col., 2006).



Figura 2. Zonas de pesca del calamar gigante en el Golfo de California (Bazzino y col., 2007).

## Composición Química y Estructural del Tejido Muscular

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

### Manto

En general, la composición química del manto de calamar, los tentáculos, aletas y cabeza es similar a la de los pescados magros, conteniendo 75 – 84% de humedad, 13 – 22 % de proteína cruda, 0.1 – 2.7% de lípidos y 0.9 – 1.9 % de minerales (Kijowski, 2001). Del total de proteína cruda, el 37% corresponde a compuestos nitrogenados no proteicos; esta fracción está compuesta principalmente de óxido de trimetilamina (300-1300mg/100g), cloruro de amonio, aminoácidos libres, octopina (450-1110 mg/100g), arginina, glicina, alanina, betaina y nucleótidos, todos estos compuestos considerados como precursores de sabor (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

El manto, la mayor parte del cuerpo del calamar, está compuesto de 5 diferentes capas de tejido (Figura 3) (Martínez y col., 2000). La capa dominante está formada por bandas ortogonales de fibras musculares, intercaladas entre dos túnicas de tejido conectivo (Lluch y col., 2001).

Cada fibra contiene una determinada cantidad de miofibrillas. El centro está representado por el sarcoplasma. La capa de fibra muscular está colocada entre las túnicas, exterior e interior de tejido conectivo, estando conectadas las fibras de las bandas radiales con las dos túnicas. La túnica exterior, que consiste de capas de fibras de colágeno, es adyacente a una capa externa, compuesta también de fibras de tejido conectivo, las cuales se ubican justo por debajo de la piel. La túnica interna, la cual tiene ligeramente ligados e interconectados agregados fibrosos está cubierta por una capa visceral no fibrosa (Otwell y Giddings, 1980).

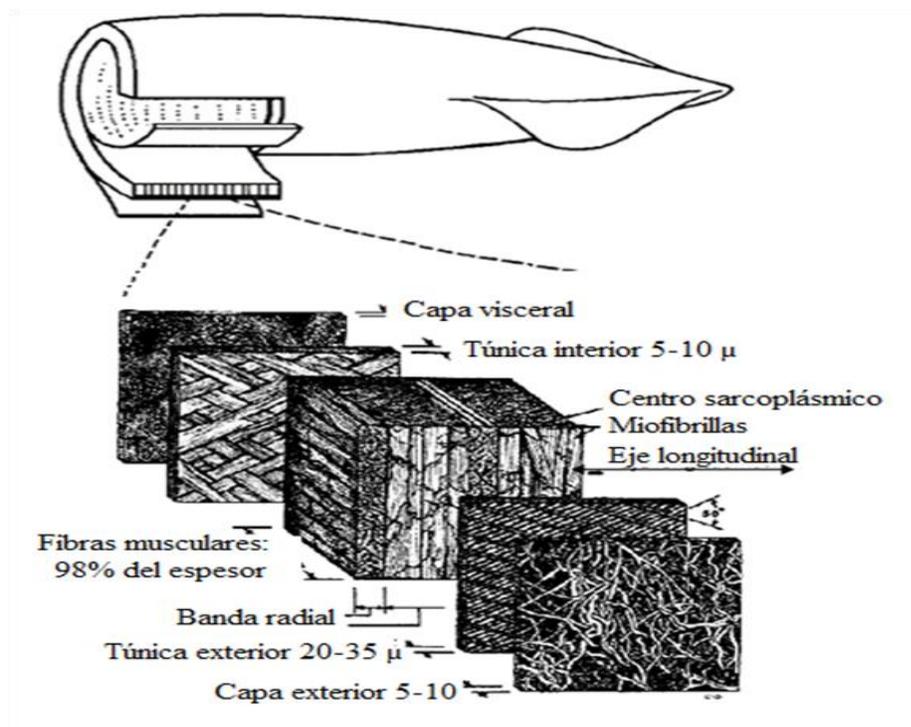


Figura 3. Representación de la composición del tejido en el manto de calamar (modificada) (Otwell y Giddings, 1980).

## **Proteínas del Tejido Muscular**

Las proteínas del músculo forman tres grandes grupos basados en sus características de solubilidad, siendo éstas: contráctiles o miofibrilares, del estroma o insolubles y las sarcoplásmicas o solubles. Sin embargo, la estructura del músculo del calamar es muy diferente en comparación con la del músculo de pescado.

### **Proteínas Miofibrilares**

Las proteínas miofibrilares son las que conforman estructuralmente el tejido muscular, y se encargan de transformar la energía química en mecánica durante la contracción y relajación muscular. Son la fracción más abundante, ya que generalmente representan el 50% del total de las proteínas, son también solubles en soluciones salinas concentradas y entre las principales se encuentran: miosina, actina, tropomiosina, troponina y actinina (Badui, 2006).

Basándose en su localización, se pueden dividir como: filamentos gruesos (miosina, proteína C, proteína M) y delgados (actina, tropomiosina, troponina, alfa actinina, beta actinina); y según su función como proteínas generadores de fuerza o reguladoras.

La miosina es la principal proteína de los filamentos gruesos, la cual representa alrededor de un 45% de las proteínas miofibrilares (Fennema, 2000). Ésta tiene una longitud 160 nm y masa molecular de aproximadamente 480 kDa (Sikorski, 2001). Contiene un total de seis cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas semejantes (220 kDa) enrolladas entre sí, que terminan en una doble cabeza constituida a su vez por cuatro cadenas ligeras de aproximadamente 14 y 20 kDa, dependiendo de la especie y tipo de músculo (Fennema, 2000). Ésta molécula exhibe tres propiedades funcionales importantes: es una enzima con actividad ATP-asa, forma complejos naturales con actina (actomiosina), así como forma filamentos (Badui, 1993; Fennema, 2000) y también se conoce como la principal responsable de las propiedades funcionales del tejido muscular, incluyendo la capacidad de retención de agua, emulsificación, capacidad de formación de espumas, así como de gelificación (Benjakul y col., 2001; Riemann y col., 2004).

En el caso del músculo del calamar, éste se caracteriza principalmente por ser blanco y magro, y en comparación con el músculo de los peces éste presenta diferencias marcadas con respecto al tipo y organización de las proteínas miofibrilares. Estas proteínas son más solubles en agua, menos susceptibles a la congelación y más propensas a la desnaturalización térmica (Ramírez y col., 2004), lo que puede deberse a su misma composición proteica y las

propiedades de cada proteína contenida en el músculo de calamar, como es el caso de la paramiosina (PM) y mionina (Mignino y Paredi, 2006). El contenido de paramiosina varía dependiendo de la especie, llegando a representar hasta el 50% del total de la proteína miofibrilar (Fennema, 2000). Estas proteínas presentes en invertebrados tienen características térmicas diferentes, debido a la presencia de paramiosina, proteína compuesta por dos cadenas helicoidales con un peso molecular aproximado de 95 kDa, ésta constituye el corazón de los filamentos gruesos en los músculos de estos organismos. Se ha reportado que la paramiosina altera considerablemente las características de textura de los productos gelificados. Se ha sugerido además, que tanto el contenido de paramiosina como las diferentes interacciones miosina-paramiosina podrían relacionarse, al menos parcialmente con el comportamiento térmico observado en las proteínas miofibrilares de invertebrados marinos, debido a los cambios en el ambiente químico (Paredi y col., 2002).

### **Proteínas Sarcoplásmicas**

Las proteínas sarcoplásmicas son fundamentalmente las albúminas y globulinas pertenecientes a los sistemas que intervienen en el metabolismo celular, como el de la glucólisis, al igual que enzimas como proteasas, metalo-proteasas catepsinas, creatina kinasa, entre otras (Badui, 2005). Estas proteínas se localizan dentro del sarcolema y son solubles en agua o en soluciones salinas de baja molaridad (< 50 mM). Comprenden cerca del 30 a 35% de las proteínas totales del músculo (Xiong, 1997). Se caracterizan por ser buenos agentes emulsificantes y por tener una gran capacidad de retención de agua, evitando las pérdidas de humedad por cocción u otros procesos; también tiene la capacidad de coagular y de formar geles, de distintas texturas (Badui, 2005).

### **Proteínas Estromales**

Las proteínas estromales son las más abundantes en el tejido muscular y conforman el tejido conectivo fuerte de los huesos, piel y las capas rígidas que soportan y envuelven los músculos. Sólo representan el 13 % del tejido muscular. Son insolubles en agua o en soluciones salinas y las principales son el colágeno, reticulina y elastina (Badui, 2006). Específicamente en el calamar gigante (*Dosidicus gigas*), el colágeno, participa en los mecanismos natatorios del organismo, asimismo, su contenido es diferente para cada región anatómica, es decir, manto, aletas y tentáculos (Torres y col., 2008).

## **Propiedades Funcionales de las Proteínas**

Las propiedades funcionales se definen como cualquier propiedad fisicoquímica de las proteínas que afectan y modifican algunas características de un alimento durante el procesado, el almacenamiento, la preparación y el consumo; y que además contribuyen a la calidad y atributos sensoriales del producto final (Badui, 1993; Fennema, 2000). Se dividen en propiedades de hidratación, propiedades de superficie y propiedades basadas en la interacción proteína-proteína y se ven afectadas por la solubilidad proteica, las más afectadas son las propiedades espumantes, espesantes, emulgentes y gelificantes (Fennema, 2000).

Las propiedades funcionales de las proteínas dependen fundamentalmente de factores intrínsecos propios de la molécula, como el tamaño, la forma, la composición y secuencia aminoacídica, la carga neta y distribución de las cargas, el cociente hidrofobia/hidrofilia y las estructuras (secundaria, terciaria y cuaternaria); así como también dependen de factores extrínsecos del medio que las rodea, como son el pH, fuerza iónica, temperatura, actividad acuosa, constante dieléctrica y la interacción con otros constituyentes del alimento (solvente, iones, gases u otras macromoléculas) (Badui, 1993; Fennema, 2000; Sikorski, 2001).

### **Propiedad Emulsificante**

Una emulsión es una mezcla de líquidos inmiscibles de manera más o menos homogénea, donde un líquido (la fase dispersa) es dispersado en otro (la fase continua o fase dispersante). Muchas de las emulsiones son de tipo aceite/agua o agua/aceite. El proceso en el que se preparan las emulsiones se llama emulsificación (Fennema, 2000) y se estabilizan por emulsificantes. Estos últimos son compuestos que forman películas de interfaz para evitar la dispersión de las fases que fluyen juntas. Debido a su naturaleza anfipática, las proteínas pueden estabilizar emulsiones. Esta propiedad se aprovecha a gran escala en la producción de preparaciones alimenticias (Belitz y col., 2009).

Para obtener una emulsión se necesita aceite, agua, emulgente y energía. La energía necesaria para formar y romper las gotículas (gotas de agua/aceite), se suministra generalmente mediante agitación intensa. Sin embargo, esto no es suficiente, por lo tanto entra en juego el emulgente, el cual, es transportado por convección a la interface agua-aceite (Fennema, 2000).

Existen diversos factores intrínsecos (pH, fuerza iónica, temperatura, volumen de la fase oleosa, tipo de proteína, etc.) y extrínsecos (homogeneizador, consumo de energía por unidad de tiempo y velocidad de deformación) que afectan las propiedades de las emulsiones, debido a

esto no se pueden comparar con precisión los resultados de distintos laboratorios, lo que dificulta la comprensión de los factores moleculares que afectan las propiedades emulgentes de las proteínas (Fennema, 2000; Badui, 2005).

### **Propiedad Espumante**

Las espumas son dispersiones de gases en líquidos. Las proteínas se estabilizan por la formación de películas flexibles y cohesivas en torno a las burbujas de gas. Durante el impacto, la proteína es adsorbida en la interfaz a través de zonas hidrofóbicas, lo que es seguido por un desdoblamiento parcial (desnaturalización de la superficie). La reducción de la tensión superficial es causada por la adsorción de proteínas que facilita la formación de nuevas interfaces y de burbujas de gas (Belitz y col., 2009).

Mientras que el proceso de desestabilización de una espuma consiste en la tendencia de la fase gaseosa discontinua a formar y una fase continúa por aproximación y fusión de las burbujas, a fin de alcanzar un área superficial mínima. A este proceso se opone la película proteica superficial que como barrera mecánica es más efectiva cuanto mayor son su viscoelasticidad y su rigidez. Los mecanismos de desestabilización son el drenado del líquido, flotación de burbujas, desproporción o maduración de Ostwald, colapso de la espuma por ruptura de lamelas (Pilosof y Barthdomai, 2000).

### **Propiedad Gelificante**

Los geles son sistemas dispersos de al menos dos componentes, en los que la fase dispersa en el dispersante forma una red cohesiva (Belitz y col., 2009). Esta red es capaz de atrapar agua, glóbulos de grasa, sales y otras sustancias de bajo peso molecular (Sikorski, 2001).

La gelificación proteica consiste en la transformación de una proteína del estado de “sol” al estado de “gel”. Esta transformación se ve facilitada por el calor, las enzimas o los cationes divalentes, en condiciones adecuadas. El proceso se inicia con un desdoblamiento o desnaturalización de las proteínas, para después favorecer la interacción proteína-proteína que da origen a la estructura tridimensional ordenada de proteína fibrosa (Hickson y col., 1982; Dublán, 2006). La formación de un gel resulta del equilibrio entre fuerzas atractivas (hidróbicas, electrostáticas, puentes de hidrógeno y/o disulfuro) y repulsivas (electrostáticas y las interacciones agua-proteína), entre cadenas polipeptídicas (Borderías y Montero, 1988). Estas últimas interacciones están en función del pH, de la concentración del polímero, de la

temperatura, de la fuerza iónica y del grado de desnaturalización, entre otros factores (Badui, 1993).

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

El análisis de perfil de textura (APT) es un método objetivo correlacionado con el análisis sensorial de la textura. El ensayo comprende la compresión de una muestra dos veces seguidas imitando el proceso de masticación. El equipo para ésta evaluación (texturómetro), registra la fuerza necesaria para comprimir la muestra (fuerza del gel); la fuerza necesaria para producir la primera liberación de energía durante el ciclo de compresión (fracturabilidad); la elasticidad, como la relación de la base del segundo ciclo de compresión sobre la del primero, la cual se define como la habilidad para recuperar la forma original, está relacionado con la altura que el material recupera entre el final de la primera compresión y el comienzo de la segunda y finalmente; la cohesividad, determinada por la relación del área del segundo ciclo de compresión sobre la del primero, la cual es función directa del trabajo necesario para vencer las uniones internas del material (Pilosof y Barthdomai, 2000; Guerrero y col., 2009; Encinas, 2011); esto se muestra en la Figura 4. Los geles se cortan en porciones (1 x 1 cm) y se someten a una doble compresión a un determinado porcentaje en relación con la altura inicial de la muestra. Es común que en las evaluaciones de los geles proteicos, se apliquen dobles compresiones a 75 y 90%.

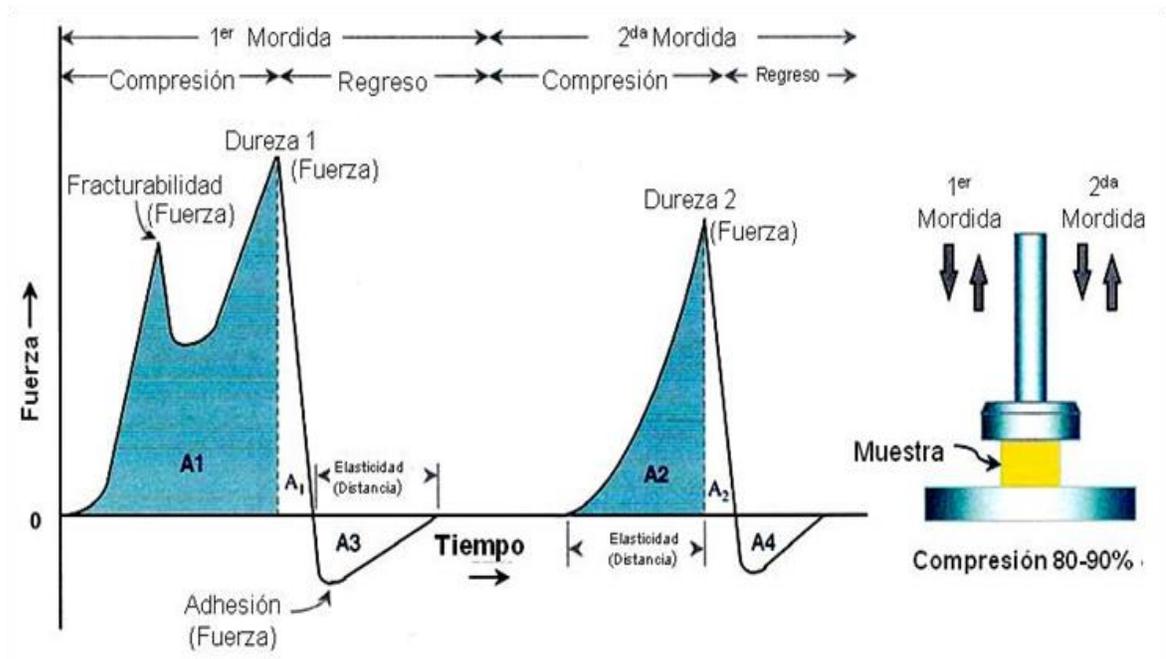


Figura 4. Representación gráfica de los parámetros registrados en el análisis de perfil de textura (Bourne, 1978).

## **Capacidad de Retención de Agua (CRA)**

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

La CRA de una proteína está en función de varios parámetros como el tamaño, la forma, las características conformacionales, factores estéricos, balance de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos, y de la solubilidad de la proteína; así también, de factores extrínsecos como pH, fuerza iónica, temperatura entre otros (Kinsella, 1981). La CRA está relacionada con la concentración de aminoácidos polares (ionizados o sin carga), pues ejercen una mayor influencia en las interacciones proteína-agua, por ser más solubles que los no polares. Los sitios más importantes de los aminoácidos son los  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$  y  $-\text{SH}$ , los cuales tienen una mayor capacidad para ligar agua cuando se encuentran en su forma ionizada (Kinsella, 1981; Xiong, 1997).

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

En los alimentos, la capacidad de retención de agua de los preparados proteicos es más importante que la fijación misma en el alimento (Fennema, 2000). Por lo tanto, ésta propiedad funcional tiene un gran impacto en la calidad de productos obtenidos a partir de tejidos musculares (sean éstos de origen marino o terrestre) ya que ésta determinará la vida de anaquel de un producto (Huff y Lonergan, 2005). Conforme a lo anterior, la tabla 1 muestra algunos valores de las principales características funcionales del manto de calamar gigante.

Tabla 1. Propiedades funcionales del tejido muscular del manto del calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

<b>pH</b>	6.2-6.5
<b>Proteína soluble en sales</b>	12.00 mg/g de proteína
<b>Capacidad emulsionante</b>	2.82 g aceite/ g de proteína
<b>Capacidad de retención de agua</b>	3.64 g de agua/ g de proteína
<b>Fuerza del gel</b>	1.60 N

(Abugoch y col., 2000; Dublán, 2006; citados por Guerrero y col., 2009).

Por otra parte, Olivas y col., (2004), en su estudio con calamar gigante (*Dosidicus gigas*), sugieren que el ablandamiento posmortem del manto se debe a cambios en su fracción proteica miofibrilar derivado de la actividad proteolítica endógena presente, y que esto podría ser el aspecto de mayor implicación tecnológica para su uso en la elaboración de concentrados proteicos funcionales.

### **Pulsos Ultrasonicos de Alta Frecuencia**

Actualmente se ha mostrado interés en la aplicación de ultrasonido de alta frecuencia con el fin de mejorar las propiedades químicas, físicas y funcionales en diversos alimentos. El ultrasonido consisten en una onda de sonido de alta frecuencia que excede el límite de oído humano (~20 kHz). Su mecanismo funcional se basa en hacer pasar ondas que crean regiones de alta y baja presión, esta variación de presión acústica es directamente proporcional a la cantidad de energía aplica al sistema. Se puede clasificar en dos categorías: de baja frecuencia (1W/cm<sup>2</sup>), con frecuencia de 5-10 MHz y, alta frecuencia (10-1000 W/cm<sup>2</sup>), con frecuencias de 20-100 kHz (Gallego y col., 2010; Awad y col., 2012).

Sin embargo, el ultrasonido tiene la desventaja de ser tecnología de alta demanda de energía. Por lo tanto, la investigación actual en el campo de ultrasonidos se centra en encontrar maneras de reducir el consumo energético de esta tecnología. Hay varias maneras sugeridas en la literatura para reducir la demanda de energía en ultrasonido. Una de estas formas está operando en modo pulsado de ultrasonido (ultrasonido pulsado), el cual se define como la operación del ultrasonido como una relación R encendido: apagado. El período durante el cual el ultrasonido se activa se conoce como longitud de pulso, mientras que el tiempo de apagado se conoce como la longitud del intervalo. Aunque el ultrasonido pulsado se propone

principalmente como un modo de funcionamiento de ahorro de energía, que puede ser igual o incluso menos efectivo que el ultrasonido continuo en algunos casos (Al-Juboori y col., 2015).

El ultrasonido puede interactuar con las proteínas y alterar las estructuras primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias de las proteínas, lo que podría aumentar o disminuir la solubilidad de la proteína. En bajas frecuencias de ultrasonido, puede ocurrir cambios en la estructura secundaria y terciaria, dejándola parcialmente desnaturalizada y en la formación de agregados. En altas frecuencias, los enlaces peptídicos se pueden romper y se puede liberar aminoácidos libres (Weiss y col., 2011).

Por lo tanto, su aplicación ha tenido la finalidad de mejorar las propiedades espumantes de las proteínas, dando buenos resultados, debido a una mayor estabilidad, mejor volumen, disminución del tamaño de partícula, etc. (Pilosof y Bartholomai, 2000; Jambrak y col., 2009; Jambrak y col., 2008; Lim y Barigou, 2005; Arzeni y col., 2012; Morales y col., 2015; Tan y col., 2015).

En el caso de sistemas emulsionantes estos son inestables, por lo que el ultrasonido de alta frecuencia representan una alternativa de interés para mejorar la capacidad emulsionante y se han reportado mejoras como el aumento de volumen de la fase dispersa, disminución del tamaño de gota, bajo grado de floculación y mayor estabilidad a la formación de cremado, e incluso, se ha reportado la formación de nanoemulsiones comestibles (Abbas y col., 2013; Jambrak y col., 2009; Pongsawatmanit y col., 2006; Yanjun y col., 2014; Zhang y col., 2014; Zhao y col., 2014).

También el ultrasonido de alta frecuencia se ha utilizado con la finalidad de mejorar la gelificación de las proteínas, ya que a través de su aplicación se han conseguido mejores resultados en cuanto a textura, propiedades mecánicas, geles más compactos con mejores características hidrodinámicas, entre otros (Gordon y Pilosof, 2010; Arzeni y col., 2012; Yanjun y col., 2014).

## HIPÓTESIS

La aplicación de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en concentrados proteicos de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) mejorará las propiedades funcionales (emulsionante, espumante y gelificante).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia sobre las propiedades funcionales en concentrados proteicos obtenidos del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

### **Objetivos Específicos**

- Obtener un concentrado proteico a partir del manto de calamar gigante.
- Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia sobre el Índice de Actividad Emulsificante (IAE) y el Índice de Estabilidad de Emulsiones (IEE) del concentrado proteico.
- Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia sobre la Capacidad Espumante (CE) y Estabilidad Espumante (EE) del concentrado proteico.
- Evaluar el efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia mediante el Análisis de Perfil de Textura (APT) y Capacidad de Retención de Agua (CRA) en geles.

## **JUSTIFICACIÓN**

El manto de calamar presenta deficientes propiedades tecnológicas, en este sentido, el ultrasonido es una alternativa que puede ser utilizada en el mejoramiento de las propiedades funcionales de proteínas del manto de calamar gigante, que al ser una especie de bajo valor comercial y de alto valor proteico, puede crear productos de mayor valor agregado.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materia Prima**

Para el presente estudio se utilizó manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), el cual fue obtenido de un mercado local de Hermosillo, Sonora. Inmediato a la compra el manto fue colocado dentro de una hielera hermética, en camas alternas de hielo-manto-hielo para su traslado al Laboratorio de Marinos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora. Una vez en el laboratorio, fueron inmediatamente congelados a -80°C hasta su utilización.

### **Elaboración de Concentrado Proteico (CP)**

Para la elaboración del concentrado proteico se utilizó una relación 1:3 de manto de calamar gigante y agua, a una temperatura de 5°C, empleando para ello, un homogeneizador de tejido (Biospec Products Inc., Bartlesville, OK), después se filtró dos veces con una gasa. Posteriormente, se centrifugó a 16000 x g durante 15 minutos a 4°C (Sorvallstratos, modelo Biofugue, Germany), y se obtuvieron dos fracciones: una líquida, la cual fue descartada y una sólida, que se consideró el concentrado proteico (CP). El concentrado proteico (CP) obtenido, fue almacenado en frasco y se mantuvo en refrigeración durante su periodo de evaluación (Tolano-Villaverde y col., 2013).

### **Determinación de Proteína**

Al concentrado proteico (CP) obtenido se les determinó el contenido de proteína por el método de Lowry. Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

### **Aplicación de Pulsos Ultrasónicos de Alta Frecuencia**

El equipo de ultrasonido (Branson, Digital Sonifier 250, México) fue programado a una frecuencia de 20 kHz con amplitud de 20%, se aplicó (10 s: encendido y 10 s: apagado) en cada tratamiento. Las muestras para emulsión y espuma se realizaron a una concentración de 5 mg mL<sup>-1</sup> pulsando 20 mL de la solución a con un tiempo total de exposición de 0, 30, 60 y 90 segundos. En el caso de geles, se pulso 80 mL del homogenizado con una relación de 1:3 manto: agua por un tiempo

total de 0, 1 y 3 minutos. En los dos casos después de la aplicación de ultrasonido, las muestras se mantuvieron a una temperatura de 4°C.

## Evaluación de Propiedades Funcionales de las Proteínas

### Propiedad Emulsionante

Se determinaron los índices de actividad emulsificante (IAE) y estabilidad emulsificante (IEE) descritos por Pearce y Kinsella (1978), con algunas modificaciones. Las soluciones proteicas se ajustaron a una concentración de 5 mg mL<sup>-1</sup>, para cada tratamiento. Las soluciones proteicas se mezclaron con aceite vegetal de canola en una relación 1:1, y se homogeneizaron a 12,000 rpm por 1 minuto utilizando un homogenizador WiseTis (Wisd; WiseTis HG-15D; Witeg, Germany). Para determinar IAE, después de 1 minuto de la preparación de la emulsión, se tomaron alícuotas de 100 µL de la capa inferior y se diluyeron con 40 partes de una solución de SDS al 0.1 %. Posteriormente, se midió la turbidez a 500 nm, utilizando un espectrofotómetro de UV-Visible (Cary 50; Varian; CA, USA). El IAE se calculó utilizando lo establecido en las ecuaciones 1 y 2 de Pearce y Kinsella (1978):

$$\tau = \frac{2.303 \times A_{500} \times F}{l} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$IAE (m^2 g^{-1}) = \frac{2\tau}{\phi C} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde  $\tau$  es la turbidez,  $A_{500}$  es la absorbancia a 500 nm,  $F$  es el factor de dilución (40),  $l$  es la longitud de la trayectoria de luz (1 cm). Las fracciones en volumen del aceite de las emulsiones ( $\phi$ ) fue 0.5;  $C$  es la concentración de proteína (5 mg mL<sup>-1</sup>).

Para determinar el IEE, se tomaron alícuotas de 10 mL de las emulsiones obtenidas y se almacenaron en recipientes. Después de 10 minutos, se tomaron alícuotas de 100 µL y se diluyeron con 40 partes de una solución de SDS 0.1%, antes de la medición de su turbidez a 500 nm. El IEE se determinó aplicando la ecuación 3 de Pearce y Kinsella (1978):

$$IEE (min) = \frac{\tau \times \Delta t}{\Delta \tau} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde  $\Delta\tau$  es el cambio de turbidez después del intervalo de tiempo  $\Delta t$  (10 minutos) independientemente del signo.

### Propiedad Espumante

Las propiedades espumantes se determinaron siguiendo la metodología descrita por Wild y Clark (1996), con modificaciones. Las soluciones proteicas se homogeneizaron a 10,000 rpm por 3 minutos a 4°C utilizando un homogeneizador (Wisd; WiseTis HG-15D; Witeg, Germany). Las soluciones fueron transferidas a probetas graduadas para medir el volumen de la espuma formada después de 30 s. El incremento de volumen fue expresado como porcentaje de capacidad espumante (CE) (Ecuación 4).

$$CE (\%) = \frac{\text{Volumen de la espuma (mL)}}{\text{Volumen del líquido inicial}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

La estabilidad de la espuma (EE) fue calculada como porcentaje de la espuma restante después de 30 minutos a 25 °C (Ecuación 5).

$$EE (\%) = \frac{\text{Volumen de la espuma (mL) restante después de 30 min}}{\text{Volumen de la espuma inmediato a la homogenización}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

### Propiedad de Gelificación

**Elaboración de los geles.** Se prepararon los soles utilizando 100 g de CP de cada tratamiento con la adición de NaCl al 2.0%. La mezcla elaborada se homogeneizó durante 1 minuto en un procesador de alimentos. El sol obtenido se colocó en placas petri de vidrio (con una altura de 1 cm), colocándolos en bolsas de plástico para posteriormente sellarlas herméticamente. Los soles empacados se sometieron a un proceso térmico para su gelificación a una temperatura de 90° C por 30 minutos. Inmediatamente después los geles se enfriaron a 0-2° C en un baño de hielo, finalmente se almacenaron en refrigeración por 24 horas antes de proceder a su evaluación funcional.

**Capacidad de retención de agua (CRA).** Esta propiedad fue evaluada empleando la técnica propuesta por Jiang y col. (1985), para lo cual se utilizó una muestra de 5 g de los geles de cada

sistema. Ésta fue sometida a una fuerza centrífuga de 3000 x g por 20 minutos a 4° C en una centrífuga refrigerada (Sorvallstratos, modelo Biofugue, Germany). La capacidad de retención de agua, fue expresada gramos de agua retenida por gramo de proteína.

**Análisis de perfil de textura (APT).** Para la realización de este análisis los geles fueron cortados en porciones cilíndricas (1 cm x 1 cm), sometiéndolos a una doble compresión del 75% con relación a la altura de la muestra. Para ello se utilizó un texturómetro TA-XT2 plus (Texture Technologies Corp., N.Y) utilizando una celda de compresión de 3.8 cm de diámetro a una velocidad de 1 mm/s. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

### **Análisis Estadístico**

Las herramientas estadísticas empleadas fueron promedio y desviación estándar. Asimismo, con el objetivo de determinar la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía comparando medias por el método de Tukey-Kramer con un nivel de significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Propiedad Emulsionante

El efecto de la alta frecuencia y tiempo de pulsado, sobre el Índice de Actividad Emulsificante (IAE) e Índice de Estabilidad Emulsificante (IEE) se muestran en la Figura 5 y 6, respectivamente.

#### Índice de Actividad Emulsificante (IAE)

Se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados con respecto a la IAE ( $p < 0.05$ ), siendo el tratamiento de 60 segundos el que presentó el valor mayor ( $188.14 \pm 2.88$ ), observándose en la Figura 5 un incremento de IAE cuando el tiempo del tratamiento de pulsado ultrasónico incrementa. Resultados similares han sido reportados por Yanjun y col. (2014), quienes evaluaron el efecto del ultrasonido como pre-tratamiento, sobre las propiedades funcionales de las proteínas de un concentrado de proteína de leche reconstituida (5%). Estos investigadores utilizaron pulsos de 20 KHz con 50% de amplitud a diferentes tiempos (0, 0.5, 1, 2 y 5 minutos), reportando que el IAE incrementó significativamente cuando el tiempo del tratamiento del ultrasonido fue prolongado. En otro estudio, Zhang y col. (2014) evaluaron el efecto del ultrasonido pulsado sobre las propiedades emulsificantes de un aislado de proteína de cacahuete (APC) a diferentes tiempos (0, 1, 3, 5, 10, 20 y 30 minutos), utilizando tiempos de pulsado de 9s y 1s de descanso, considerando una frecuencia de 20 KHz a diferentes niveles de potencia (0, 120, 300, 480, 660, 840, 1020 W). Estos investigadores evaluaron el efecto del tiempo de ultrasonido en el IAE y IEE a 600W a 20° C, obteniendo el valor más bajo de IAE en la proteína nativa de (APC), mientras que el IAE fue incrementando significativamente, justo después de 1 minuto de tratamiento de ultrasonido. No se observaron diferencias significativas con el aumento del tiempo de tratamiento. El aumento de IAE en el presente experimento podría ser atribuido a posibles cambios conformacionales en la estructura, debido a la desnaturalización de la proteína y polidispersidad, incrementando la hidrofobicidad de superficie y flexibilidad molecular, lo cual conlleva a una efectiva adsorción de las moléculas de la proteína en la interfase aceite-agua (Guilmineau y Kulozik, 2007).

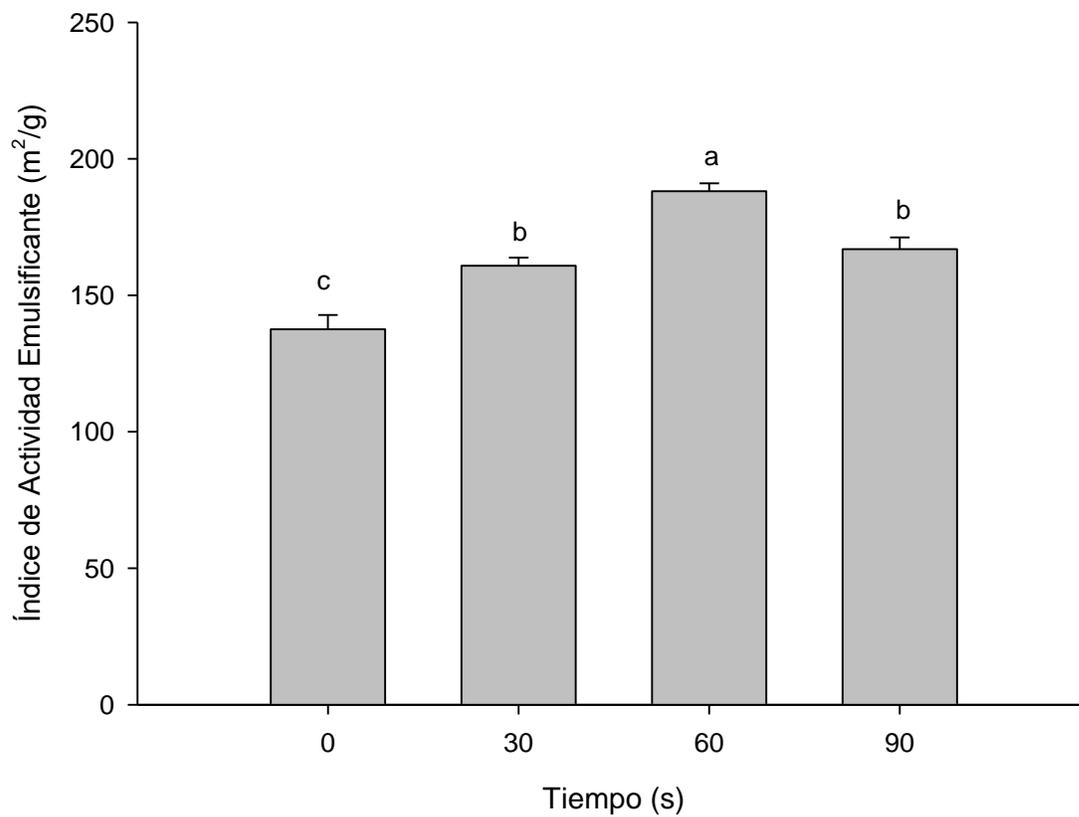


Figura 5. Efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en el índice de actividad emulsificante (IAE) de concentrado de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

## Índice de Estabilidad Emulsificante (IEE)

El índice de estabilidad emulsificante (IEE) provee una medida de la estabilidad de la emulsión dentro de cierto periodo de tiempo, es decir, la capacidad que tiene la proteína para estar en la interfase aceite-agua, después de que la emulsión es almacenada o calentada (Mohanty y col.,1988). Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y tienden a ser desestabilizadas por varios mecanismos, los cuales son el resultado de alteraciones en la distribución espacial de las moléculas, en lugar de alteraciones en su estructura química, por ejemplo, la formación de crema, floculación, coalescencia, maduración de Ostwald, y la inversión de fases, donde la distribución espacial de las moléculas se rige principalmente por sus interacciones no covalentes (o físicas) con sus vecinos, por ejemplo, electrostáticas, de van der Waals, y la superposición estérica. (Dickinson, 1997; McClements, 2005). Generalmente la inestabilidad de las emulsiones surge de la insuficiente presencia de surfactante para cubrir la totalidad de la interfase creada durante la homogenización (Dalglish, 1997).

En este estudio, el comportamiento de IEE por efecto de los tratamientos aplicados fue significativa diferente ( $p < 0.05$ ) a los 90 segundos, como se muestra en la Figura 6. El valor de IEE obtenido para el concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) sin tratamiento fue de  $145.31 \pm 28.23$  min. La gráfica de tiempo de pulsado ultrasónico de alta frecuencia vs IEE indica que a medida que aumenta el tiempo, hasta 90 segundos, se presenta un valor máximo de  $223.70 \pm 27.74$  min. Resultados similares han sido reportados por Yanjun y col., (2014), quienes evaluaron el efecto del ultrasonido como pre- tratamiento, sobre el IEE de las proteínas de un concentrado de proteína de leche reconstituida (5%), reportaron que el IEE aumenta hasta el minuto de pre-tratamiento de ultrasonido, pero subsecuentemente decrece cuando el tiempo del tratamiento es prolongado. Por otra parte, Zhang y col. (2014) evaluaron el efecto del ultrasonido pulsado sobre IEE de un aislado de proteína de cacahuate (APC) a diferentes tiempos a 600W a 20° C, el cual fue incrementando significativamente ( $p < 0.05$ ), justo después de 1 minuto de tratamiento de ultrasonido. Este incremento puede ser explicado por una orientación más favorable de las proteínas, resultado del turbulento efecto (cavitación) del ultrasonido, integrándose las proteínas en la interfase de las gotas de aceite. Sin embargo, después de la aplicación de 1 minuto existe una disminución de IEE, resultado a la agregación de las proteínas, promoviendo la separación de fases de la emulsión.

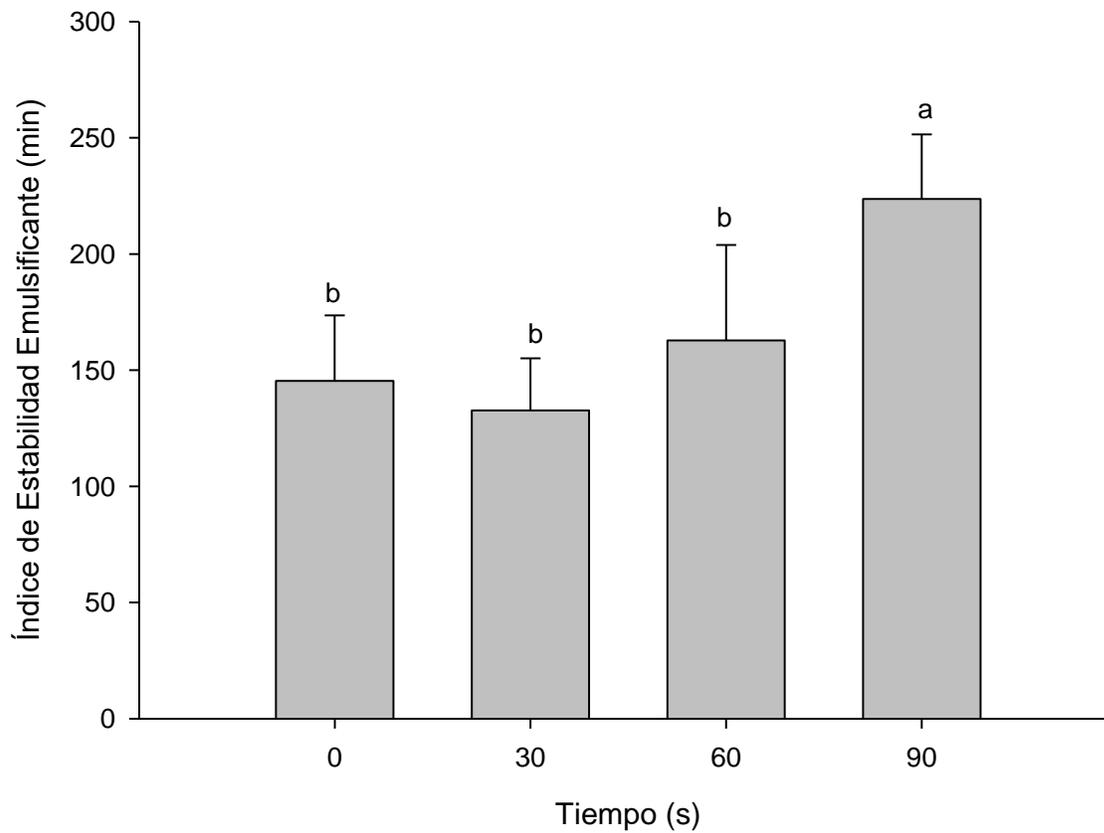


Figura 6. Efecto de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en el índice de estabilidad emulsificante (IEE) de concentrado de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

## Propiedad Espumante

Según la literatura, la aplicación de pulsos ultrasónicos mejora las propiedades espumantes de las proteínas debido a la mayor estabilidad, mejor volumen, disminución del tamaño de partícula, etc. (Arzeni y col., 2012a; Shanmugam y col., 2012; Arzeni y col., 2012b; Tan y col., 2015).

### Capacidad Espumante (CE)

La CE de una proteína es el área interfacial que puede ser creada por ella, la cual se ve afectada por la velocidad de adsorción, la flexibilidad y la hidrofobicidad (Fennema, 2000), dicha determinación se basa en la relación porcentual entre el volumen de espuma formada por la solución proteica, con el volumen de la solución total final.

La Capacidad Espumante (CE) y la Estabilidad Espumante (EE) en función del tiempo de aplicación de los pulsos ultrasónicos de alta frecuencia se muestran en la Figura 7 y 8, respectivamente.

En base a lo anterior, en el estudio se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados con respecto a la CE, siendo los tratamientos de 60 y 90 segundos significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) con valores de 142.50% y 147.50%, respectivamente. Como se muestra en la Figura 7, la CE se incrementa cuando el tiempo del tratamiento de pulsado ultrasónico incrementa, estos aumentos de la capacidad de formación de espuma podrían ser el resultado de la desnaturalización parcial de las proteínas del CP. Resultados similares han sido reportados por Jambrak y col. (2008), quienes evaluaron el efecto del ultrasonido en las propiedades espumantes de proteína de suero de leche, usando un concentrado de proteína (CPS), aislado de proteína (APS) y proteína hidrolizada (PHS), todas al 10% (p/v). Estos sistemas de proteína fueron sometidos a ultrasonido de alta frecuencia (20 KHz) por periodos de 15 y 30 minutos. Como resultado, se obtuvo una alta habilidad espumante en los tres sistemas de proteína. En otro estudio realizado por Jambrak y col. (2010) en  $\alpha$ -lactoalbúmina, se encontró que la CE mejoró después de la aplicación de ultrasonido para tratamientos de 20 y 40 minutos. En otro estudio, Morales y col. (2015), trabajando con proteína de soya, evaluaron el efecto de ultrasonido de alta frecuencia (20 KHz a 20% de amplitud) por diferentes tiempos (5, 10, 15 y 20 minutos) a temperatura controlada (0.5° C). Encontraron que la CE de la proteína de soya sin tratamiento fue de 153.3%, la cual incrementó significativamente al aumentar el tiempo del tratamiento. Durante los primeros 5 y 20 minutos de tratamiento la CE incrementó un 62% y 75%, respectivamente. Esto fue atribuido a una desnaturalización parcial

de la proteína, aumentando su flexibilidad e hidrofobicidad por efecto de la cavitación, responsable de las propiedades funcionales mejoradas de proteínas (Jambrak y col., 2008).

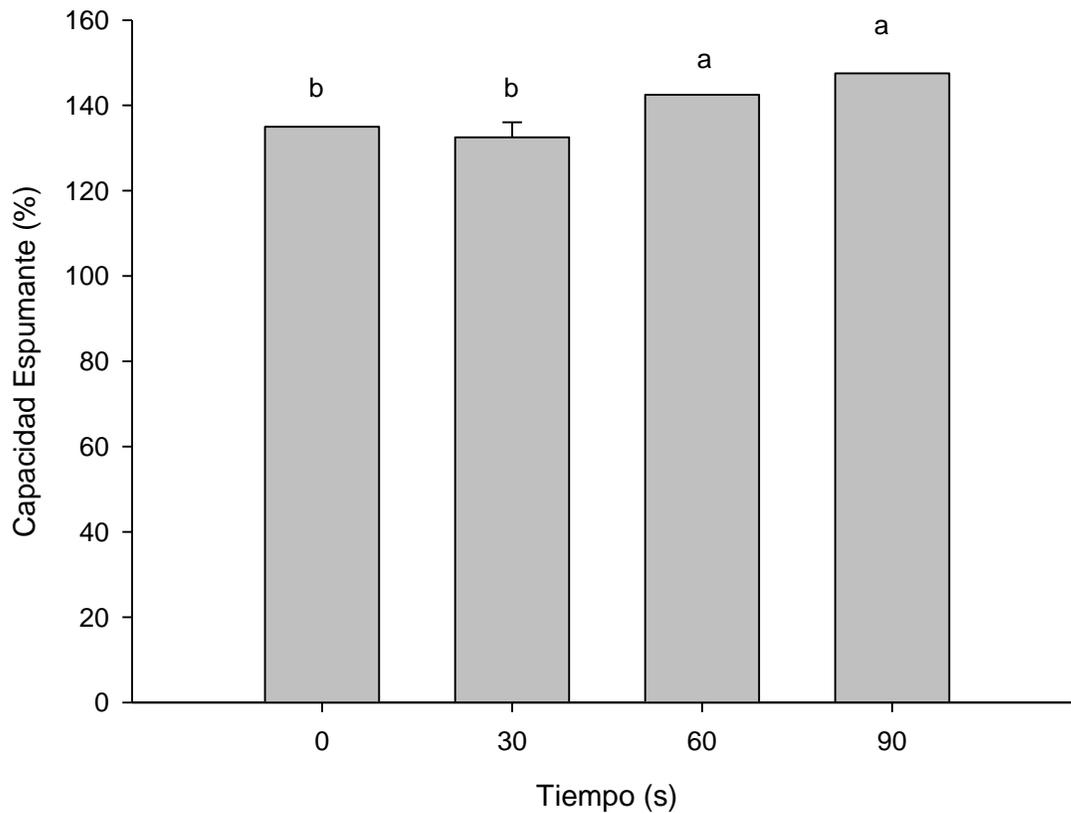


Figura 7. Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en la capacidad espumante (CE) del concentrado proteico de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

## **Estabilidad Espumante (EE)**

La estabilidad de la espuma hace referencia a la capacidad que tiene la proteína de estabilizarla frente a esfuerzos mecánicos o gravitatorios (Fennema, 2000), depende de la capacidad de la proteína para formar una película fuerte, flexible, cohesiva, a fin de reducir la permeabilidad al gas e inhibir la coalescencia de las burbujas (Dickenson, 1989).

En el presente estudio, la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia no mostró un efecto significativo ( $p > 0.05$ ), ya que se mantiene una EE de 100 % en todos los tratamientos de pulsado ultrasónico de alta frecuencia (Figura 8). Esto indica que las proteínas del manto del calamar, por sí solas, poseen una excelente estabilidad. Por otra parte, también indica que, el tratamiento de pulsos ultrasónicos no afecta la buena estabilidad que estas proteínas ya poseen. Resultados similares fue reportado por Morales y col. (2015), quienes evaluaron el efecto de ultrasonido de alta frecuencia (20KHz a 20% de amplitud) en proteína de soya por diferentes periodos de tiempos (5, 10, 15 y 20 minutos), encontrando que la estabilidad no fue afectada por los tratamientos aplicados ( $p > 0.05$ ). En otro estudio, Jambrak y col. (2008) evaluaron el efecto del ultrasonido en las propiedades espumantes de proteína de suero de leche, usando concentrado de proteína (CPS), aislado de proteína (APS) y proteína hidrolizada (PHS), todas al 10% (p/v). Estos sistemas de proteína fueron sometidos a ultrasonido de alta frecuencia (20 KHz) por periodos de 15 y 30 minutos. Como resultado, se obtuvo una alta estabilidad espumante en los tres sistemas de proteína. Esto se le puede atribuir al aumento de la flexibilidad y actividad de superficie en la interfase, lo cual puede producir proteínas más capaces de estabilizar espumas. Sin embargo, un grupo de investigación en el Reino Unido demostró que la estabilidad de la espuma y de la burbuja aumenta uniformemente y el diámetro de la burbuja disminuye en un concentrado de proteína de suero (WPC) por sonicación (Lim y Barigou, 2005).

En base a los resultados de CE y EE, la proteína demostró buena capacidad espumante y estabilización de la espuma, por lo tanto posee un equilibrio adecuado entre flexibilidad y rigidez, debido probablemente a una desnaturalización parcial de la proteína inducido por los pulsos ultrasónicos, permitiendo formar interacciones cohesivas en la interface (Fennema, 2000).

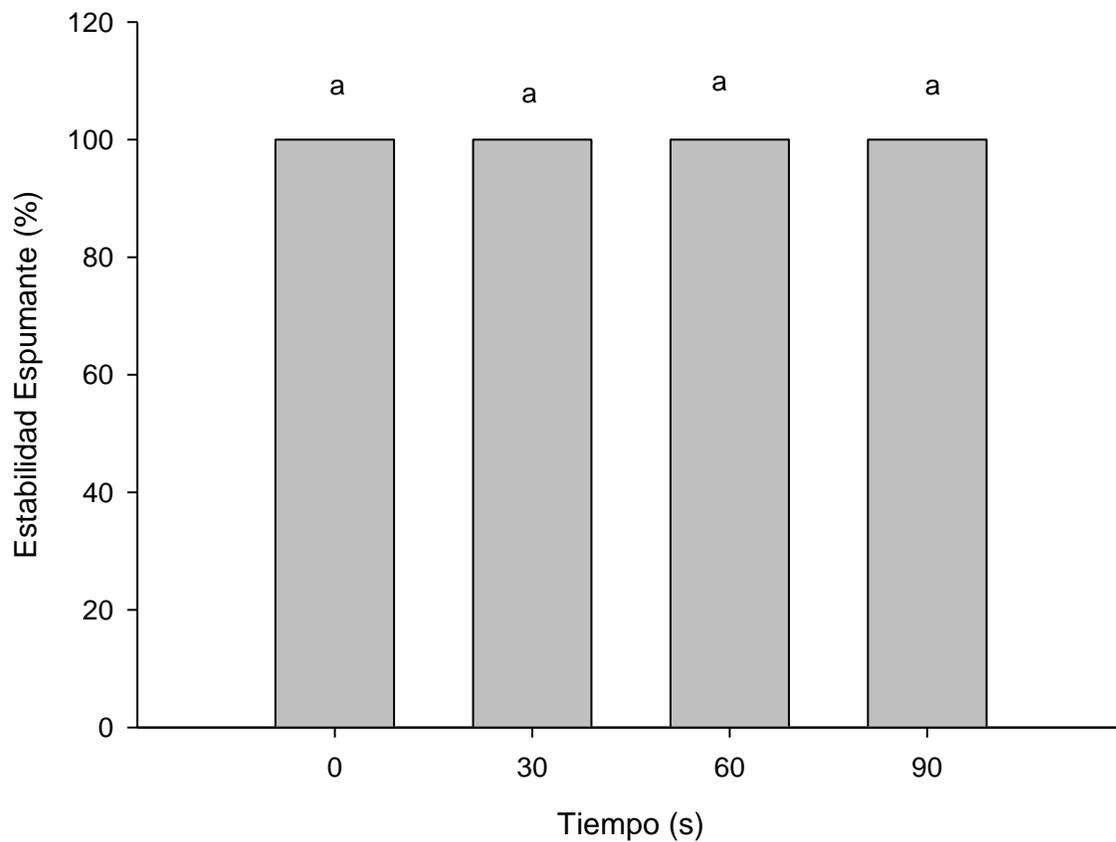


Figura 8. Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia en la estabilidad espumante (EE) del concentrado proteico de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar (n = 3).

## **Propiedad Gelificante**

La miosina es la proteína miofibrilar responsable de las propiedades funcionales, tales como gelificación, ya que contribuye a la capacidad de retención de agua, la dureza del gel, la cohesividad, elasticidad, entre otras propiedades (Kristinsson y Hultin, 2003). La gelificación es un proceso termodinámico de múltiples pasos que implica la desnaturalización, agregación y la formación de una red tridimensional que resulta en un gel elástico (Lesiów y Xiong, 2001). El proceso está gobernado por una combinación de fuerzas intermoleculares débiles, incluyendo enlaces de hidrógeno, fuerzas electrostáticas y las interacciones hidrofóbicas (Gordon y Barbut, 1992). En este sentido, los concentrados proteicos pueden tener infinidad de usos en la industria alimentaria, uno de sus usos potenciales es la elaboración de surimi. En la elaboración de este producto la propiedad gelificante es sin duda el parámetro más importante. Por lo tanto, los geles obtenidos en el presente estudio a partir del concentrado proteico fueron estudiados mediante el análisis de perfil de textura (APT) y capacidad de retención de agua (CRA) como se muestra en la Tabla 2.

### **Capacidad de Retención de Agua (CRA)**

En este estudio se obtuvo diferencias significativas en la CRA de los geles (Tabla 2), siendo G3 significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ), obteniendo una mayor CRA que G1. Esto pudiera ser atribuido al desdoblamiento parcial de la proteína, lo cual favorece la formación de una red mejor estructurada durante el proceso de gelificación y por ende a una mayor exposición de cadenas laterales aminoacídicas polares, las cuales pudieron interactuar más fácilmente con el agua. Normalmente, esta propiedad funcional se incrementa con la concentración de proteína y se relaciona con una mayor interacción proteína-agua que con interacción proteína-proteína (Graciano, 2000). Resultados similares fueron reportados por Li y col. (2014), quienes evaluaron el ultrasonido de alta frecuencia en suspensiones preparadas de pechuga de pollo (PSE), utilizando una concentración de proteína de 7.5 % (P/P) y 2 % de sal, aplicando 20 kHz a 60% de amplitud (modo pulsado 2 s encendido: 4 s apagado) durante 0, 3 y 6 minutos, siendo significativamente diferente los geles del tratamiento de 3 y 6 minutos, aumentando la CRA de ambos tratamientos.

## **Análisis de Perfil de Textura (APT)**

Este análisis se considera un excelente procedimiento instrumental para la evaluación de parámetros relacionados con la textura de geles alimentarios (Ibarra, 2006). La Tabla 2 muestra los parámetros del APT evaluados en ciclos de compresión al 75 %, mostrando un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) en todos los parámetros evaluados. Ninguno de los tres sistemas presentó fractura. Todos los parámetros evaluados mejoraron como consecuencia de la aplicación del ultrasonido. La fuerza y la dureza aumentaron un 32 y 10 %, respectivamente, los cuales son atributos importantes en productos gelificados. Asimismo, la elasticidad y cohesividad incrementaron como consecuencia de los tratamientos, aumentando un 26 y 108 %, respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por Li y col. (2014), reportando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) al aplicar el ultrasonido de alta frecuencia por 3 minutos, incrementando la fuerza de gel de suspensiones preparadas de pechuga de pollo (PSE). Los resultados obtenidos indican que el desplegamiento proteico causado por el ultrasonido mejora la propiedad gelificante de proteínas de calamar. Un incremento en la dureza y fuerza de gel, son indicativos de una mejor consistencia del producto gelificado; mientras que, el aumento en elasticidad y cohesividad, indican que el gel es más estable, tendiendo a conservar su estructura durante los procesos de compresión, los cuales tratan de simular la mordida o masticación. Esto puede deberse a un aumento de enlaces cruzados en la red proteica obteniendo geles más duros, elásticos y cohesivos.

Tabla 2. Efecto de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia, sobre la CRA y APT de geles obtenidos de un concentrado proteico de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Parámetro	GO	G1	G3
CRA (g de agua retenida/ g de proteína)	10.73±0.42 <sup>b</sup>	12.63±1.06 <sup>b</sup>	22.01±1.73 <sup>a</sup>
Fuerza del Gel (N*cm/g de proteína)	36.95±1.40 <sup>b</sup>	30.23±1.35 <sup>c</sup>	48.78±5.29 <sup>a</sup>
Dureza(N/g de proteína )	0.56±0.02 <sup>ab</sup>	0.50±0.02 <sup>b</sup>	0.62±0.05 <sup>a</sup>
Fractura(N/g de proteína )	-	-	-
Elasticidad	0.67±0.10 <sup>b</sup>	0.78±0.06 <sup>ab</sup>	0.85±0.01 <sup>a</sup>
Cohesividad	0.25±0.03 <sup>b</sup>	0.24±0.00 <sup>b</sup>	0.52±0.03 <sup>a</sup>

G0 gel sin tratamiento de ultrasonido

G1 gel de 1 minuto de tratamiento de ultrasonido

G3 gel de 3 minutos de tratamiento de ultrasonido

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

## CONCLUSIÓN

En el presente estudio se encontró que la aplicación de pulsos ultrasónicos de alta frecuencia (20 kHz) afectó las propiedades funcionales del concentrado proteico obtenido del manto de calamar. Sin embargo, en relación a la estabilidad espumante no existió diferencia significativa por efecto de los pulsos ultrasónicos, demostrando que las proteínas del calamar gigante por sí solas confieren una excelente estabilidad de las espumas formadas. Por otro lado, se observó que el tiempo de aplicación de ultrasonido es una variable importante, la cual debe ser establecida para la obtención de buenos resultados, según sea la propiedad funcional a estudiar. Este estudio demuestra la aplicación de pulsos ultrasónicos puede ser una buena alternativa para mejorar las propiedades funcionales de las proteínas del manto de calamar gigante, brindando así nuevas opciones para dar valor agregado a esta especie.

## REFERENCIAS

- Abbas S, Hayat K, Karangwa E, Bashari M, Zhang X. 2013. An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions. *Food Engineering Reviews* 5(3), 139-157.
- Al-Juboori RA, Yusaf T, Bowtell L. 2015. Energy conversion efficiency of pulsed ultrasound. *Energy Procedia*, 75, 1560-1568.
- Arreola WT, Aguilar RP, Mundo RS, Brauer JE. 2008. Caracterización parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 6(2): 101-108.
- Arzeni C, Martinez K, Zema P, Arias A, Perez OE, Pilosof AMR. 2012. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering* 108(3), 463-472.
- Arzeni C, Pérez OE, Pilosof AM. 2012. Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 308-316.
- Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2009. [www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2009](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2009).
- Awad TS, Moharram HA, Shaltout OE, Asker D, Youssef MM. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410-427.
- Badui DS. 1993. *Química de los Alimentos*. Alhambra Mexicana, Editorial, S.A. de C.V.
- Badui DS. 2005. *Química de los Alimentos*. 4<sup>ta</sup> ed. Ed. Pearson Addison Wesley. México. pp. 154-163.
- Badui DS. 2006. *Química de los Alimentos*. 4<sup>a</sup> ed. Ed. Pearson Educación, S.A. de C.V. México. pp. 213-220, 556-557 y 187-205.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food chemistry*, 4th revised and extended edn. Heidelberg, Germany, 62-63
- Benjakul S, Visessanguan W, Ishizaki S, Tanaka M. 2001. Differences in gelation characteristics of natural actomyosin from two species of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. *Journal of Food Science*, 66(9), 1311-1318.
- Bazzino G, Salinas-Zavala C, Markaida U. 2007. Variabilidad en la estructura poblacional del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en Santa Rosalía, región central del Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 33(2): 173–186.
- Borderías AJ, Montero P. 1988. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*.
- Bourne MC. 1978. Texture profile analysis [Food acceptability]. *Food technology*.
- Brown C, Kisiel J. 2003. Squid dissection: From pen to ink. *Science Activities* 40(1):16-22.

- Cárdenas JL, Haard NF. 2005. Cysteine proteinase activity in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) hepatopancreas extracts. *Journal of food biochemistry*, 29(2), 171-186.
- Choi YJ y Park JW. 2002. Acid-Aided Protein Recovery from Enzyme-rich Pacific Whiting. *Journal of Food Science*. 67: 2962-2967.
- CONAPESCA. 2003. Anuario Estadístico de Pesca 2003. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. México. 265.
- Cortés-Ruiz JA., Pacheco-Aguilar R, Lugo-Sánchez ME, Carvallo-Ruiz MG, García-Sánchez G. 2008. Production and functional evaluation of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) by acid dissolution and isoelectric precipitation. *Food Chemistry*, 110(2), 486-492.
- Dalgleish DG. 1997. Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 8(1), 1-6.
- Dickinson E. 1989. Protein adsorption at liquid interfaces and the relationship to foam stability. In *Foams: physics, chemistry and structure* (pp. 39-53). Springer London.
- Dickinson E. 1997. Properties of emulsion stabilized with milk proteins: overview of some recent developments. *Journal of Dairy Science* 80, 2607-2619.
- Dublán GO. 2006. Evaluación de los cambios estructurales y fisicoquímicos del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) durante el almacenamiento en refrigeración o congelación. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Biotecnología.
- Encinas AJ. 2011. Efecto de la fuerza iónica en la recuperación de proteínas del manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y evaluación de sus propiedades funcionales. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas.
- Fennema O. 2000. Química de los Alimentos. 2da. Edición Ed. Acribia Zaragoza, 1258.
- Gallego-Juárez JA, Rodríguez G, Acosta V, Riera E. 2010. Power ultrasonic transducers with extensive radiators for industrial processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(6), 953-964.
- Graciano VA. 2000. Efecto del pH y uso de crioprotectantes sobre la estabilidad química, física y funcional de un concentrado proteico producido a partir de sardina monterrey (*Sardina sagax carulea*). Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Gildberg A. 2002. Enhancing returns from greater utilization. *Safety and quality issues in fish processing*, 425-449.
- Guerrero LI, Rosmini M, Armenta R. 2009. Tecnología de productos de origen acuático. Ed. Limusa S.A de C.V. pp 75-85
- Guilmineau F, Kulozik U. 2007. Influence of thermal treatment on the functionality of hens egg yolk in mayonnaise. *Journal of Food Engineering* 78, 648-654.

- Gordon A, Barbut S, Schmidt G. 1992. Mechanisms of meat batter stabilization: a review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 32(4), 299-332.
- Gordon L, Pilosof AM. 2010. Application of high-intensity ultrasounds to control the size of whey proteins particles. *Food Biophysics*, 5(3), 203-210.
- Hickson DW, Dill CW, Morgan RG, Sweat V E, Suter DA, Carpenter ZL. 1982. Rheological properties of two heat-induced protein gels. *Journal of Food Science*, 47(3), 783-785.
- Huff-Lonergan E, Lonergan SM. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat science*, 71(1), 194-204.
- Hultin H, Feng Y, Stanley D. 1995. A reexamination of muscle protein solubility. *Journal of Muscle Foods*, 6(2):91-107.
- Ibarra LL. 2006. Efectos sobre la calidad y funcionalidad del músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) sometido al almacenamiento en hielo. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Tepic.
- IIM-CSIC, I. d. I. M. d. V.-C. S. d. I. C. 2009. Fisiología, Nutrición y Cultivo de Moluscos. España, <http://nautilus.iim.csic.es/FaroDeVigo/MaryPesca/>
- Jambrak AR, Lelas V, Mason TJ, Kresic G, Badanjak M. 2009. Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386-393.
- Jambrak AR, Mason TJ, Lelas V, Herceg Z, Herceg IL. 2008. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86(2), 281-287.
- Jambrak AR, Mason TJ, Lelas V, Krešić, G. 2010. Ultrasonic effect on physicochemical and functional properties of  $\alpha$ -lactalbumin. *LWT-Food science and Technology*, 43(2), 254-262.
- Jiang ST, Ho ML, Lee TC. 1985. Optimization of the freezing conditions on mackerel and amberfish for manufacturing minced fish. *Journal of Food Science*, 50(3), 727-732.
- Kentish S, Ashokkumar M. 2011. The physical and chemical effects of ultrasound. In *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 1-12). Springer New York.
- Kijowski J. 2001. Muscle proteins. In: Sikorski ZE, editor. *Chemical and functional properties of food proteins*. New York: CRC Press LLC. pp 233–64.
- Kim Y, Park J, Choi Y. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science* 69:1231-1239.
- Kinsella JE. 1981. Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. *Food Chemistry*, 7(4), 273-288.
- Knorr D, Zenker M, Heinz V, Lee D. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology* 15 (5), 261-266.

- Kristinsson H y Hultin HO. 2003. Changes in conformation and subunit assembly of cod myosin at low and high pH and after subsequent refolding. *Journal Agriculture. Food Chem.*, 51(24): 7187–7196.
- Lesiów T, Xiong YL. 2001. Mechanism of rheological changes in poultry myofibrillar proteins during gelation. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 12(4), 137-149.
- Li K, Kang ZL, Zhao YY, Xu XL, Zhou GH. 2014. Use of high-intensity ultrasound to improve functional properties of batter suspensions prepared from PSE-like chicken breast meat. *Food and Bioprocess Technology*, 7(12), 3466-3477.
- Lim KS, Barigou M. 2005. Ultrasound-assisted generation of foam. *Industrial & engineering chemistry research*, 44(9), 3312-3320.
- Lin T, Park J. 1998. Solubility of Salmon Myosin as Affected by Conformational changes at various ionic strengths and pH. *Journal of Food Science* 63(2): 215-218.
- Luna RM, Urciaga GJ, Salinas ZC, Cisneros MM, Beltrán ML. 2006. Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y en Sonora. *Economía, Sociedad y Territorio*. 6(22): 535-560.
- Lluch MA, Pérez MI, Hernando I. 2001. Proteins in Food Structures. In “Chemical and Functional Properties of Food Proteins”. Sikorski Z.E. Editor. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster - Basel. USA. pp. 13-33.
- Markaida-Aburto U. 2001. Biología del Calamar Gigante *Cephalopoda: ommastrephidae* en el Golfo de California., 385.
- Markaida U, Sosa-Nishizaki O. 2001. Reproductive Biology of Jumbo Squid *Dosidicus Gigas* in the Gulf of California, 1995–1997. *Fisheries Research*. 54(1): 63–82.
- Markaida U, Sosa-Nishizaki O. 2003. Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (*Cephalopoda: Ommastrephidae*) from the Gulf of California, Mexico. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 83(03), 507-522.
- Martínez VA, Cruz SLE, Ricque MD. 2000. Composición corporal y proceso de secado del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). *Ciencia y Mar*, 4(11): 35-38.
- McClements DJ. 2005. *Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mignino LA, Paredi ME. 2006. Physico-chemical and functional properties of myofibrillar proteins from different species of molluscs. *LWT-Food science and Technology*, 39(1), 35-42.
- Mohanty B, Mulvihill DM, Fox PF. 1998. Emulsifying and foaming properties of acidic caseins and sodium caseinate. *Food Chemistry* 28 (1), 17-30.
- Morales R, Martínez KD, Ruiz-Henestrosa VMP, Pilosof AM. 2015. Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: particle size effect. *Ultrasonics sonochemistry*, 26, 48-55.

- Nigmatullin CM, Nesis KN, Arkhipkin AI. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fisheries Research*, 54(1), 9-19.
- O'Donnelle CP, Tiwari BK, Bourke P, Cullen PJ. 2010. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science & Technology* 21(7), 358-367.
- Okutani T. 1980. Breve descripción de los calamares existentes en aguas mexicanas. *Translated by Valle, JA & MU de Valle from the original in Japanese Los Calamares Importantes del mundo by Okutani, T. Departamento de Pesca. Mexico.*
- Olivas RR, Sáñez OR, Haard NF, Aguilar RP, Brauer JME. 2004. Changes in firmness and thermal behavior of ice-stored muscle of jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *European Food Research and Technology*, 219(4), 312-315.
- Otwell WS, Giddings GG. 1980. Scanning Electron Microscopy of Squid, *Loligo pealei*: Raw, Cooked, and Frozen Mantle. *Marine Fisheries Review*, 42, 67-73.
- Paredi ME, Tomas MC, Crupkin M. 2002. Thermal denaturation of myofibrillar proteins of striated and smooth adductor muscles of scallop (*Zygochlamys patagonica*). A differential scanning calorimetric study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4): 830-834.
- Pearce KN, Kinsella JE. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3) 716–723.
- Pilosof AMR. 2000. Gelificación. En AMR Pilosof y GB Bartholomai (Eds). *Caracterización funcional y estructural de proteínas*. (pp. 75-77). Argentina: Ed.Universitaria de Buenos Aires.
- Pilosof AM, Bartholomai GB. 2000. Caracterización funcional y estructural de proteínas. *Cyted-Eudeba*.
- Pongsawatmanit R, Harnsilawat T, McClements DJ. 2006. Influence of alginate, pH and ultrasound treatment on palm oil-in-water emulsions stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 287(1), 59-67.
- Riemann AE, Lanier TC, Swartzel KR. 2004. Rapid heating effects on gelation of muscle proteins. *Journal of food science*, 69(7), 308-314.
- [SAGARPA] Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2009. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. [www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2009](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2009)
- SAGARPA. 2010. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2010](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2010).
- [SAGARPA] Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2011. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2011](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2011).

- Shanmugam A, Chandrapala J, Ashokkumar M. 2012. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 251-258.
- Sikorski ZE. 1990. Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation. CRC press
- Sikorski ZE. 2001. Functional properties of proteins in food systems. *Chemical and functional properties of food proteins*, 113-136.
- Sikorski ZE, Kołodziejska I. 1986. The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*, 20(3), 213-224.
- Tan MC, Chin NL, Yusof YA, Taip FS, Abdullah J. 2015. Characterisation of improved foam aeration and rheological properties of ultrasonically treated whey protein suspension. *International Dairy Journal* 43, 7-14.
- Tanikawa E, Motohiro T, Akiba M. 1985. Refrigeration and cold storage of marine products. *Marine Products in Japan. Koseicha Koseikaku Co., Ltd., Tokyo*, 25-66.
- Tolano-Villaverde, I.J., Ezquerro-Brauer, J.M., Ocano-Higuera, V.M., Ramirez-Wong, B., Armenta-Villegas, L., Herrera-Urbina, R. . . . Marquez-Rios, E. (2013). A jumbo squid (*Dosidicus gigas*) protein concentrate obtained by alkaline dissolution and its conformational changes evaluation. *Food Science and Technology Research*, 19, 601– 608
- Waniska RD, Kinsella JE. 1979. Foaming properties of proteins: evaluation of a column aeration apparatus using ovalbumin. *Journal of Food Science*, 44(5), 1398-1402.
- Weiss J, Kristbergsson K, Kjartansson GT. 2011. Engineering food ingredients with high-intensity ultrasound. In *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 239-285). Springer New York.
- Wild PJ, Clark DC. 1996. Foam formation and stability. In G.M. Hall (Ed.), *Methods for testing protein functionality* (pp.110-148). London, England: Blackie Academic and Professional
- Xiong YL. (1997). Structure-function relationships of muscle proteins. *Food science and technology-New York-Marcel Dekker-*, 341-392.
- Yanjun S, Jianhang C, Shuwen Z, Hongjuan L, Jing L, Lu L, Jiaping L. 2014. Effect of power ultrasound pre-treatment on the physical and functional properties of reconstituted milk protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 124, 11-18.
- Zhang L, Jin Y, Xie Y, Wu X, Wu T. 2014. Releasing polysaccharide and protein from yeast cells by ultrasound: Selectivity and effects of processing parameters. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 576-581.doi: 10.1016/j.ultsonch.2013.10.016

- Zhang QT, Tu ZC, Xiao H, Wang H, Huang XQ, Liu GX, Lin DR. 2014. Influence of ultrasonic treatment on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate. *Food and Bioprocess Processing*, 92(1), 30-37.
- Zhao YY, Wang P, Zou YF, Li K, Kang ZL, Xu XL, Zhou G H. 2014. Effect of pre-emulsification of plant lipid treated by pulsed ultrasound on the functional properties of chicken breast myofibrillar protein composite gel. *Food Research International*, 58, 98-104.