

**MODIFICACIONES QUÍMICAS Y
MICROESTRUCTURALES EN LA ELABORACIÓN DE
CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS**

TESIS DOCTORAL

Presentada por: Empar Llorca Martínez

Dirigida por: Dra Isabel Hernando Hernando
Dra M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Valencia, 2003

MODIFICACIONES QUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS

Memoria presentada por EMPAR LLORCA MARTÍNEZ, inscrita en el programa de doctorado de “Tecnología de Alimentos” del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia, para optar al grado de Doctor.

Trabajo realizado en el Departamento de Tecnología de Alimentos bajo la dirección de la Dra Isabel Hernando Hernando y la Dra M^a Ángeles Lluch Rodríguez.

Directores de Tesis

Dra Isabel Hernando Hernando

Dra M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Autor

Empar Llorca Martínez

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que me han ayudado de alguna manera a llevar a cabo esta tesis doctoral:

A la Dra. M^a Ángeles Lluch y Dra. Isabel Hernando, mis directoras de tesis, por su dedicación, apoyo y por haber aunado sus conocimientos científicos y sus grandes cualidades personales en la dirección de esta tesis.

A Amparo Quiles y Virginia Larrea que son mi mejor complemento. A Isabel Pérez y Ana Puig por haber compartido este tiempo conmigo y haberme aconsejado durante la realización de la tesis. En general, a todos los compañeros del laboratorio.

A Teresa González, Inma Mateu, Patricia Benique, Rosana Fernández e Inma Gómez por su trabajo de laboratorio y por haberme ayudado en esta tarea.

A la Dra. Susana Fiszman, Dra. Ana Salvador y Dra. Teresa Sanz por su contribución en el estudio de la textura y la reología.

A José Manuel García Verdugo por compartir sus conocimientos en el campo de la microestructura.

A Manuel Planes, Juan Andrés Fayos y José Luís Moya del Servicio de Microscopía de la Universidad Politécnica de Valencia por su ayuda.

A Luís González por su ayuda en el análisis digital de electroforegramas.

A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología por la financiación de los proyectos IFD97-0859-C02-02 y AGL2000-1553-C02-02 gracias a los

cuales se ha podido realizar esta tesis. A la empresa ADÍN S.A. por su participación activa en las investigaciones.

A mis padres que siempre me han apoyado en todo y ya que sin su ayuda no hubiera podido realizar esta tesis. A mis hermanos por sus consejos y por tener tanta paciencia al escucharme. A mis abuelas, en especial, a mi abuela Pilar que siempre será un ejemplo a seguir.

A Xavi por estar a mi lado y saber darme el cariño y la tranquilidad que necesito.

Tesis Doctoral

MODIFICACIONES QUÍMICAS Y MICROESTRUCTURALES EN LA ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS

Autor:
Empar Llorca Martínez

Director/es:
Dra. Isabel Hernando Hernando
Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Resumen:

Los productos rebozados y posteriormente fritos, que tradicionalmente eran productos de elaboración típicamente casera, han pasado a ser lo que se podrían denominar “productos estrella” dentro de la producción industrial agroalimentaria, ya que su demanda se ha visto incrementada notablemente, debido fundamentalmente a la facilidad para su almacenamiento doméstico en congelación y a la rapidez con que son cocinados para su consumo inmediato. Actualmente, todos estos productos rebozados se preparan a escala industrial y se comercializan en congelación, por lo que el consumidor solamente ha de someterlos a una fritura doméstica final. Esto supone una serie de operaciones en la industria, como son una prefitura industrial del producto recién rebozado, seguida de una congelación que se mantendrá durante el transporte, venta, etc. hasta su consumo. La fritura, o inmersión del alimento en aceite caliente durante distintos periodos de tiempo, es un proceso que ha de lograr que los alimentos queden con la textura y el color adecuados, que éstos absorban la cantidad adecuada de aceite y que dicho aceite se mantenga dentro de unos límites aceptables de calidad organoléptica y sanitaria. En este trabajo, como sustrato estándar, se toma anilla de calamar y se ensayan cinco formulaciones distintas para la capa de rebozado. Los objetivos son el estudio de los aspectos microestructurales que influyen en las características macroscópicas, el estudio de la textura de los productos obtenidos y reología de las pastas empleadas en el rebozado y el estudio de las modificaciones de los componentes químicos fundamentales: fracción proteica y fracción lipídica de los productos elaborados con distintas formulaciones.

Los resultados obtenidos a nivel microestructural muestran que la absorción de grasa se produce no sólo por parte de la capa de rebozado, sino que el aceite de fritura también penetra hasta el alimento sustrato. Además durante la penetración, el aceite arrastra con él otros componentes de la masa, como el almidón, sobre todo cuando se emplea la formulación que contiene impulsor y genera alvéolos por los que se produce el intercambio entre el alimento y el medio de fritura. Los productos elaborados con la formulación que presenta impulsor como ingrediente son los que muestran un deterioro menor de la fracción lipídica, lo que está en relación con el enorme intercambio alimento-medio de fritura que se produce; esto demuestra además la importancia que tiene el uso de aceite de buena calidad en la fritura. Además esta formulación con impulsor es la que mantiene mejores características texturales transcurrido determinado tiempo tras la fritura doméstica. Se obtiene un buen grado de adherencia entre el alimento sustrato y la capa de rebozado elaborada con las cinco formulaciones ensayadas, lo que facilita la manipulación y posterior comercialización del producto final. Por otro lado se observa que no sólo las proteínas de la capa de rebozado (que están en contacto directo con el aceite) se degradan durante el proceso de elaboración de calamares rebozados congelados sino que el alimento sustrato también presenta alteraciones en su fracción proteica.

Tesi Doctoral

MODIFICACIONS QUÍMIQUES I MICROESTRUCTURALS EN LA ELABORACIÓ DE CALAMARS ARREBOSSATS CONGELATS

Autor:

Empar Llorca Martínez

Director/es:

**Dra. Isabel Hernando Hernando
Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez**

Resum:

Els productes arrebossats i posteriorment fregits, que tradicionalment eren productes d'elaboració típicament casolana, han passat a ser el que es podrien denominar "productes estrella" dins de la producció industrial agroalimentària, ja que la seua demanda s'ha vist incrementada notablement, degut fonamentalment a la facilitat per al seu emmagatzemament domèstic en congelació i a la rapidesa amb què són cuinats per al seu consum immediat. Actualment, tots estos productes arrebossats es preparen a escala industrial i es comercialitzen en congelació, per el que el consumidor només ha de sotmetre'ls a un fregit domèstic final. Açò suposa una sèrie d'operacions en la indústria, com són un prefregit industrial del producte acabat d'arrebossar, seguida d'una congelació que es mantindrà durant el transport, venda, etc. fins al seu consum. El fregit, o immersió de l'aliment en oli calent durant distints períodes de temps, és un procés que ha d'aconseguir que els aliments queden amb la textura i el color adequats, que aquests absorbisquen la quantitat adequada d'oli i que aquest oli es mantinga dins d'uns límits acceptables de qualitat organolèptica i sanitària. En aquest treball, com a substrat estàndard, es pren anella de calamar i s'assagen cinc formulacions distintes per a la capa d'arrebossat. Els objectius són l'estudi dels aspectes microestructurals que influïxen en les característiques macroscòpiques, l'estudi de la textura dels productes obtinguts i la reologia de les pastes emprades en l'arrebossat i l'estudi de les modificacions dels components químics fonamentals: fracció proteica i fracció lipídica dels productes elaborats amb distintes formulacions.

Els resultats obtinguts a nivell microestructural mostren que l'absorció de greix es produïx no sols per part de la capa d'arrebossat, sinó que l'oli de fregir també penetra fins a l'aliment substrat. A més durant la penetració, l'oli arrossega amb ell altres components de la massa, com el midó, sobretot quan s'utilitza la formulació que conté impulsor i genera alvèols per què es produïx l'intercanvi entre l'aliment i l'oli. Els productes elaborats amb la formulació que presenta aquest ingredient són els que mostren un grau de deteriorament menor de la fracció lipídica, lo que està en relació amb l'enorme intercanvi aliment-mig de fregir que es produïx; açò demostra a més a més la importància que té l'ús d'oli de bona qualitat al fregir. A més aquesta formulació amb impulsor és la que manté millors característiques texturales transcorregut determinat temps després de fregir el producte. S'obté un bon grau d'adherència entre l'aliment substrat i la capa d'arrebossat elaborada amb les cinc formulacions assajades, lo que facilita la manipulació i posterior comercialització del producte final. D'altra banda s'observa que no sols les proteïnes de la capa d'arrebossat (que estan en contacte directe amb l'oli) es degraden durant el procés d'elaboració de calamars arrebossats congelats sinó que l'aliment substrat també presenta alteracions en la seua fracció proteica.

Doctoral thesis

CHEMICAL AND MICROSTRUCTURAL CHANGES DURING THE ELABORATION OF FROZEN BATTERED SQUIDS

Author:
Empar Llorca Martínez
Dra. M^a Ángeles Lluch Rodríguez

Director/s:
Dra. Isabel Hernando Hernando

Abstract:

Home-made fried battered products have traditionally been consumed. The situation has developed, and they have now become "star products" for specialised industrial food production. Demand for frozen battered foods has increased considerably, basically owing to the ease with which they can be stored domestically in the freezer and subsequently cooked rapidly for immediate consumption. At the moment, all these battered products are prepared in factories and commercialised under freezing conditions, so the consumer only has to fry them at home. For this reason, a number of operations must be done in the factories, like industrial prefrying of the battered product, followed by freezing which must be maintained during the transport, the sale, etc. until their consumption. Frying, or immersion of food in hot oil during different periods of time, is a process that must achieve that foods get an optimal texture and colour. Besides, fried foods must absorb the appropriate quantity of oil and frying oil maintain its quality among the organoleptic and sanitary limits. Squid rings are taken as the standard substrate for the development of the present work, and five different formulations are assayed to elaborate the batter. The objectives of this work are the study of the microstructural aspects that influence the macroscopic characteristics, the study of the texture of the products and the rheology of the batters, and the study of the modifications of the main chemical components: proteins and lipids of the products elaborated with different formulations.

The results obtained at a level microstructural show that the fat absorption during frying takes place not only in the layer of batter, but also penetrate into squid ring. Also during the penetration, the oil draws with it other components of the batter, such as the starch granules, mainly when the formulation with leavening agent is used. This ingredient generates gas cells through which frying oil and water are interchanged. The battered products with leavening agent in their formulation show a lesser oxidation, which might be connected with the high absorption of oil during deep fat frying. For this reason, the use of good quality oil during frying has a big importance. The formulation with leavening also maintains textural characteristics during more time after the domestic frying. A good level of adhesion is obtained between the squid and the layer of batter elaborated with the five formulations, what facilitates the manipulation and later commercialisation of the final product. On the other hand, it is observed that not only the proteins of the layer of batter (that are in direct contact with the frying oil) are degraded during the elaboration of frozen battered squids but rather the proteins of squid present alterations.

ÍNDICE

INDICE TEMÁTICO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. LOS CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	1
1.2. EL PAPEL DE LOS INGREDIENTES EN LA FORMULACIÓN DE REBOZADOS.....	4
1.3. LA FRITURA.....	8
<u>1.3.1. PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE FRITURA.....</u>	<u>9</u>
1.3.1.1. Parámetros que dependen del proceso.....	10
1.3.1.2. Parámetros que dependen del alimento.....	11
<u>1.3.2. ALTERACIÓN DEL ACEITE DE FRITURA.....</u>	<u>13</u>
1.3.2.1. Fundamentos químicos de la alteración del aceite de fritura.....	13
1.3.2.1.1. Hidrólisis.....	13
1.3.2.1.2. Autooxidación.....	14
1.3.2.1.3. Polimerización.....	18
1.3.2.1.4. Isomerización.....	21
1.3.2.2. Factores que influyen en el deterioro del aceite durante la fritura.....	21
<u>1.3.3. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA EN DISTINTOS PRODUCTOS FRITOS.....</u>	<u>23</u>
1.4. MICROESTRUCTURA DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS Y FRITOS.....	27
1.4.1 FUNDAMENTOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	27
1.4.1.1. Microscopía electrónica de transmisión.....	29

1.4.1.2. Microscopía electrónica de barrido.....	30
<u>1.4.2. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DEL CALAMAR.....</u>	31
<u>1.4.3. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DE DISTINTOS PRODUCTOS REBOZADOS.....</u>	33
<u>1.4.4. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DE DISTINTOS PRODUCTOS FRITOS.....</u>	35
1.5. MODIFICACIONES EN LAS PROTEÍNAS DEL CALAMAR SOMETIDO A DISTINTOS PROCESOS.....	36
1.6. TEXTURA DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS.....	37
1.7. REOLOGÍA DE LAS PASTAS EN LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS.....	38
2. OBJETIVOS.....	39
3. PLAN DE TRABAJO.....	40
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	42
4.1. MATERIA PRIMA.....	42
<u>4.1.1. CALAMAR.....</u>	42
<u>4.1.2. ACEITE.....</u>	42
<u>4.1.3. FORMULACIONES.....</u>	42
4.2. PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	43
4.3. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS.....	45

<u>4.3.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO A BAJAS TEMPERATURAS (CRYO-SEM)</u>	45
<u>4.3.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)</u>	48
<u>4.3.3. MICROSCOPIA ÓPTICA (LM)</u>	51
<u>4.3.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)</u>	51
<u>4.3.5. ANÁLISIS DE IMAGEN</u>	53
4.4. DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA. ENSAYOS DE PENETRACIÓN.....	53
4.5. ENSAYOS DE REOLOGÍA.....	54
4.6. ESTUDIO DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS.....	55
<u>4.6.1. FRACCIÓN PROTEICA</u>	55
4.6.1.1. Extracción y cuantificación de proteínas.....	55
4.6.1.2. Estudio de la evolución de la fracción proteica por electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE).....	57
4.6.1.2.1. Disoluciones empleadas.....	57
4.6.1.2.2. Preparación de la muestra.....	57
4.6.1.2.3. Preparación del patrón.....	58
4.6.1.2.4. Equipo y condiciones electroforéticas.....	58
4.6.1.2.5. Revelado y secado de geles.....	59
4.6.1.2.6. Análisis de los geles obtenidos por densitometría.....	59
<u>4.6.2. HUMEDAD</u>	59

<u>4.6.3. FRACCIÓN LIPÍDICA</u>	60
4.6.3.1. Extracción y cuantificación de la fracción lipídica.....	60
4.6.3.2. Índices de calidad de la fracción lipídica.....	61
4.6.3.2.1. Índice de acidez. Grado de acidez.....	61
4.6.3.2.2. Índice de iodo.....	62
4.6.3.2.3. Absorción específica en la zona del ultravioleta: índices K_{232} y K_{270}	63
4.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	63
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
5.1. ESTUDIO MICROESTRUCTURAL DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	64
<u>5.1.1. ESTUDIO DE LAS MATERIAS PRIMAS</u>	64
<u>5.1.2. INFLUENCIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN EN LA MICROESTRUCTURA</u>	72
5.1.2.1. Microestructura de las pastas crudas.....	72
5.1.2.2. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de prefritura.....	73
5.1.2.3. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de congelación.....	80
5.1.2.4. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de fritura final.....	84
5.1.2.5. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de fritura control.....	88

<u>5.1.3. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA MICROESTRUCTURA.....</u>	90
<u>5.1.4. EVOLUCIÓN DE LAS DIMENSIONES DE LOS GRÁNULOS DE ALMIDÓN. ANÁLISIS DE IMAGEN.....</u>	95
5.1.4.1. Estudio de las dimensiones de los gránulos de almidón en las materias primas de las distintas formulaciones.	95
5.1.4.2. Influencia del proceso en las dimensiones de los gránulos de almidón.....	98
5.1.4.3. Influencia de la formulación en las dimensiones de los gránulos de almidón.....	105
5.1.4.4. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre los gránulos de almidón.....	113
5.2. TEXTURA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	119
5.3. REOLOGÍA DE LAS PASTAS EMPLEADAS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	126
<u>5.3.1. COMPORTAMIENTO AL FLUJO.....</u>	127
<u>5.3.2. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO VISCOELÁSTICO LINEAL A 65°C.....</u>	129
<u>5.3.3. EFECTO DE LA TEMPERATURA MEDIANTE ENSAYOS DINÁMICOS.....</u>	132
5.4. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN PROTEICA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	134
<u>5.4.1. CUANTIFICACIÓN DE LA FRACCIÓN PROTEICA....</u>	135

<u>5.4.2. INFLUENCIA DEL PROCESO EN LA FRACCIÓN PROTEICA (SDS-PAGE)</u>	136
<u>5.4.3. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA FRACCIÓN PROTEICA (SDS-PAGE)</u>	150
5.5. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	152
<u>5.5.1. INFLUENCIA DEL PROCESO EN LA HUMEDAD</u>	152
<u>5.5.2. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA HUMEDAD</u>	156
<u>5.5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL FACTOR “FORMULACIÓN” Y EL FACTOR “ETAPA” SOBRE LA HUMEDAD</u>	160
5.6. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.....	162
<u>5.6.1. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN GRASA</u>	162
5.6.1.1. Influencia del proceso en el contenido en grasa.....	162
5.6.1.2. Influencia de la formulación en el contenido en grasa.	165
5.6.1.3. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre el contenido en grasa...	169
<u>5.6.2. EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA</u>	171
5.6.2.1. Influencia del proceso en la calidad de la fracción lipídica.....	171

5.6.2.1.1. Índice de acidez.....	171
5.6.2.1.2. Índice de iodo.....	174
5.6.2.1.3. Absorción específica en el ultravioleta: índices K_{232} y K_{270}	177
5.6.2.2. Influencia de las distintas formulaciones en la calidad de la fracción lipídica.....	183
5.6.2.2.1. Índice de acidez.....	183
5.6.2.2.2. Índice de iodo.....	185
5.6.2.2.3. Absorción específica en el ultravioleta: índices K_{232} y K_{270}	188
5.6.2.3. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre la calidad de la fracción lipídica.....	193
<u>5.6.3. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LOS ACEITES SOMETIDOS A ESTRÉS TÉRMICO DURANTE LA FRITURA DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.</u>	198
5.6.3.1. Integral térmica del proceso de fritura.....	198
5.6.3.2. Índice de acidez.....	201
5.6.3.3. Índice de iodo.....	203
5.6.3.4. Absorción específica en el ultravioleta: índices K_{232} y K_{270}	204
5.7. ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNAS MARCAS COMERCIALES.....	207
<u>5.7.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD</u>	207
<u>5.7.2. EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA</u>	208
5.7.2.1. Contenido en grasa.....	208
5.7.2.2. Evolución de la calidad de la fracción lipídica.....	209

5.7.2.2.1. Índice de acidez.....	209
5.7.2.2.2. Índice de iodo.....	210
5.7.2.3. Absorbancia en la zona del ultravioleta: índices K ₂₃₂ y K ₂₇₀	212
<u>5.7.3. MICROESTRUCTURA.....</u>	213
6. CONCLUSIONES.....	216
7. BIBLIOGRAFÍA.....	219
8. ABREVIATURAS.....	232

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LOS CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

Los productos rebozados y posteriormente fritos han sido tradicionalmente muy consumidos y constituyen un elemento importante dentro de la dieta de muchas familias españolas. Actualmente la situación ha evolucionado, y lo que antes eran productos típicamente de elaboración casera, han pasado a ser lo que se podrían denominar “productos estrella” dentro de la producción industrial agroalimentaria, ya que su demanda se ha visto incrementada considerablemente, debido fundamentalmente a la facilidad para su almacenamiento doméstico en congelación y a la rapidez con que son cocinados para su consumo inmediato. El consumidor espera un producto cada vez de mayor calidad y en el mercado se suceden una serie de nuevos lanzamientos, ya que las empresas intentan mejorar al máximo sus características.

En este mercado, el calamar rebozado congelado es uno de los productos de mayor demanda por parte del consumidor; la venta de estos productos se incrementó considerablemente en la década de los 90 desde 23000 Tm en el año 1993, hasta 39000 Tm en 1996, y la tendencia de consumo sigue en alza (I.N.E., 1998). Por este motivo, los calamares rebozados congelados pueden considerarse un producto de referencia en el estudio de alimentos rebozados congelados en general.

España es el segundo país consumidor del mundo y el mayor mercado de calamares después de Japón. El consumo anual medio de cefalópodos es de aproximadamente 200000 Tm. Los principales países que exportan calamar a España son Marruecos, Taiwán e India. En España, los datos de producción de calamar congelado en el 2001 se sitúan en 130985 miles de Tm (FAO, 2001), de

los cuales buena parte se destinan a la elaboración de calamares rebozados congelados.

El calamar congelado ha empezado a competir con el calamar fresco en estos últimos años. El desarrollo producido en el campo de la distribución y del marketing hace que se obtenga un producto con garantías para el consumidor.

Entre las variedades de calamar más consumidas destacan: *Loligo pealei*, *Illex illecebrosus* e *Illex Argentinus* aunque se conocen más de 270 especies. La variedad *Loligo* es la más valorada comercialmente (Sikorski y Kolodziejska, 1986). El consumidor compra grandes cantidades de calamar preparado, como anillas de calamar congeladas o como producto precocinado sin importarle la variedad de la que procede el alimento.

La composición química de la carne del manto del calamar y los tentáculos es similar a cualquier pescado magro (Sikorski y Kolodziejska, 1986). El contenido es: 75-84% agua, 13-22% proteínas, 0.1-2.7% lípidos y 0.9-1.9% minerales. Por tanto el calamar como substrato para la preparación de un alimento rebozado, es una fuente importante de proteínas, contiene poca cantidad de lípidos y alto contenido en minerales.

La capa de rebozado está compuesta mayoritariamente por harina de cereal, por lo que supone un aporte de gran cantidad de almidón y en menor proporción de proteínas. En el apartado 1.2, se explican más exhaustivamente los ingredientes habituales de un rebozado.

A estos ingredientes hay que añadirles el aceite que absorbe el producto durante el proceso de fritura al que se somete antes de ser finalmente consumido, por lo que la calidad de este aceite es fundamental desde el punto de vista nutricional. Es sabido que los polímeros lipídicos de alto peso molecular son indigeribles, por lo que tienen poca importancia respecto a la nutrición y salud;

pero los compuestos más cortos, monómeros y dímeros, sí que son absorbidos por la pared intestinal, y repercuten en la salud del consumidor. Algunas sustancias generadas por el tratamiento térmico de los lípidos están reconocidas como tóxicas o potencialmente cancerígenas, como es el caso del benzopireno producido por ciclación del colesterol (Monferrer y Villalta, 1993a).

La fabricación industrial de los alimentos rebozados congelados consta de las siguientes etapas:

1. Mezclado de los ingredientes de la formulación para rebozar y el agua. En esta etapa se obtiene una adecuada humectación de todas las partículas para optimizar la funcionalidad de los ingredientes (Suderman, 1990).
2. Enharinado. Se realiza para obtener una adhesión mayor entre el alimento substrato y la pasta de rebozado.
3. Rebozado. Se sumerge el alimento que se va a rebozar o substrato en un recipiente que contiene la pasta para rebozar. La cantidad de pasta que se adhiera debe ser la adecuada y su distribución homogénea por toda la superficie del alimento substrato, ya que este hecho influye en la apariencia del producto final y en la apreciación que tenga el consumidor de este producto.
4. Prefritura. En esta etapa se coagula la pasta de rebozado sobre el alimento substrato, con la cual adquiere la consistencia adecuada para una posterior manipulación industrial. Normalmente el alimento se sumerge en aceite a 180°C durante un período de tiempo corto, de unos 30 s; y se denomina prefritura, porque una vez comercializado el producto rebozado congelado, deberá someterse a una fritura final doméstica de entre 2 y 3 min antes de su consumo.

5. Congelación. Conviene someter al alimento a una corriente de aire frío para que disminuya la temperatura del producto recién terminada la etapa de prefritura. Luego se procede a la congelación, que puede ser durante más tiempo a temperatura baja (-46.5°C) o menos tiempo a temperatura mucho más baja (-73.3°C hasta -128.9°C). Normalmente se utiliza el primer método si el alimento ha sido previamente cocinado ya que su temperatura interna no suelen ser menor de 10°C. Es un proceso gradual en el que se produce migración de agua y grasa entre el rebozado y el substrato y también cambios estructurales en la matriz del rebozado (Loewe, 1990). En el segundo método, se emplean gases como N₂ y CO₂ para congelar el alimento. Sin embargo, la congelación no se completa, sobre todo si las porciones del alimento tiene gran tamaño. La capa de rebozado sufre fracturas y esto puede afectar a la calidad del producto final.

6. Envasado y almacenamiento. Un envasado defectuoso o fallos en el almacenamiento en congelación pueden ser cruciales en la calidad del producto final.

1.2. EL PAPEL DE LOS INGREDIENTES EN LA FORMULACIÓN DE REBOZADOS.

Se pueden establecer dos categorías para clasificar estos productos: rebozado de adhesión o interfacial y rebozado tipo tempura (Loewe, 1993).

En el rebozado de adhesión o interfacial, se añade pan rallado para aportar granulosidad, color, sabor y crujibilidad al producto final; además, sirve como capa adhesiva entre el rebozado y la superficie del alimento. La aceptación del producto final por parte del consumidor viene determinada por la uniformidad y

espesor del rebozado, que se relaciona con la viscosidad de la pasta. Lógicamente, a mayor viscosidad se obtendrá un rebozado más grueso, en cambio una pasta con mayor contenido en agua aportará un rebozado más fino. Este tipo de pastas contiene un alto porcentaje de trigo y/o almidón de maíz, que puede ser química o térmicamente modificado para mejorar sus propiedades adhesivas, y no lleva agente impulsor.

El rebozado tipo tempura, constituye por sí mismo la capa externa del producto, y en él las harinas de trigo y de maíz juegan un papel importante. Este tipo de pasta lleva impulsor, que es el responsable del desarrollo de la capa exterior esponjosa del alimento. El rebozado tipo tempura requiere una etapa de prefritura industrial con el fin de conseguir la consistencia necesaria para su manipulación posterior.

Algunas de las características más destacables de estos productos son: color, crujibilidad, adhesión y sabor. El color depende de la absorción de aceite, de la densidad de la pasta, y de las reacciones de pardeamiento no enzimático que se producen durante la fritura. Este atributo puede controlarse modificando la temperatura y el tiempo de calentamiento, las condiciones del aceite de fritura y la composición de los ingredientes que constituyen la capa de rebozado. El producto final debe presentar una crujibilidad ideal tal que resista el primer mordisco pero que luego desaparezca en la boca. La adhesión es una cualidad muy valorada sobre todo en la etapa de almacenamiento por congelación y de transporte, ya que es fundamental que permanezcan unidos el alimento substrato y la capa de rebozado. El sabor depende del método de cocinado, tiempo y temperatura de cocción, composición y características del aceite de fritura.

La funcionalidad de las **harinas de trigo** es imprescindible para entender la estructura del alimento rebozado. Los componentes más importantes de la harina son las **proteínas** y el **almidón**. En el mezclado, ya sea a temperatura ambiente o en refrigeración, la viscosidad aumenta debido al desarrollo del gluten

a costa de las proteínas fundamentalmente; dependiendo de la cantidad y de la calidad del gluten y del nivel de agua disponible, la estructura puede ser la de una masa para pan o una pasta para rebozar. En los rebozados tipo tempura, las proteínas del gluten ayudan a retener los gases generados por efecto del agente impulsor. Se obtiene una pasta para rebozar aireada y con poros, que posteriormente dará lugar a una textura y crujibilidad adecuadas.

En cuanto al almidón, este componente es el responsable de la capacidad de absorción de agua que tenga la pasta. El daño que puedan sufrir los gránulos de almidón durante el proceso de molienda afecta a las propiedades funcionales de la harina, ya que estos gránulos dañados tienen una mayor capacidad de absorción de agua que los gránulos intactos.

La **harina de maíz** se utiliza en la formulación de alimentos rebozados (Burge, 1990) ya que proporciona color amarillo por su contenido en caroteno; variando las proporciones de harina de trigo y de maíz en los sistemas de rebozados se pueden obtener una apariencia óptima. El sabor del maíz ayuda a minimizar el gusto a almidón que va asociado a algunos rebozados que contienen grandes cantidades de harina de trigo o almidón. Además, la adición de maíz incrementa la crujibilidad, lo que se atribuye al efecto de dilución del maíz sobre el gluten del trigo. Burge (1990) encontró que si se incrementa la harina de maíz en la formulación para pescados rebozados se obtiene un marcado aumento de carácter crujiente. Por otro lado, la harina de maíz mejora la adhesión del alimento substrato a la capa de rebozado. Este ingrediente es fundamental en el estudio de la viscosidad de la pasta del rebozado. La harina de maíz sirve de control para evaluar la cantidad de agua que puede absorber una formulación quedando con la consistencia adecuada. La viscosidad de la pasta es clave para controlar la cantidad de pasta que queda adherida al alimento (recubrimiento o pickup) y así la manera de obtener una pasta que fluya sobre el alimento substrato antes de ser sometido a fritura. Esto produce una apariencia deseada en la superficie del rebozado. Los gránulos de almidón gelatinizados proporcionan una estructura

mayor a la pasta. Desde que se produce la gelatinización de los gránulos de almidón vuelve a haber agua disponible en el sistema, produciéndose la gelatinización completa en pastas con elevada capacidad de retención de agua (Davis, 1983). Si se incrementa la harina de maíz en la formulación se obtiene un aumento en la humedad del producto prefrito y un decremento en la absorción de aceite (Burge, 1990). La harina de maíz mejora la adhesión del alimento substrato a la capa de rebozado debido al efecto de dilución del maíz sobre el gluten del trigo que puede reblandecer el rebozado cuando se utiliza altos niveles de dicho ingrediente.

El **impulsor** contribuye al desarrollo de la estructura aireada de la capa de rebozado al proporcionar CO₂. Está formado por un ácido y un dador de CO₂. Se puede elegir entre un gran número de ácidos según su valor de neutralización.

La **sal** se añade para realzar el sabor del producto al igual que los saborizantes, pero puede llegar a competir por el agua y ralentizar la hidratación de las proteínas en sistemas con limitación de agua. Esto no suele ser un problema en la elaboración de pastas para rebozar convencionales que normalmente incorporan una suficiente cantidad de agua. La concentración de sal y saborizantes viene marcada por el sabor y por la estabilidad del producto ante el posterior procesado y manipulación. En el estudio de otros productos como son crackers elaboradas con pescado, almidón, sal, y otros ingredientes, Cheow y Yu (1997) observaron que con una concentración de sal de 20 g/kg se incrementaba la temperatura de gelatinización de la mezcla pescado-almidón en 4-5°C. También el azúcar y el glutamato monosódico tenía un ligero efecto sobre la gelatinización del almidón en el sistema. Concretamente si se incrementaba el contenido en pescado en la mezcla pescado-almidón decrecía la temperatura de gelatinización.

1.3. LA FRITURA.

La fritura, o inmersión del alimento en aceite caliente en presencia de aire durante distintos períodos de tiempo, es un proceso que ha de lograr que los alimentos queden con la textura y color apropiados, que éstos absorban la cantidad adecuada de aceite, que dicho aceite se mantenga dentro de unos límites aceptables de calidad organoléptica y sanitaria y, que además, sea lo más rentable posible (Prats y Díaz, 1996).

Este proceso se extiende cada vez más para la preparación industrial de alimentos en todo el mundo debido fundamentalmente a que se trata de una forma de cocinar muy rápida y a que al sumergir el alimento en aceite caliente, éste comunica una característica de flavor que mejora su calidad gustativa, gracias al aceite que penetra en el alimento y a la potenciación de las características organolépticas del aceite calentado.

La fritura vive en la actualidad un desarrollo paralelo a las industrias dedicadas a la producción de productos fritos y prefritos, en respuesta a la demanda de la sociedad, y que emplea grandes cantidades de grasas y aceites.

La preparación de los alimentos por medio de este procedimiento ha influido en el desarrollo de una nueva tecnología, que lanza al mercado freidoras de tipo doméstico o industrial, en las cuales una gran cantidad de aceite es calentado repetidamente, a veces, durante largos períodos de tiempo de forma distinta al sistema clásico de la sartén.

Una de las ventajas de la fritura frente a los demás procedimientos culinarios reside sin duda en el calentamiento rápido y uniforme del producto, esta rapidez es fundamental en las sociedades industrializadas actuales. Por otra parte, el alimento preparado así resulta más atractivo, tiene mayor palatabilidad y óptimas condiciones organolépticas.

El aceite actúa como medio transmisor del calor. Las altas temperaturas empleadas “sellan” la superficie del producto y evitan, en cierta manera, que se desprenda el vapor rápidamente, facilitan así la cocción del interior del alimento y permiten que quede más jugoso. Al mismo tiempo, esta superficie sufre procesos de tostado, caramelización y pardeamiento no enzimático (reacciones de Maillard) y aparecen colores entre dorados y pardos que dan un aspecto agradable al producto. Estas mismas reacciones desarrollan los sabores deseados en los productos fritos.

Como ya se ha comentado anteriormente, al introducir un alimento en aceite caliente para freírlo, tienen lugar una serie de procesos y reacciones que producen cambios importantes en el producto. Los cambios que se producen en el alimento durante el proceso de fritura afectan a la textura (los productos se vuelven más crujientes y más agradables por su textura y sonido al ser mordidos), a la apariencia externa (los alimentos tienen un color dorado uniforme y brillante), potencia y matiza sabores y aromas (debido al desarrollo de nuevos compuestos después de someterse el alimento a las altas temperaturas), varía el contenido en grasa del producto (en general, los productos pierden humedad y ganan grasa; si bien algunos alimentos muy ricos en grasa pueden perder parte de ésta durante el proceso de fritura).

1.3.1. PARÁMETROS QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE FRITURA

Se pueden distinguir entre los parámetros que dependen del proceso y los que dependen del alimento.

1.3.1.1. Parámetros que dependen del proceso

a. Temperatura

La temperatura produce en las grasas diversas alteraciones que se acentúan a partir de los 200°C. Las altas temperaturas aceleran el proceso de fritura, pero también el de la descomposición del aceite empleado en el proceso. Las temperaturas bajas desarrollan colores más claros, pero producen una mayor absorción de aceite y ralentizan el proceso de producción. Por ello, es necesario encontrar una relación óptima entre la temperatura y el tiempo de fritura (Monferrer y Villalta, 1993b).

b. Tiempo y tipo de calentamiento

Un incremento en la duración de la fritura produce una mayor alteración del aceite y del alimento que se fríe. Además, el tiempo de calentamiento disminuye la estabilidad del aceite y produce la formación de diferentes compuestos de alteración.

El tipo de calentamiento también es decisivo, ya que si éste es discontinuo produce mayor degradación en la grasa que el continuo. Repetidos calentamientos y enfriamientos del aceite aceleran su deterioro en comparación con un calentamiento continuo, durante tiempo prolongado y a elevada temperatura (170-180°C) (Pokorny y Reblova, 1999). Esto es debido principalmente a que a una temperatura elevada las reacciones oxidativas se desarrollan en la superficie en contacto con el aire, mientras que durante el enfriamiento aunque disminuye la velocidad de las mismas, se favorece la entrada de aire, el cual provoca una mayor formación de hidroperóxidos y radicales libres al calentarse nuevamente el aceite (Cuesta y Sánchez-Muniz, 1991).

c. Grado de renovación

El grado de renovación es la proporción de aceite por hora que se debe reponer para compensar las pérdidas producidas por arrastre/absorción de aceite por parte del producto.

También se define el grado de renovación como el tiempo necesario para que el volumen de aceite añadido para compensar las pérdidas, sea igual al volumen total de aceite en la freidora. En este caso, el grado de renovación recomendado es de 10 horas (Monferrer y Villalta, 1993b).

d. Nivel de producción

El nivel de producción por hora debe ser lo más alto posible, con el fin de aumentar el grado de renovación de aceite y disminuir el tiempo en que éste se halla sometido a altas temperaturas. Por ello, es mejor realizar producciones máximas en períodos cortos, que mantener la freidora en funcionamiento durante periodos largos a temperaturas bajas (Monferrer y Villalta, 1993b).

1.3.1.2. Parámetros que dependen del alimento

a. Estado en que se encuentra el alimento

El proceso de fritura depende del estado en que se encuentre el alimento, bien sea congelado o fresco. La fritura de alimentos congelados debe ser más lenta, para dar tiempo a que se funda el hielo en el núcleo y alcance una temperatura de 70-80°C. Si es muy rápida se puede quemar la superficie y quedar el núcleo congelado (Aleixandre y García, 1999).

b. Preparación

La preparación del alimento es otro factor a considerar; éste puede ser rebozado en harina, adicionado de sal, etc; todo lo cual condiciona el tiempo útil de un aceite, y también la penetración del mismo dentro del alimento. Por otra parte, la penetración del aceite dentro del alimento, es diferente si el alimento se fríe directamente con una delgada cubierta de harina (enharinado) o rebozado. Cuesta y Sánchez-Muniz (1991) observan en tiras de pescado, que la penetración de grasa es menor cuando éstas están rebozadas que cuando están solamente enharinadas. El rebozado del alimento retarda el desplazamiento de la grasa hacia su interior al someterse al proceso de fritura (Makinson *et al.*, 1987) y proporciona un incremento considerable del contenido calórico del producto debido a los hidratos de carbono que constituyen el rebozado (Augustin *et al.*, 1989).

c. Tamaño de la pieza

Las piezas de mayor espesor requieren menor temperatura de fritura y mayor tiempo, para que el calor pueda alcanzar el centro de la pieza.

d. Intercambio de grasa entre el alimento y el aceite

El aceite de fritura interacciona, entre otros, con los componentes lipídicos de los alimentos que se someten al proceso de fritura, y con sus productos de reacción como los hidroperóxidos y otros compuestos polares. Es sabido además que durante la fritura se produce un intercambio entre el medio de fritura y el alimento. Pérez-Camino *et al.* (1991) indican que en patatas fritas hasta un 90% de su grasa procede del aceite de fritura.

e. Contenido en agua

La absorción de aceite por el alimento depende del contenido en agua de éste.

1.3.2. ALTERACIÓN DEL ACEITE DE FRITURA

1.3.2.1. Fundamentos químicos de la alteración del aceite de fritura

Los aceites y las grasas durante la fritura, sufren alteraciones que dan lugar a cambios de sabor, aromas extraños y a la formación de compuestos tóxicos.

Todos los procesos químicos se aceleran al aumentar la temperatura. Se sabe que la velocidad de las reacciones, dentro de unos límites, se duplica al aumentar 10°C la temperatura. Por este motivo es fácil comprender que una grasa calentada tiende a degradarse bastante rápidamente, en especial si en ella hay sustancias o residuos que actúan como catalizadores o potenciadores de la alteración.

En el proceso de fritura, el alimento está en contacto con el aire caliente en presencia de O₂ durante distintos periodos de tiempo. El producto acabado contiene en general de un 5 a un 30% de aceite absorbido (Prats y Díaz, 1996). Por eso la fritura tiene el mayor potencial para producir cambios químicos en la grasa, más que cualquier otro proceso habitual o manipulación a la que se someta a los alimentos que contienen lípidos.

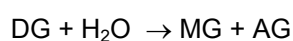
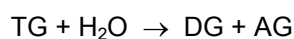
Las alteraciones que tienen lugar en la grasa durante la fritura son:

1.3.2.1.1. Hidrólisis

Los triglicéridos (TG) del aceite en contacto con humedad ambiental o con agua procedente del producto a freír, se descomponen en diglicéridos (DG) y monoglicéridos (MG), y liberan cadenas de ácidos grasos (AG). Los triglicéridos

esterificados con ácidos grasos de cadena corta son más sensibles a la hidrólisis que los que presentan cadenas más largas.

Durante el proceso de fritura, a temperaturas de 180-190°C, el proceso de hidrólisis tiene una gran importancia, dado que la humedad que se elimina en forma de vapor, es una cantidad que oscila entre 0.5-1.5%. Las mayores variaciones ocurren si existe humedad en el momento de calentar o enfriar el aceite (menor 100°C) y durante el almacenamiento del mismo, puesto que el agua no se evapora.



El resultado de la hidrólisis es la aparición de ácidos grasos libres, que aumentan la acidez del aceite.

1.3.2.1.2. Autooxidación

La autooxidación o enranciamiento químico es una alteración de gran importancia comercial por las pérdidas que produce en grasas, aceites y componentes grasos de los alimentos. La acción del O₂ atmosférico sobre las cadenas alifáticas poliinsaturadas de ácidos grasos y acilglicéridos, da lugar a sabores y olores típicos, fuertes y desagradables, así como a la formación de compuestos nocivos.

La autooxidación es un proceso oxidativo no enzimático, el más frecuente en los procesos de fritura, caracterizado por la oxidación de los ácidos grasos en presencia del oxígeno del aire, para dar compuestos intermedios inestables de tipo hidroperóxidos o peróxidos que producirán la formación de radicales libres. Este proceso se ve favorecido y potenciado por la incidencia de la luz, que actúa como

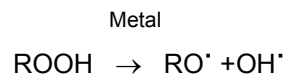
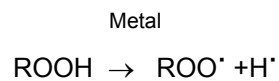
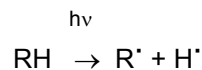
catalizador, y por la presencia de sustancias fotosensibles en el medio, como la riboflavina y la eritrosina. Los ácidos grasos insaturados son más sensibles a la oxidación que los saturados.

Las grasas que han sufrido un proceso de oxidación tienden a oscurecerse, aumentar la viscosidad, incrementar la formación de espuma y desarrollar gustos y olores anómalos.

En este proceso se distinguen tres fases:

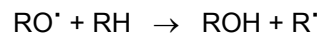
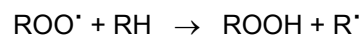
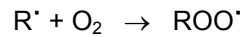
1. Fase de iniciación o inducción :

En ella se forman fundamentalmente los radicales libres $ROO\cdot$ y $R\cdot$, a partir de un hidroperóxido $ROOH$ o de un ácido graso RH . Este proceso está favorecido por las altas temperaturas, la luz o la presencia de metales con facilidad para variar de valencia. Por ejemplo:



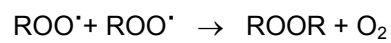
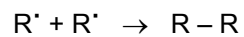
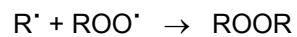
2. Fase de propagación o continuación:

Los radicales libres formados en la fase anterior, dada su gran reactividad, reaccionan con el oxígeno (O_2) o con otros ácidos grasos, provocando de esta forma una reacción en cadena.



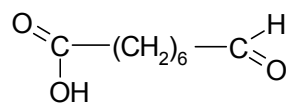
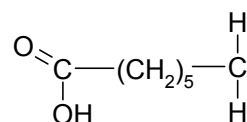
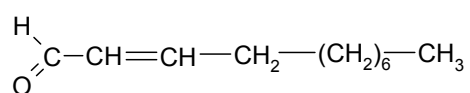
3. Fase de terminación o finalización :

Cuando los radicales libres se encuentran pueden reaccionar entre sí, con lo que la reacción en cadena se cierra.

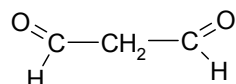


Todos estos productos primarios procedentes de la autooxidación son inodoros e insípidos (hidroperóxidos del ácido linoleico). La calidad de un alimento comienza a alterarse cuando se producen compuestos volátiles secundarios a los cuales pertenecen sustancias con gran intensidad aromática, que inclusive a las pequeñas concentraciones en que normalmente se encuentran modifican muy fuertemente el olor y el sabor (Belitz y Grosch, 1997). Entre los productos secundarios destacan: compuestos monocarbonilo volátiles, hexanal, aldehído malónico, derivados del furano y compuestos oxo, epóxido y trihidroxi.

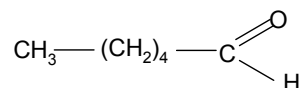
Compuestos carbonilo volátiles (aldehídos y cetonas)



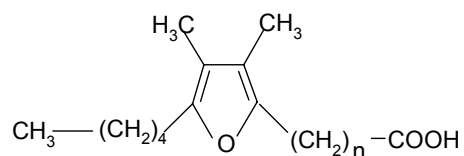
Aldehído malónico



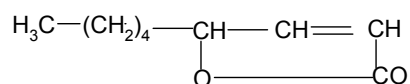
Hexanal



Derivados del furano



Para el gusto agradable a frito tienen gran importancia ciertas lactonas no saturadas tales como la lactona del ácido 4-hidroxi-2-nonenico.



Un buen indicador de la oxidación en aceites de fritura es la formación y evolución de los ácidos grasos de cadena corta durante la oxidación. Se cuantifica analizando los compuestos polares por cromatografía gaseosa, ya que existe una correlación entre éstos y el contenido en ácidos grasos de cadena corta (Márquez-

Ruiz y Dobarganes, 1996). Otros métodos utilizados para la determinación de la oxidación de lípidos son la prueba del ácido tiobarbitúrico (determina numerosos productos de la peroxidación lipídica), absorción en el ultravioleta (a 232 y a 270 nm), etc.

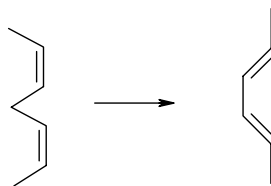
Finalmente durante el proceso de autooxidación van apareciendo cambios sensoriales (alteración del sabor, palatabilidad, oscurecimiento), físicos (aumento de la viscosidad) y químicos (formación de polímeros y compuestos volátiles) (Monferer y Villalta, 1993a).

1.3.2.1.3. Polimerización

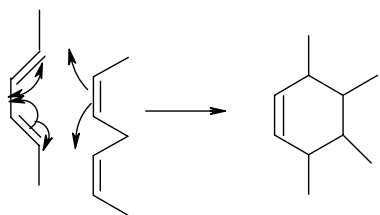
Los radicales libres tienden a combinarse entre ellos o con otros ácidos grasos y forman compuestos lineales, más o menos largos y ramificados, o compuestos cíclicos, especialmente en el caso de que existan dobles enlaces (Monferrer y Villalta, 1993a). La dimerización y la polimerización generalmente van acompañados de una disminución del índice de iodo y de un aumento del peso molecular, de la viscosidad y del índice de refracción.

Por calentamiento, durante el proceso de fritura, los dobles enlaces de los ácidos grasos pasan a posiciones en los que se encuentran conjugados y mediante cicloadición 1,4 dan los llamados aductos de Diels- Alder (Belitz y Grosch, 1997).

Isomerización

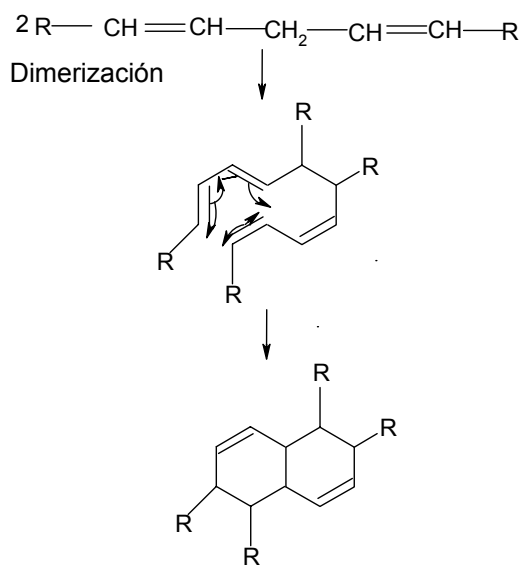


Cicloadición

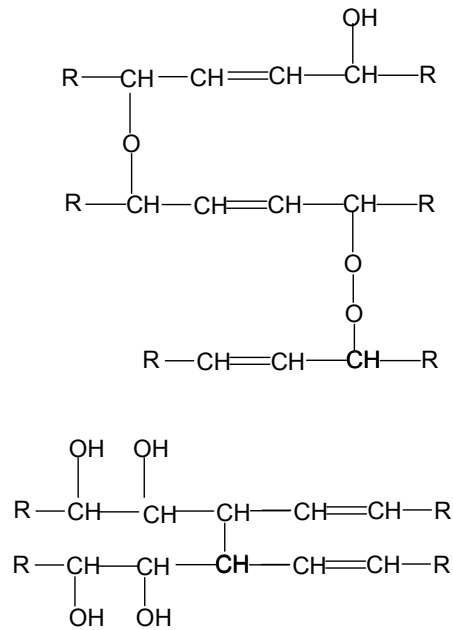


Las cadenas laterales de los derivados ciclohexeno tetrasustituidos formados en la reacción anterior se acortan por oxidación. El ciclohexeno se aromatiza fácilmente con lo cual pueden formarse también compuestos derivados del ácido benzoico.

Los radicales ácido graso o triacilglicerol, que se forman por sustracción de un átomo de H, pueden mediante reacción posterior con oxígeno, dimerizarse y después ciclarse.



En presencia de oxígeno se forman también polímeros, con enlaces de éter y peróxidos que también contienen grupos hidroxilo, oxo ó epoxi (Belitz y Grosch, 1997).



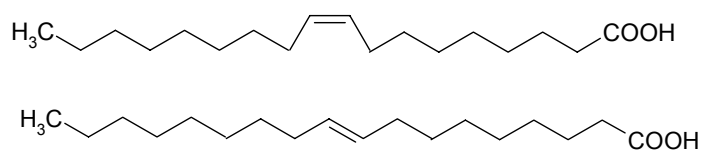
Tales compuestos no son deseables porque disminuyen de modo persistente el gusto del aceite y además, debido a la presencia de los grupos –OH, son sustancias tensoactivas que producen espuma.

En general, estos polímeros, al ser de mayor tamaño y peso molecular, tienden a aumentar la viscosidad del aceite, lo que, por un lado favorece la formación de espuma (Belitz y Grosch, 1997) y por lo tanto la oxidación, y por otro, producen un arrastre mayor de aceite por parte el producto frito debido a que gotea con más dificultad.

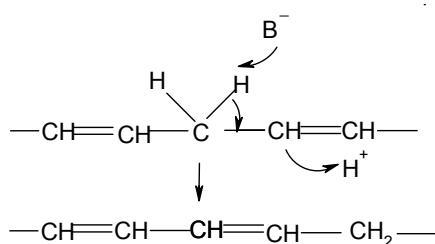
1.3.2.1.4. Isomerización.

Durante el proceso de fritura también tienen lugar reacciones de isomerización. Por un lado, se producen isomerizaciones cis-trans y por otro, también se producen isomerizaciones isoleno-conjugueno, lo que permite la detección de los nuevos dobles enlaces conjugados creados por espectrofotometría en la zona del ultravioleta.

Isomerizaciones cis-trans



Isomerizaciones isoleno-conjugueno



1.3.2.2. Factores que influyen en el deterioro del aceite durante la fritura

A la vista de los fundamentos químicos de la alteración del aceite de fritura, y que se ha presentado más arriba, se resumen a continuación los principales factores que influyen en dicho deterioro:

a. Luz

La presencia de luz es determinante en el proceso de autooxidación del aceite, como ya se ha indicado en el apartado 1.3.2.1.2.

b. Oxígeno del aire

El deterioro del aceite durante el proceso de fritura es acelerado por el *oxígeno del aire* (también ha sido comentado en el apartado 1.3.2.1.2). Por este motivo, el equipo de fritura debe estar diseñado de forma que la superficie del aceite esté cubierta con una capa de vapor procedente del alimento que se esté friendo (la humedad influye en las reacciones de hidrólisis, véase apartado 1.3.2.1). Además siempre que sea posible, la fritura ha de llevarse a cabo en serie para poder mantener esta superficie completamente cubierta; el aceite todavía es más sensible a su deterioro cuando está a la temperatura de fritura y no hay ningún alimento friéndose.

c. Metales pesados

La presencia de *metales pesados* acelera la degradación del aceite de fritura (como ya se ha comentado en el apartado 1.3.2.1), por este motivo el material más utilizado en la construcción de freidoras es el acero inoxidable.

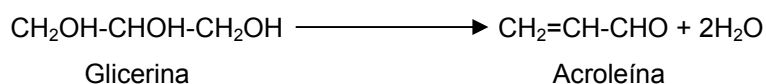
d. Residuos

La contaminación del aceite por la presencia de algunos *residuos* de alimentos que permanecen en la freidora y continúan calentándose hasta que llegan a carbonizarse, favorece el deterioro del aceite. Esto puede evitarse en gran parte con el uso de freidoras provistas de una zona fría, en la cual se separan los restos de los alimentos, evitando el contacto prolongado de éstos con las altas

temperaturas de fritura. Aún cuando se disponga de una zona fría, es importante tamizar y filtrar a menudo el aceite para evitar su deterioro.

e. Temperatura elevada

El efecto principal de la *temperatura demasiado elevada* del aceite de fritura, es la aparición de gustos y olores desagradables. La sustancia que irrita los ojos cuando el aceite se sobrecalienta es la acroleína, producto de la degradación de la glicerina liberada tras la hidrólisis de los triglicéridos.



f. Presencia de antioxidantes naturales

Las grasas y aceites tienen *antioxidantes naturales* (como por ejemplo, carotenoides, tocoferoles y otros compuestos fenólicos) que los protegen contra la oxidación. En el proceso de fritura, la concentración de estos componentes va disminuyendo.

1.3.3. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA EN DISTINTOS PRODUCTOS FRITOS.

Como ya se ha explicado en apartados anteriores, los aceites y grasas de fritura se descomponen por reacciones de hidrólisis, oxidación y polimerización. Este hecho, unido al gran intercambio de grasas que se produce entre el alimento y el medio de fritura hacen que la fracción lipídica de distintos productos fritos ya sean rebozados o no, haya sido objeto de estudio de algunos trabajos de investigación.

Un producto rebozado, muy popular en USA, es el aro de cebolla; Hansen (1999) estudió la influencia de las condiciones de fritura en las características de este producto y vio que la humedad, la jugosidad y el color desarrollado tenían alta correlación con la temperatura de fritura. Ling *et al.* (1998) evaluaron la calidad de aros de cebolla rebozados fritos y determinaron el contenido graso y la humedad entre otros parámetros; concluyeron que con mayores tiempos de fritura retenían mayores niveles de humedad de la cebolla mientras que disminuía en mayor medida la del rebozado. Este hecho lo atribuían al endurecimiento de la capa externa del rebozado que producía una disminución en la cantidad de aceite de fritura que podía absorber la cebolla a través de la capa de rebozado.

Makinson *et al.* (1987) se centraron en la absorción de aceite por parte de diferentes alimentos, tanto rebozados como no, y su conclusión más interesante fue que la mayor cantidad de grasa absorbida se encontraba en los productos vegetales, que inicialmente tenían mayor cantidad de agua en su composición. También, al comparar productos rebozados con otros que no lo estaban, vieron que el rebozado sí que retrasaba la penetración de grasa en el alimento substrato durante la fritura. Además, en todos los alimentos que absorbían grasa, esta absorción era mayor durante los 10 primeros segundos de fritura, del mismo modo que la mayor pérdida de agua también se producía en este intervalo de tiempo. Los factores que influyen en la usualmente menor alteración del contenido lipídico de los alimentos fritos de origen animal frente a los de origen vegetal son: una menor cantidad de agua inicial generalmente, un mayor contenido graso y diferencias notables en cuanto a la textura y estructura celular (Makinson *et al.*, 1987). Flick *et al.* (1989) estudiaron el efecto de la temperatura en la absorción de grasa en porciones de pescado rebozado y concluyeron que al aumentar la temperatura de fritura disminuía el contenido en grasa de la capa de rebozado.

Como se ha explicado al principio de este apartado, actualmente todos estos productos rebozados se preparan a escala industrial y se comercializan en congelación, por lo que el consumidor solamente ha de someterlos a una fritura

doméstica final. Esto supone una serie de operaciones en la industria, como son una prefritura industrial del producto recién rebozado, seguida de una congelación que se mantendrá durante el transporte, venta, etc... hasta su consumo. Las modificaciones en la fracción lipídica de productos sometidos a estas operaciones industriales también ha sido evaluado en distintos trabajos.

En este sentido, Aust y Thompson (1981) estudiaron la composición lipídica de patatas prefritas, del aceite de fritura y de las patatas fritas finalmente; observaron que la composición en ácidos grasos de las patatas fritas finales se parecía más a la del aceite de fritura que a la de las patatas prefritas; esto sugiere un intercambio importante de los lípidos entre la patata y el aceite de fritura durante la fritura final.

Pokorny y Reblova (1999) también estudiaron la transferencia de grasa del aceite al producto frito, y concluyeron que la prefritura, el rebozado, o el precalentamiento de los productos pueden ser buenos métodos para la inhibición de la absorción de aceite.

En cambio, la congelación hace que aumente el contenido total de lípidos debido a una hidrólisis parcial de lipoproteínas (El-Dashlouty *et al.*, 1984). Sin embargo, una congelación parcial de la superficie del alimento puede ser una medida efectiva para disminuir la absorción de aceite por parte del producto tal y como demuestran Toma *et al.* (1986) en estudios realizados con patatas fritas.

Además, los productos prefritos y congelados tienen unas características especiales (Dobarganes *et al.*, 2000). Por un lado, contienen cantidades importantes de aceite, de composición desconocida que ha sido absorbido durante la prefritura y cuya calidad depende de las variables de esta etapa (temperatura, tiempo de calentamiento,...). Por otro lado, dicho aceite es adsorbido preferentemente en las capas externas del alimento y estará en contacto con el aceite de fritura durante la fritura final.

Pokorny (1980) estudia la adsorción preferencial de ácidos grasos y compuestos de oxidación en las capas externas de algunos productos frescos sometidos a fritura y observa que esta adsorción es mayor en estas capas que en el resto del alimento. Posiblemente la adsorción de compuestos polares se produce durante la etapa de prefritura (Pérez-Camino *et al.*, 1991), y así queda inactivada la superficie del alimento para la absorción de aceite de fritura durante la posterior fritura final.

En cuanto a calamares rebozados congelados, Coll y Rueda (1991 a y b) estudiaron las modificaciones en la fracción lipídica del calamar fresco rebozado durante una etapa prolongada de fritura doméstica, y verifican que se produce un intercambio de componentes entre el aceite del baño de fritura (aceite de semillas en la mayoría de los ensayos) y el alimento que se fríe en dicho proceso; sin embargo, no hay información disponible en bibliografía sobre la absorción de aceite durante el proceso industrial de elaboración de calamares rebozados congelados, ni de las posibles modificaciones de su fracción lipídica.

La tendencia actual de los estudios en este campo se orienta a conseguir productos bajos en calorías. En esta línea Rayner *et al.* (2000), Mallikarjunan *et al.* (1997), Balasubramaniam *et al.* (1997) y Chinnan *et al.* (1995) estudian films comestibles de hidrocoloides, que combinados con proteína de soja o de maíz, limitan la absorción de aceite durante el proceso. Así, seleccionando el film comestible adecuado, la grasa transferida entre el medio de fritura y el alimento puede ser controlada y producir un alimento final con las características deseadas.

Otra opción puede ser variar los ingredientes de la formulación, por ejemplo, introducir harina de arroz, que incrementa el contenido de amilosa del almidón y disminuye la cantidad de aceite absorbido mientras incrementa el contenido en proteínas (Shih y Daigle, 1999).

1.4. MICROESTRUCTURA DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS Y FRITOS

La microestructura de un alimento muestra la organización de sus elementos estructurales y la interacción entre ellos. Durante el procesado de un alimento, su microestructura puede modificarse, destruirse, reconstruirse, etc... Estos cambios en la estructura se pueden visualizar por distintas técnicas microscópicas, que permiten entender mejor la relación entre la estructura y las propiedades de los alimentos (Aguilera *et al.*, 2000).

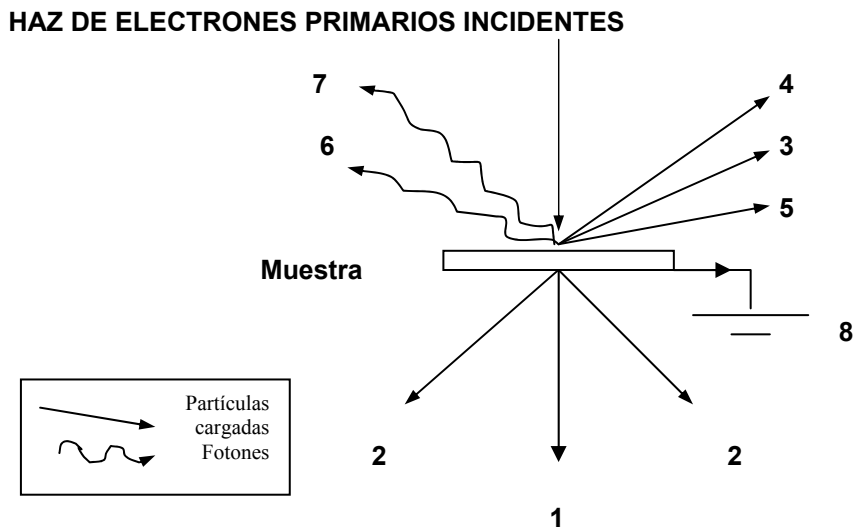
Así, los alimentos pueden tener similar composición química y manifestar comportamientos totalmente diferentes dependiendo de la estructura que se le haya impartido a través de su procesado (Aguilera y Stanley, 1999).

Por este motivo, la descripción estructural de los tejidos frescos resulta imprescindible para el análisis comparativo de las alteraciones estructurales causadas por distintos tratamientos, por ejemplo, altas o bajas temperaturas (Otwell y Giddings, 1980).

1.4.1. FUNDAMENTOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Cuando un haz de electrones de un microscopio electrónico incide sobre una muestra, se producen una serie de interacciones que, por una parte, son responsables del contraste de imágenes observadas, y por otra, originan distintas radiaciones secundarias que pueden utilizarse para obtener una información suplementaria. Esto permite combinar observación y análisis, dando lugar a diferentes tipos de microscopios y a distintas técnicas de microanálisis. En la figura 1.1 se representan las emisiones procedentes de la muestra. Si la muestra es suficientemente delgada, una gran fracción de electrones incidentes la atravesarán, sin apenas cambios en su trayectoria y energía, dando lugar al haz

transmitido (1). Parte de los electrones incidentes pueden ser dispersados, originando haces dispersados (2), y haces retrodispersados (3), con variaciones de energías (ΔeV). Como resultado de este impacto o del haz retrodispersado, algunos electrones de la superficie de la muestra pueden escapar produciéndose un nuevo haz de electrones secundarios con energías de unos pocos eV (4). Los electrones Auger (5), con energías de hasta 2 keV, se producen por la interacción de un electrón incidente con un electrón de las capas internas de los átomos de la muestra. El haz incidente da lugar también a rayos X (6), con energías características de los elementos que forman la muestra y en muchos materiales a la emisión de luz como catodoluminescencia (7). Finalmente, la corriente absorbida por la muestra (8) permite el estudio de la estructura interna, de los semiconductores (González, 1991).



1. Electrones transmitidos; 2. Haces dispersados; 3. Haces retrodispersados; 4. Haz de electrones secundarios; 5. Haz de electrones Auger; 6. Haz de rayos X; 7. Haz de luz.

Fuentes: González, R. (1991)

Figura 1.1. Principales resultados de la interacción del haz de electrones primarios con la muestra.

1.4.1.1. Microscopía electrónica de transmisión

En el microscopio electrónico de transmisión (TEM), un haz fijo de electrones primarios, con voltajes de aceleración mayores de 60 kV, incide sobre una muestra extremadamente fina (5 μm). La imagen se forma con los electrones transmitidos que la atraviesan. La claridad de un área de la imagen es proporcional al número de electrones transmitidos a través de la muestra. Se puede alcanzar una resolución de hasta 0,2 nm (Aguilera y Stanley, 1999).

En TEM hay que preparar la muestra para poder obtener cortes adecuados para que los electrones puedan atravesar un espesor ultrafino compatible con el poder de resolución del microscopio. La preparación de las muestras en TEM puede dividirse en las siguientes etapas principales: fijación primaria, lavado, fijación secundaria, deshidratación, contraste, infiltración, inclusión con resina y polimerización.

La fijación con reactivos químicos especiales permite preservar la estructura morfológica de la muestra. A partir de 1963 (Sabatini *et al.*) se desarrolló el protocolo de fijación primaria con glutaraldehído y fijación secundaria con tetróxido de osmio. Para conseguir un adecuado contraste en muestras biológicas hay que crear opacidades con la introducción de metales pesados como Pb, O, etc. La infiltración consiste en sustituir el disolvente deshidratante por el medio de inclusión. Mediante la inclusión se aporta la suficiente consistencia a la muestra para someterla a un posterior corte. Al final del proceso, el tejido está exento de agua y fijado de una manera estática dentro de una matriz de resina.

1.4.1.2. Microscopía electrónica de barrido

Los fundamentos del microscopio electrónico de barrido (SEM) se asientan en 1935, cuando Knoll construye el primer microscopio de barrido con una resolución del orden de 100 μm . Sin embargo, hasta 1965 no se dispuso del primer microscopio electrónico de barrido comercial, de resolución 25 nm.

En un microscopio de barrido, un haz de electrones con una cierta energía entre 5 y 50 kV, se hace incidir sobre la muestra, en condiciones de alto vacío para no alterar la trayectoria de los electrones por interacciones con otros átomos o moléculas distintas a las de la muestra objeto. Este haz electrónico de 2 a 3 nm barre la superficie de la muestra punto a punto y línea a línea. Como resultado de la interacción de los electrones incidentes con la muestra, se produce una serie de fenómenos, entre los que destacan la emisión de electrones secundarios con energías de unas pocas decenas de eV y la reflexión de los electrones primarios que dan lugar a un haz de electrones retrodispersados de alta energía. La intensidad de la emisión de estos dos haces depende fuertemente del ángulo de incidencia del haz de electrones sobre la superficie del material, esto es, la topografía de la muestra. Cada tipo de corriente electrónica emitida por la muestra se puede recoger con ayuda de un detector adecuado y amplificar; las variaciones en la intensidad, a medida que el haz incidente barre la superficie, se utilizan para variar la intensidad de la traza en un tubo de rayos catódicos que barre en sincronía con la sonda de barrido de la muestra. De este modo se establece una correspondencia directa entre las posiciones de la sonda en la superficie de la muestra y la imagen fluorescente en el tubo de rayos catódicos. Actualmente en la microscopía electrónica de barrido se puede alcanzar una resolución entre 3 y 6 nm (Aguilera y Stanley, 1999).

Los microscopios electrónicos de barrido están configurados por elementos básicos:

1. El sistema de iluminación formado por el cañón de electrones, un conjunto de lentes condensadoras y el sistema de deflexión responsable del barrido del haz electrónico.
2. El portamuestras.
3. Los sistemas de detección de las diferentes emisiones.
4. El sistema de visualización de la imagen.

1.4.2. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DEL CALAMAR.

Dado que en el presente trabajo se utiliza calamar como elemento sustrato para elaborar el producto rebozado, a continuación se detalla la estructura de este cefalópodo.

La estructura del manto de calamar está compuesta por cinco capas, (Lluch *et al.*, 2001). La capa central y más gruesa está formada por tejido muscular fibroso que se encuentra rodeado por dos capas de tejido conectivo (túnicas externa e interna); estas dos túnicas a su vez están recubiertas por otras dos capas también de tejido conectivo, (cubierta externa y cubierta interna o visceral, respectivamente). La figura 1.2 presenta un esquema explicativo de su estructura (Lluch *et al.*, 2001). Tanto la cubierta como la túnica externa se eliminan al pelar el calamar (Kugino y Kugino, 1994). Las fibras musculares están agrupadas en bandas en disposición perpendicular: las bandas circunferenciales se sitúan dibujando la circunferencia del cono del calamar y las radiales conectan las dos túnicas de tejido conectivo. Estas fibras musculares tienen un tamaño aproximado de 3.6 μm de diámetro y presentan forma triangular (Stanley y Smith, 1984). Cada fibra a su vez está formada por estructuras más pequeñas denominadas

miofibrillas, de forma estriada, que se disponen oblicuamente alrededor del sarcoplasma central.

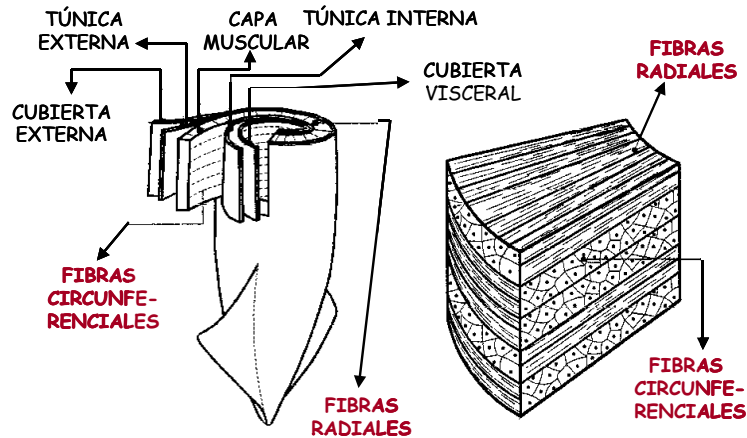


Figura 1.2. Estructura del calamar (adaptado de Lluch *et al.*, 2001).

La estructura de una fibra muscular consta del sarcoplasma central, que aloja principalmente a mitocondrias, núcleos y otros orgánulos sarcoplásmicos; está recubierta por el sarcolema (Moon y Hulbert, 1975; Otwell y Hamann, 1979). En la fibra también se encuentra un sistema reticular sarcoplásmico complejo (Moon y Hulbert, 1975) que está compuesto por tres tipos de túbulos:

- Los túbulos periféricos que están en contacto directo con el sarcolema.
- Los túbulos radiales que separan las miofibrillas.
- Los túbulos centrales que están en contacto con el sarcoplasma central.

La túnica visceral es la parte del manto más sensible al calor. La parte externa es más resistente; sin embargo, con un tratamiento térmico a 100°C durante 1 min la cubierta externa gelatiniza; si aumenta la duración del tratamiento se produce también gelatinización de la túnica externa de tejido conectivo. Las alteraciones de las fibras musculares del calamar debidas a tratamientos térmicos

se observan a nivel microestructural como una pérdida de la diferenciación miofibrilar, que se evidencia ya a 50°C. Un incremento de temperatura en estas fibras causa la coagulación de las proteínas sarcoplasmáticas, con la consiguiente desintegración del sarcoplasma, el encogimiento y deshidratación de las fibras e incluso la desintegración del sarcolema (Otwell y Hamann, 1979; Kugino y Kugino, 1994).

Otwell y Giddings (1980) estudiaron por SEM los cambios producidos en la estructura del calamar durante la cocción y la congelación, y describieron que en el calamar sometido a cocción las tunicas de tejido conectivo se observan gelatinizadas y las fibras musculares se muestran más densamente empaquetadas que en el calamar crudo. La congelación produce alteraciones estructurales sobre las fibras musculares que sugieren una deshidratación y un endurecimiento de éstas. El mejor método para la congelación del calamar según Otwell y Giddings (1980) sería una congelación rápida que minimice la formación de cristales de hielo y la consecuente pérdida de humedad.

1.4.3. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DE DISTINTOS PRODUCTOS REBOZADOS

Los ingredientes de la capa de rebozado sobre el alimento sustrato, en combinación con las condiciones del procesado determinan la microestructura del producto final, que influye en la apariencia, textura, percepción al gusto y estabilidad (Autio y Laurikainen, 1997).

Parte de los ingredientes de los alimentos rebozados proceden de los cereales. El grano de cereal posee una estructura perfectamente organizada aunque hay algunas características como grosor de la pared celular, tamaño de células, estructura del gránulo de almidón, estructura y distribución de proteínas, cantidad y tamaño de glóbulos de grasa y su distribución, etc, que varían según el

cereal e incluso entre variedades. El procesado del grano, que incluye operaciones como la molienda, el mezclado, el amasado, etc... también causa cambios microestructurales en la célula y en las estructuras tisulares, tanto en los componentes de la pared celular como en los componentes del protoplasto, cuerpos proteicos, gránulos de almidón (Autio y Salmenkallio-Marttila, 2001).

El componente mayoritario en la elaboración de rebozados es la harina de trigo. La microestructura de los principales componentes, almidón y gluten, ha sido estudiada durante la elaboración del pan (Rojas *et al.*, 2000). En este sentido Huggten *et al.* (1999) observaron que en la masa cruda se produce una segregación parcial del almidón de la matriz proteica y en la elaboración del pan el almidón está gelatinizado y forma una red continua. Los polímeros que forman el almidón se encuentran separados tras la panificación, en concreto la amilosa se visualiza acumulada en el centro de los gránulos de almidón. El gluten es el responsable de la formación de la masa panaria; la proteína forma una matriz, que tras el amasado, podrá englobar el CO₂ generado por las levaduras y dar las características adecuadas al pan. Esta matriz se destruye si se somete a un excesivo amasado (Betchel *et al.*, 1978).

La influencia de los ingredientes que conforman el rebozado es importante en el estudio microestructural. Las modificaciones en la estructura de un alimento a base de pescado por efecto de la sal y otros ingredientes han sido estudiadas por Cheow *et al.* (1999). La microestructura de las miofibrillas permanecen intactas en la elaboración de crackers a base de pescado sin sal, en cambio desaparece cuando a la mezcla se le añade sal en proporción 30 g/kg.

Sin embargo, no existen estudios acerca de la microestructura de la capa de rebozado en alimentos de este tipo.

1.4.4. ESTRUCTURA Y MICROESTRUCTURA DE DISTINTOS PRODUCTOS FRITOS

La fritura induce grandes cambios estructurales en la superficie de los alimentos debido al tratamiento térmico y a la absorción de aceite. La mayoría de estos cambios tienen lugar en las capas más externas del producto. Los productos fritos más estudiados son las patatas. Bouchon y Aguilera (2001) describieron la gelatinización de gránulos de almidón, el ablandamiento de paredes celulares, la rápida deshidratación de tejidos, la formación de poros y la salida de vapor en la fritura de patatas mediante la utilización de microscopía confocal.

Aguilera y Gloria (1997) estudian por microscopía óptica la microestructura de patatas fritas y observan dos zonas diferenciadas. La primera zona corresponde a la corteza externa (1.2 mm) que está formada por células deshidratadas que contienen la mayor parte del aceite. La segunda zona corresponde con la zona central de la patata frita que está formada por un apretado paquete de células hidratadas intactas parecidas a las de la patata cocida. El aceite se encuentra en forma de gotas (50-100 μm de tamaño).

Se han realizado estudios microestructurales de otro producto frito muy consumido en América, como son las tortillas. Luján-Acosta y Moreira (1997) estudiaron la influencia de diferentes métodos de secado en la microestructura de estos productos. Determinaron que como consecuencia del secado la estructura se colapsaba pero durante la fritura se produciría la expansión de sus componentes estructurales. Además observaron que la temperatura del aire de secado también influía en la microestructura: aumentando la temperatura del aire, la superficie de los productos a nivel microestructural se hacía más blanda.

1.5. MODIFICACIONES EN LAS PROTEÍNAS DEL CALAMAR SOMETIDO A DISTINTOS PROCESOS

No se han encontrado referencias acerca de las posibles modificaciones que pueden sufrir las proteínas en los productos rebozados congelados. Sin embargo, sí que existen algunos estudios acerca de las proteínas del calamar, alimento substrato empleado en este trabajo, y sus modificaciones según distintos tratamientos.

El calamar representa una fuente abundante de proteínas que tiene diferente valor comercial según la especie. Las ventajas del músculo del cefalópodo incluyen un alto rendimiento después del procesado y un bajo contenido graso, un sabor agradable y una carne muy blanca. Además, el músculo de calamar tiene una gran actividad proteolítica (Pérez-Mateos *et al.*, 2002). Rodger *et al.* (1984) y Kolodziejska *et al.* (1987) demostraron que una proteasa del manto del calamar causaba la degradación de la miosina y sugirieron que la proteólisis podría influir en la calidad textural de la carne de calamar cocido.

Kolodziejska *et al.* (1992) trataron músculo de calamar con extracto de hígado. Las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares se hidrolizaron dando lugar a fracciones de menor peso molecular, lo que condujo a un ablandamiento en el producto cocido.

Se ha estudiado que durante largos períodos de congelación disminuye ligeramente la extracción de proteínas miofibrilares (Ho *et al.*, 1991). Las principales proteínas de calamar congelado solubilizadas con SDS corresponden a las proteínas miofibrilares, como la cadena pesada de miosina (MHC), paramiosina, actina y proteínas de bajo peso molecular como tropomiosina y troponina (Pérez-Mateos *et al.*, 2002).

1.6. TEXTURA DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS.

Los ingredientes que forman la capa de rebozado tienen un papel fundamental en la textura de los productos rebozados. Son responsables de características importantes para la aceptación de estos productos por parte del consumidor (dureza, crujibilidad,...).

En algunos productos rebozados, como son los aros de cebolla fritos, se produce una gran migración de agua desde el alimento-substrato a la capa de rebozado; por este motivo disminuye la crujibilidad del rebozado y la cebolla presenta menor jugosidad (Gennadios *et al.*, 1997). Este problema se puede solucionar reformulando la pasta para rebozar, mediante el empleo de ingredientes capaces de formar una barrera potente que no permita salir el vapor de agua y así permanezca la humedad adecuada dentro del producto para conservar su jugosidad y no disminuir la crujibilidad del rebozado. Ling *et al.* (1998) comprobaron en aros de cebolla rebozados y fritos que al aumentar la temperatura del baño y los tiempos de fritura aumentaba la dureza de la capa de rebozado. En pollo rebozado y frito, Olewnick y Kulp (1993) analizaron que la crujibilidad aumenta al adicionar harina de trigo al rebozado.

Si se añaden ingredientes en la formulación del rebozado como son la dextrina o el huevo liofilizado las cualidades texturales se ven afectadas. Baixauli *et al.* (2003) demuestran que la textura de un producto rebozado y frito mejora al introducir dextrina entre los ingredientes del rebozado y perduran estas cualidades texturales durante más tiempo en el caso de que contenga huevo. Sin embargo, no hay bibliografía sobre la textura del rebozado en calamares rebozados congelados empleando distintos ingredientes para su formulación.

1.7. REOLOGÍA DE LAS PASTAS EN LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS REBOZADOS CONGELADOS.

Diversos trabajos analizan las características de la harina de trigo y destacan la enorme influencia de este ingrediente sobre la adhesión de la pasta sobre el alimento substrato y que posteriormente será sometido a fritura (Cunningham y Tiede, 1981; Hsia et al., 1992). Este parámetro aumenta cuando al alimento substrato se le enharina antes de ser rebozado.

La viscosidad aparente, el recubrimiento y la adhesión son parámetros destacables en la reología de las pastas, muy influenciados por la composición de éstas, sobre todo si contienen como ingrediente un hidrocoloide (Hsia *et al.*, 1992). La viscosidad aparente está correlacionada con la adhesión de la pasta al producto como también lo está el rendimiento en la etapa de rebozado. También influyen de manera importante en las propiedades reológicas de la pasta de rebozado la velocidad y el tiempo de mezclado. Olewnick y Kulp (1993) estudian las variaciones que se producen en las propiedades reológicas de las pastas y su comportamiento durante la fritura según las características de la harina de trigo utilizada en las formulaciones de alimentos rebozados. Estos autores relacionan un mayor contenido en α -amilasa en la harina con una menor viscosidad de la pasta para rebozar.

Sanz *et al.* (2004a) estudian la influencia de la temperatura en la preparación de pastas para rebozar calamares rebozados congelados que contienen metilcelulosa en su formulación. La consistencia y la capacidad de retención de agua de las pastas que contienen metilcelulosa aumentan cuando se emplean temperaturas bajas para la preparación de los ingredientes. No se ha encontrado bibliografía sobre la reología de las distintas pastas empleadas para rebozar calamares rebozados congelados.

2. OBJETIVOS

3. PLAN DE TRABAJO

4. MATERIAL Y MÉTODOS

2. OBJETIVOS

Se plantea como objetivo general del presente trabajo el **“Estudio de las principales modificaciones químicas y microestructurales que se producen a lo largo del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados”**.

Para alcanzar este objetivo general, se proponen los siguientes objetivos parciales:

1. Estudio de los aspectos microestructurales que influyen en las características macroscópicas de calamares rebozados congelados.
2. Estudio de la textura de los productos obtenidos y reología de las pastas empleadas en el rebozado.
3. Estudio de las modificaciones de los componentes químicos fundamentales: fracción proteica y fracción lipídica.

3. PLAN DE TRABAJO

Para alcanzar los objetivos anteriormente citados, el plan de trabajo programado es el siguiente:

1. Obtención, a escala laboratorio, de muestras en las distintas etapas de la elaboración de calamares rebozados congelados: calamar, pasta, calamar rebozado, calamar prefrito, calamar prefrito congelado, calamar frito final, aceite de fritura. Se utilizará anilla de calamar, distintos ingredientes en la formulación de la masa para rebozar (harina de diferentes cereales y complementos panarios) y aceite de girasol rico en oleico como medio de fritura. En paralelo se elaborará un calamar frito control obtenido directamente sin prefritura ni congelación.
2. Descripción del impacto del proceso y de la influencia de la formulación del rebozado en la microestructura de las distintas muestras. Las técnicas a utilizar serán: Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía Óptica (LM) Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Análisis de Imagen.
3. Caracterización de la textura de los productos obtenidos con las distintas formulaciones de rebozado y de la reología de las pastas empleadas.
4. Caracterización de la fracción proteica por electroforesis (SDS-PAGE) durante el proceso de elaboración de calamares rebozados congelados. Estudio de la influencia de la formulación del rebozado en la evolución de las proteínas.
5. Estudio de la evolución de la humedad y de la grasa en las distintas muestras obtenidas a lo largo del proceso de elaboración de calamares rebozados

congelados y estudio de la influencia de la formulación del rebozado sobre ambos parámetros.

6. Estudio de la degradación de la fracción lipídica durante el proceso de elaboración de los calamares rebozados congelados: índice de acidez, índice de iodo, absorción específica en el ultravioleta visible (K_{232} y K_{270}). Determinación de la influencia de la formulación del rebozado.
7. Determinación de los índices de calidad del aceite de fritura: índice de acidez, índice de iodo, absorción específica en el ultravioleta visible (K_{232} y K_{270}).
8. Estudio comparativo de algunas marcas comerciales importantes en el sector: contenido en humedad y grasa, calidad de la fracción lipídica y microestructura.
9. Tratamiento estadístico de los datos e interpretación de resultados.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIA PRIMA

4.1.1. CALAMAR

Las anillas de calamar congeladas se compran en un supermercado local (Carrefour, Valencia) y se almacenan en congelador a temperatura constante (-18°C) hasta su utilización.

4.1.2. ACEITE

Las etapas de prefritura y fritura se realizan con aceite de semillas de girasol refinado. Este aceite presenta un elevado contenido en ácido oleico (70%), una acidez máxima de 0.2° , antiespumante (E-900, polidimetilsiloxano) y antioxidante (E-306, extracto rico en tocoferoles). Su uso está indicado para freiduría industrial alimentaria.

4.1.3. FORMULACIONES

Para preparar las formulaciones para rebozar se utilizan los siguientes ingredientes: harina de trigo, harina de maíz, sal de mesa, impulsor ($1.32\% \text{NaHCO}_3 / 1.78\% \text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$) y saborizante (glutamato monosódico). Las proporciones de los ingredientes de las distintas formulaciones (b.s.) son:

- FORMULACIÓN I : 100% harina de trigo
- FORMULACIÓN II : 97% harina de trigo, 3% harina de maíz
- FORMULACIÓN III : 94% harina de trigo, 6% harina de maíz
- FORMULACIÓN IV : 88.5% harina de trigo, 6% harina de maíz, 5.5% sal
- FORMULACIÓN V: 84.8% harina de trigo, 6% harina de maíz, 5.5% sal, 3.1% impulsor, 0.6% saborizante.

En la tabla 4.1 se detalla la composición de los ingredientes que constituyen cada una de las formulaciones empleadas para rebozar.

Tabla 4.1. Composición de las distintas formulaciones.

	DESCRIPCIÓN	COMPOSICIÓN
Formulación I	Mezcla de harinas de trigo	14,9% harina de panificación 14,7% harina de fuerza 70,4% harina tratada térmicamente*
Formulación II	Mezcla de harinas de trigo y harina de maíz	97% mezcla de harinas de trigo 3% harina de maíz
Formulación III	Mezcla de harinas de trigo y harina de maíz	94% mezcla de harinas de trigo 6% harina de maíz
Formulación IV	Mezcla de harinas de trigo, harina de maíz, sal	88.5% mezcla de harinas de trigo 6% harina de maíz, 5.5% sal
Formulación V	Mezcla de harinas de trigo, harina de maíz, sal, impulsor, saborizante	84.8% mezcla de harinas de trigo 6% harina de maíz 5.5% sal 3.1% bicarbonato y pirofosfato sódico 0.6% glutamato monosódico

*Tratamiento térmico 90°C/ 30min.

Las formulaciones se preparan mezclando los ingredientes secos con agua (1/1.2 w/v) con ayuda de una mezcladora Kenwood Major Classic a la velocidad 2 durante 2 minutos.

4.2. PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

El diagrama de flujo del proceso de elaboración se indica en la figura 4.1.

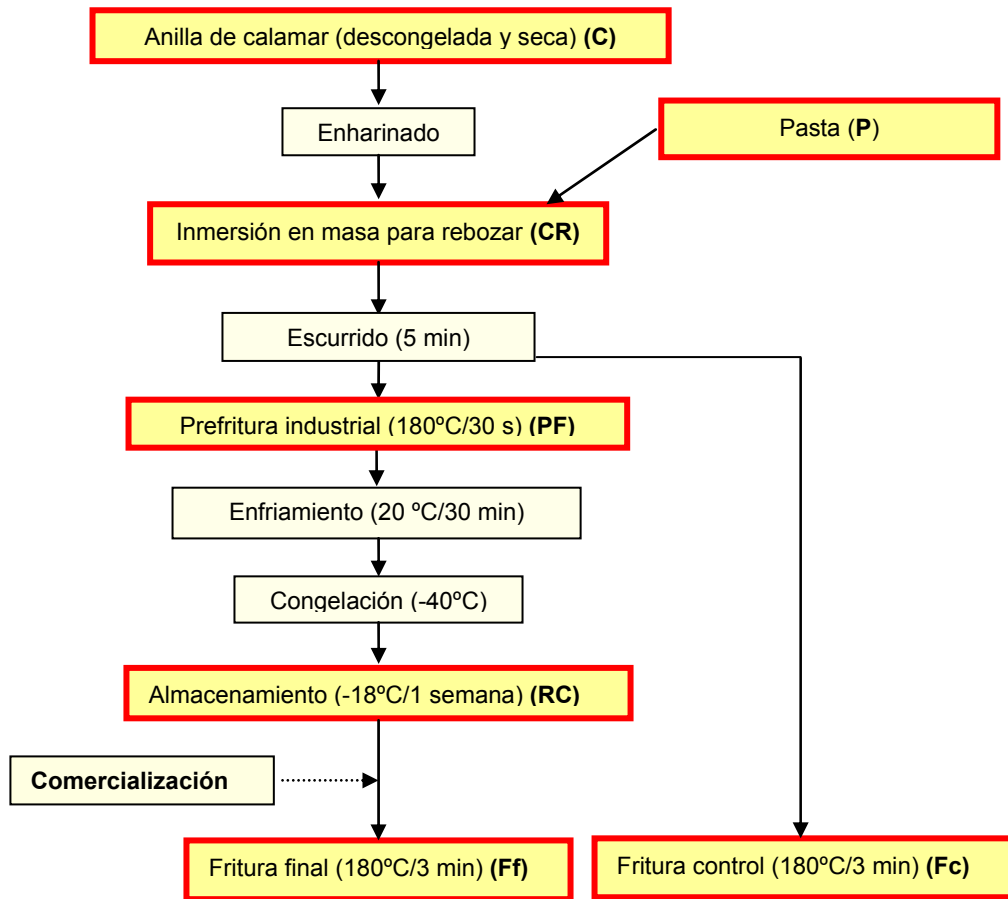


Figura 4.1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de calamar rebozado congelado.

Etapas del proceso donde se procede a la toma de muestras.

C	Anilla de calamar.
CR	Calamar rebozado
P	Pasta
PF	Prefritura
RC	Congelación
Ff	Fritura final
Fc	Fritura control

Las anillas de calamar se secan en papel de filtro, se enharinan según la formulación correspondiente, se sumergen en la pasta durante 10 s y se dejan escurrir en un plato durante 5 s. A continuación se prefrién en freidora doméstica durante 30 s en aceite a 180°C. Luego, se dejan escurrir sobre papel de filtro y enfriarse a temperatura ambiente (20°C) durante 30 min. Posteriormente, se congelan a -40°C en arcón congelador (Dycometal) y se almacenan a -18°C en congelador doméstico durante una semana. Al cabo de este tiempo, se lleva a cabo la fritura final, durante 3 min en aceite a 180°C. Paralelamente, se realiza una fritura control; para ello anillas de calamar rebozadas y escurridas se frién directamente a 180°C durante 3 min (sin prefritura, ni congelación).

Se extraen muestras de calamar y de aceite en cada una de las etapas señaladas en el esquema (figura 4.1). Además se lleva a cabo un calentamiento del aceite durante los mismos tiempos, pero sin producto para freír, con el fin de estudiar su alteración térmica.

4.3. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS.

La caracterización de la microestructura se lleva a cabo con las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía Óptica (LM) Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Análisis de Imagen.

4.3.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO A BAJAS TEMPERATURAS (CRYO-SEM)

Para ser observadas por Cryo-SEM, se obtienen muestras de la capa de rebozado, de la anilla de calamar y también de la interfase entre ambas.

Las muestras recién obtenidas, se sumergen en N₂ nieve a temperatura $\leq -210^{\circ}\text{C}$, y se transfieren rápidamente a un Cryo-Trans CT1x500C de Oxford Instruments acoplado a un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5410 (figura 4.2), que trabaja en condiciones de congelación ($T < -130^{\circ}\text{C}$) a vacío (1 kPa). En el Cryo-Trans la muestra se fractura a -180°C con ayuda de un pequeño punzón. Opcionalmente, la muestra se introduce en la cámara del microscopio para ser sublimada a -90°C , con el fin de eliminar el posible exceso de escarcha superficial que pueda enmascarar la adecuada observación de la muestra.



Figura 4.2. Cryo-Trans CT1x500C de Oxford Instruments acoplado a un microscopio electrónico de

Finalmente, antes de proceder a su estudio, la muestra se recubre con Au en el mismo Cryo-Trans (0.2 kPa y 40 mA). Una vez metalizada, se introduce en el microscopio para ser observada a 15 kV y distancia de trabajo de 15 mm donde se procede a la obtención de imágenes. El protocolo seguido se muestra en la figura 4.3.

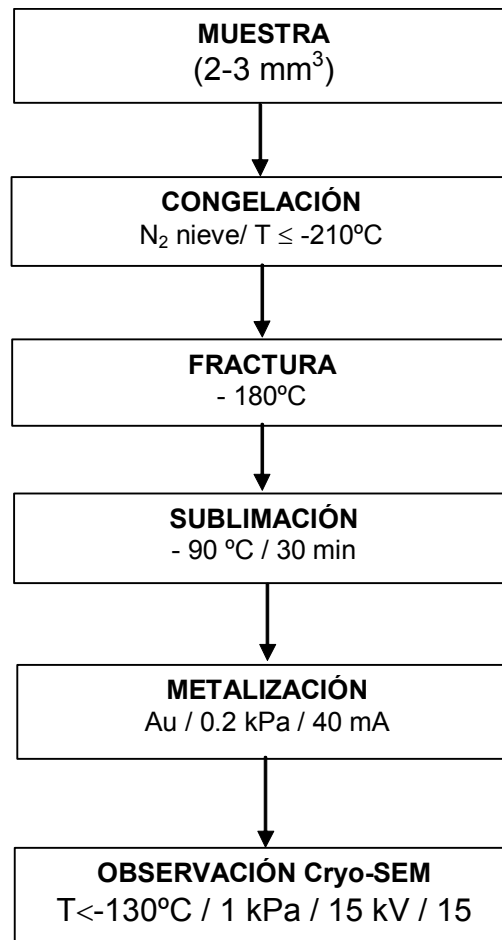


Figura 4.3. Esquema de la preparación de muestras para su observación por Cryo- SEM.

4.3.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se cortan cubos de muestra de 2-3 mm³ con una hoja de acero inoxidable y se introducen en disolución fijadora (glutaraldehído al 2% en tampón fosfato 0.025M, pH 6.8) a 4°C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se elimina la disolución fijadora mediante lavados sucesivos en disolución de tampón fosfato 0.025M (pH 6.8), que se renueva cada hora hasta 5 veces. A continuación, se sumergen en disolución fijadora de tetróxido de osmio al 2% en tampón fosfato 0.05M, pH 6.8. Esta disolución también se elimina con 5 lavados en tampón fosfato 0.025M (pH 6.8) de 15 minutos cada uno. Se deshidrata la muestra en una serie de disoluciones acuosas de etanol (10, 20, 40, 60, 80%) cada 20 minutos, y en etanol al 100% (3 cambios de 20 minutos). Finalmente, las muestras se ultradeshidratan por la técnica de punto crítico con CO₂ en un equipo Polaron E3000. Antes de su observación por SEM, las muestras se montan sobre soportes adecuados, con ayuda de plata coloidal, y se metalizan con oro en un equipo BALTEC SCD 005 (figura 4.4) a vacío (10⁻⁵ kPa) con una corriente de ionización de 40 mA durante 90 s.



Figura 4.4. Metalizador Baltec SCDOO5.

Una vez metalizadas, las muestras están preparadas para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido JEOL 6300 (figura 4.5) a 15 kV y distancia de trabajo de 15 mm. El esquema de la metodología se muestra en la figura 4.6.



Figura 4.5. Microscopio electrónico de barrido JEOL 6300.

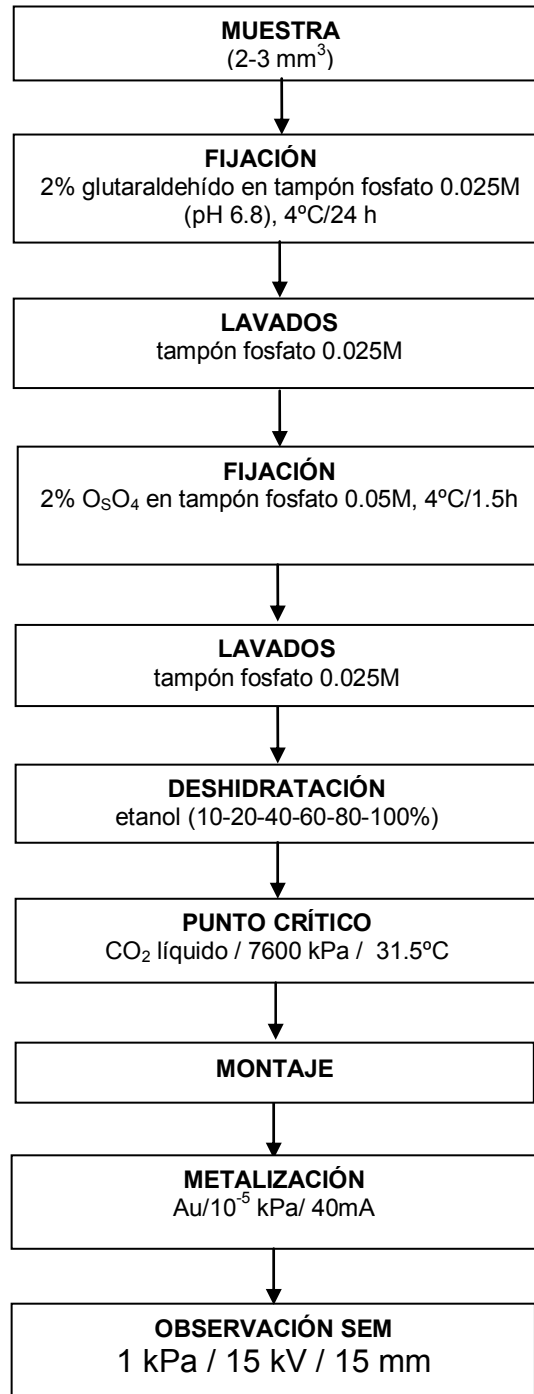


Figura 4.6. Esquema de preparación de muestras para su observación por SEM.

4.3.3. MICROSCOPIA ÓPTICA (LM)

Para ser observadas por LM, se obtienen muestras de aproximadamente 1-2 mm³. A continuación se someten a un proceso de fijación con glutaraldehído (2%) en tampón fosfato 0.025M y tras su lavado con dicho tampón (figura 4.7), se postfijan con tetróxido de osmio (2%) en tampón fosfato 0.05M, se deshidratan con series graduales de etanol, se contrastan con acetato de uranilo (4%), se infiltran y se incluyen en resina ULV (65.5°C, 3 días).

Con ayuda de un ultramicrotomo (REICHERT–JUNG ULTRACUT) se cortan los bloques para obtener secciones semifinas (1.5 µm), que se tiñen con distintos agentes de tinción para visualizar los diferentes componentes de las muestras: azul de toluidina al 1% para la observación de proteínas, lugol al 10% para gránulos de almidón, sudán III al 2% para la fracción lipídica. Tras la tinción, las muestras se secan y se fijan en un portaobjetos de vidrio. Se observan por la técnica de campo claro en un Microscopio Óptico Nikon Eclipse E 800.

4.3.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (TEM)

Para su observación por TEM, la preparación de las muestras (figura 4.7) es la misma que para LM. Sin embargo para TEM, los bloques se cortan por ultramicrotomía (REICHERT–JUNG ULTRACUT) en secciones ultrafinas de aproximadamente 0.05 µm de espesor. Estas secciones se recogen sobre rejillas de cobre y se tiñen con citrato de Pb (4%) y acetato de uranilo (2%). Las muestras se observan en un Microscopio Electrónico de Transmisión Philips EM 400 a 80 kV.

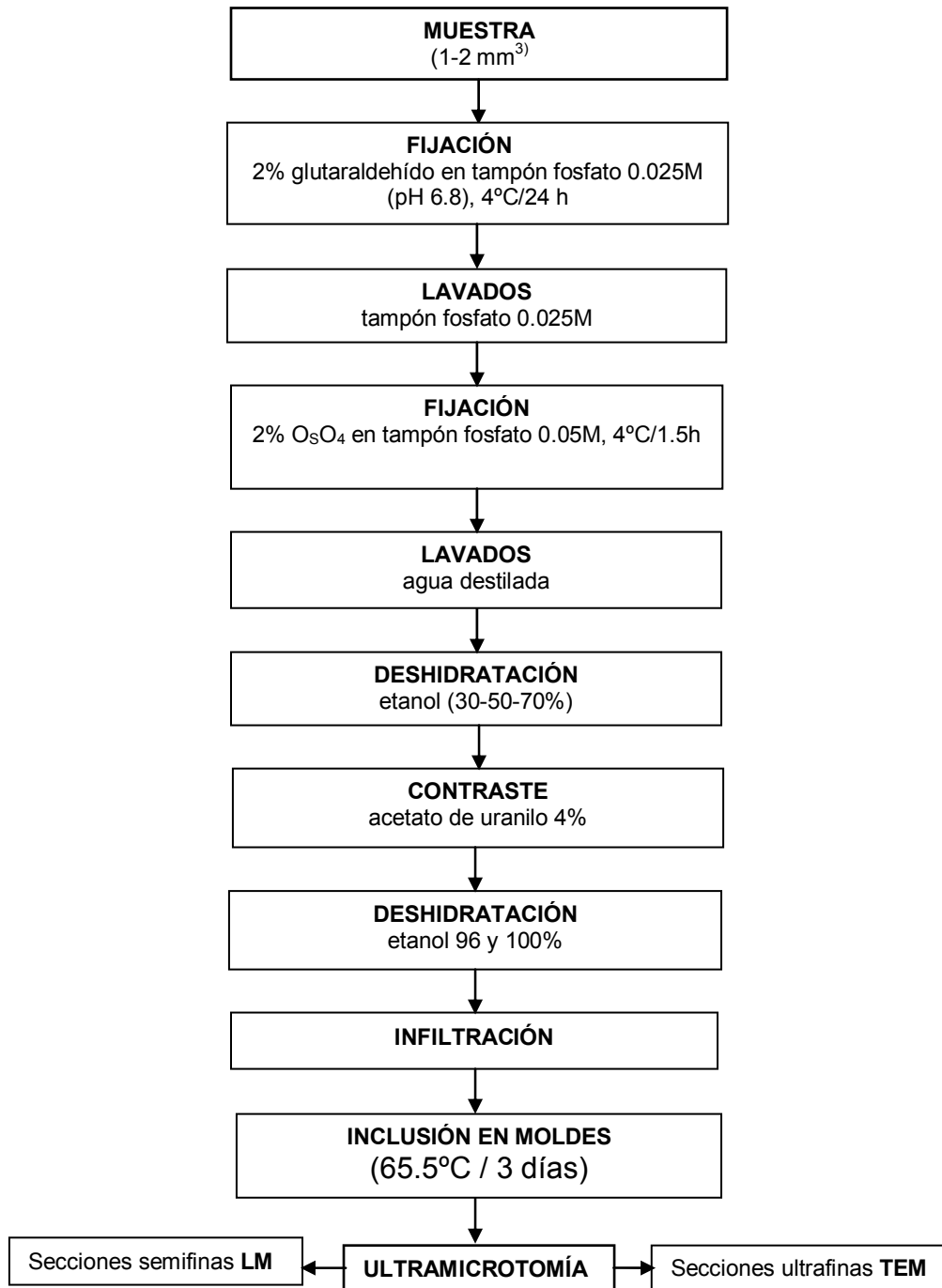


Figura 4.7. Esquema de la preparación de muestras para su observación por TEM y LM.

4.3.5. ANÁLISIS DE IMAGEN.

Se realiza el análisis de imagen en micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (CryoSEM) mediante el paquete informático AUTOCAD 2000. Se miden los diámetros mayor y menor de los gránulos de almidón en las distintas formulaciones y en cada etapa del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados. A partir de estas dimensiones se calcula la excentricidad de dichos gránulos mediante la siguiente fórmula:

$$e = \left(1 - \frac{b^2}{a^2}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Ec. 4.1})$$

Donde:

- a= diámetro mayor (□m)
- b= diámetro menor (□m)

También se obtienen medidas del área de la elipse imaginaria a la que se adapta la forma de cada gránulo de almidón:

$$\text{Área}(\mu\text{m}^2) = \pi \times a \times b \quad (\text{Ec.4.2})$$

4.4. DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA. ENSAYOS DE PENETRACIÓN.

La determinación de la textura se lleva a cabo sobre la capa de rebozado, para ello y se divide en 4 partes (20 x 10 mm, y 2 mm de espesor). Los ensayos de textura se realizan en un texturómetro TA-XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems) con el programa de análisis de datos Texture Expert versión 1.11. Las muestras se sitúan en una plataforma con un orificio de 5 mm de diámetro y se atraviesan con un émbolo cilíndrico de base plana de 4 mm de diámetro. La velocidad de bajada del émbolo es de 1 mm/s y la distancia de penetración de 10 mm. Se mide el pico de fuerza máxima de las muestras inmediatamente después de su fritura y transcurridos 15 min y 30 min tras ésta.

4.5. ENSAYOS DE REOLOGÍA.

Para los ensayos de reología se utiliza un reómetro Physica Rheolab MC120 (Para Physica) equipado con geometría cono-plato (2°, 5 cm de diámetro). Las medidas se realizan a 20°C. El hueco entre platos es de 1 mm. Se aplica parafina líquida sobre las superficies en contacto con la muestra para prevenir la evaporación de agua y proteger de la deshidratación.

Un parámetro importante para el industrial que fabrique este producto rebozado es el índice de recubrimiento. Este índice es la cuantificación de la cantidad de pasta de rebozado que queda adherida al alimento sustrato respecto del peso final del producto. El índice de recubrimiento se calcula según la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de recubrimiento} = \frac{\text{peso del producto rebozado} - \text{peso del sustrato inicial}}{\text{peso del producto rebozado}} \times 100$$

Donde los pesos se expresan en base húmeda.

➤ **Comportamiento al flujo.**

El esfuerzo de cizallamiento es función de la velocidad de cizallamiento (0.5-100 s⁻¹). Las constantes reológicas k (índice de consistencia, Pa.s) y n (índice de flujo) se calculan siguiendo la ecuación de Ostwald:

$$\tau = k \times \gamma^n \quad (\text{Ec. 4.3})$$

Donde:

- τ = tensión de cizalladura (Pa)ⁿ
- γ = velocidad de deformación (s⁻¹)ⁿ.

➤ **Comportamiento viscoelástico.**

Se llevan a cabo ensayos dinámicos con cizallamiento oscilatorio (amplitud de la deformación= 0.07%, T= 65°C). Los ensayos preliminares presentaron un área de deformación que indicó que la deformación seleccionada no tenía región lineal viscoelástica.

➤ **Efecto de la temperatura.**

Las muestras se calientan desde 20°C hasta 85°C a una velocidad de 0.5°C/min y una frecuencia fija de 1 Hz. El módulo de almacenamiento (G' , unidades Pa) se corresponde con la componente en fase con la onda de la deformación por cizallamiento y el módulo de pérdidas (G'' , unidades Pa) con la componente desfasada de dicha deformación. El módulo de almacenamiento está expresado en función de la temperatura.

4.6. ESTUDIO DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS

4.6.1. FRACCIÓN PROTEICA

4.6.1.1. Extracción y cuantificación de proteínas

La muestra se tritura con un robot (Moulinex moultinex 2) y se liofiliza (TELSTAR Lioalfa-6) durante 24 h a 1 kPa y -45°C. A continuación, se desengrasa mediante una extracción en continuo durante 16 h utilizando n-hexano como disolvente; el n-hexano de la muestra se elimina por evaporación a vacío. La muestra se somete a una trituración más fina con un molino IKA M20 a 20000 rpm durante 3 min. La preparación de la muestra, tanto para su posterior cuantificación

por espectrofotometría como para su estudio por electroforesis se lleva a cabo según Etienne *et al.* (2001) con algunas modificaciones. A 300 mg de muestra previamente liofilizada y desengrasada se añade 4 mL de disolución extractora (2% dodecil sulfato sódico (SDS), 0.1 M ditioneitol (DTT), 60 mM tris-HCl, pH 7.5) y se homogeneiza con Ultraturrax T-25 de IKA a una velocidad de 8000 min⁻¹ a 100°C de temperatura durante 2 min. Luego, se centrifuga (Medifriger-BL SELECTA) a una velocidad de 20 000 g durante 15 min a 20°C.

Para la cuantificación de las proteínas de las muestras se utiliza el procedimiento "OD₂₈₀". Esta determinación está basada en el principio de que la absorbancia de una disolución de proteína de 1 mg/mL a $\lambda=280$ nm es 1. Los extractos problema, una disolución estándar de seroalbúmina bovina (BSA) (10 mg/mL en 0.2 % SDS) y una disolución sin proteína (disolución extractora) se diluyen 20 veces con 0.2% SDS. Se mide la absorbancia a 280 nm en un espectrofotómetro (CECIL serie 1020) usando cubetas de cuarzo (Hellma 100QS, 10mm). El contenido proteico de las muestras se calcula con la siguiente ecuación:

$$P = (A_p - A_d) \times 20 \quad (\text{Ec. 4.4})$$

Donde:

- P=concentración de proteína (mg/mL)
- A_p=Absorbancia de la muestra problema.
- A_d=Absorbancia de la disolución sin proteína (disolución extractora).

A modo de control se mide la absorbancia de la disolución estándar de BSA y la de la disolución de 0.2% SDS. La diferencia entre la absorbancia de ambas disoluciones debe ser 0.33.

4.6.1.2. Estudio de la evolución de la fracción proteica por electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE)

4.6.1.2.1. Disoluciones empleadas.

- **Disolución 1:** 10 mM tris-HCl pH 8, dodecil sulfato sódico SDS 2%, 0.1M ditioneitol DTT, 0.01% azul de bromofenol.
- **Disolución 2 o disolución fijadora:** 100 ml de ácido acético, 400 mL de etanol y se afora hasta 1 L con agua destilada.
- **Disolución 3 o disolución lavadora:** 250 mL de etanol, 80 mL de ácido acético y se afora hasta 1 L con agua destilada.
- **Disolución 4 o disolución de tinción:** se adiciona 1 tableta de azul de Coomassie (Pharmacia Biotech) a 400 mL de la **disolución 3**, se calienta a 60°C y se filtra antes de usar.
- **Disolución 5 o disolución de conservación:** 25 mL de glicerol al 87% (w/v) y se afora hasta 250 mL con la **disolución 3**.
- **Tampón Laemli:** 4.8% SDS, 1mM ácido etilendiamino tetracético EDTA, 0.1M DTT, 20% glicerol, 125 mM tris-HCl pH 6.8, 0.05% azul de bromofenol.

4.6.1.2.2. Preparación de la muestra.

La concentración de proteínas de las muestras, extraídas según se explica en el apartado 4.3.3, se ajusta a 2 mg/mL con tampón Laemli.

4.6.1.2.3. Preparación del patrón.

Para la calibración se utilizan patrones de bajo peso molecular (Kit de calibración de bajo peso molecular para electroforesis SDS-PAGE, Amersham Pharmacia Biotech). Se disuelve el contenido de un envase comercial en 200 μ L de la **disolución 1**.

Tabla 4.2. Proteínas patrón.

PROTEÍNA	Pm (Dalton)
Fosforilasa b	97 000
BSA	66 000
Ovoalbúmina	45 000
Anhidrasa carbónica	30 000
Inhibidor tripsina	20 100
α-Lactoalbúmina	14 400

4.6.1.2.4. Equipo y condiciones electroforéticas.

Se utiliza un equipo Multiphor II Electrophoresis System (Pharmacia Biotech) provisto de un circulador termostático Multi Temp II de la misma casa, que permite fijar la temperatura a 15°C. Este equipo está acoplado a la fuente de alimentación Electrophoresis Power Supply EPS 3500 XL (Pharmacia Biotech). Se emplea un gel de poliacrilamida de las siguientes características: ExcelGel SDS Homogeneous, 15% polímeros totales (T), 3% polímeros entrecruzadores (C), intervalo de separación 4-170 kDa (Pharmacia Biotech). Se deposita sobre cada pocillo del gel 8 μ L de las disoluciones problema o patrón. Las condiciones de desarrollo electroforético son las siguientes: 600 V, 20 mA y 20 W durante 2h 20 min.

4.6.1.2.5. Revelado y secado de geles.

Los geles se fijan con la **disolución 2** durante 30 min y a continuación se tiñen durante 10 min por inmersión en la **disolución 4**, previamente calentada a 60° C. Se procede al lavado del gel con la **disolución 3** hasta que las bandas se vean nítidas. Por último, se sumerge el gel en la **disolución 5** durante 30 min y se envuelve en una hoja de celofán empapada en la misma disolución. Se deja secar al aire.

4.6.1.2.6. Análisis de los geles obtenidos por densitometría.

Los geles obtenidos se analizan en un densitómetro Intelligent Dark Box II Fujifilm LAS 1000 (Fujifilm) acoplado a un ordenador, que emplea para la interpretación de los resultados el programa Multi Gauge (Fujifilm) y proporciona los densitogramas para cada una de las carreras electroforéticas o electroforegramas.

4.6.2. HUMEDAD

La humedad de la muestra se determina en cápsulas de vidrio por evaporación hasta peso constante en estufa a 105°C durante 24 h. Se utilizan 5 g de muestra.

La humedad (%H) se expresa en base húmeda (bh):

$$\% \text{Humedad} = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{(M_1 - M_0)} \quad (\text{Ec. 4.5})$$

Donde:

- M_1 = peso inicial de la cápsula con la muestra (g)
- M_2 = peso final de la cápsula con la muestra (g)
- M_0 = peso de la cápsula (g)

4.6.3. FRACCIÓN LIPÍDICA

4.6.3.1. Extracción y cuantificación de la fracción lipídica.

La muestra se tritura en robot Moulinex moultinex 2, se liofiliza en un equipo TELSTAR Lioalfa-6 (figura 4.3), a 1 kPa y -45°C , durante 24 h. Posteriormente, se somete a extracción continua durante 16 h en equipo Soxhlet SBS, de 6 baterías en serie, a 70°C , utilizando éter de petróleo como disolvente. Luego, se elimina el disolvente hasta peso constante, con un Rotavapor Heidolph P Selecta VV 1 (105-38 W , 40-290 U/min), en un baño de agua a 70°C . Se realiza este procedimiento para cada una de las muestras.

La cantidad de grasa (b.h) se expresa como:

$$\% \text{ grasa extraída} = \left(\frac{G_E}{M_T} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 4.6})$$

Donde:

- G_E = peso de la grasa extraída (g)
- M_T = peso de la muestra en base húmeda (g)



Figura 4.8. Liofilizador Lioalfa-6.

4.6.3.2. Índices de calidad de la fracción lipídica.

4.6.3.2.1 Índice de acidez. Grado de acidez.

La acidez de las muestras se determina según la norma UNE 55-011.

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se introducen 50 mL de una mezcla, en partes iguales, de alcohol etílico de 96 ° y éter etílico, y se le adiciona 5 mL de disolución alcohólica de fenoftaleína al 1 %. La mezcla, adicionada al indicador, se neutraliza con disolución de KOH 0.01 N, hasta viraje incipiente del indicador.

En otro matraz Erlenmeyer igual al anterior, se pesan 2 g de aceite. El disolvente neutralizado, preparado según se indica anteriormente, se vierte en el matraz y se agita, hasta conseguir la disolución completa de la grasa. Seguidamente, se valora con disolución de KOH 0.01 N. La adición de KOH se hace agitando constantemente; la valoración termina cuando la adición de una sola gota produce un viraje débil, pero definido, que persiste durante unos segundos. Se procura que el matiz de color del punto final sea lo más parecido posible al obtenido en la neutralización del disolvente.

El índice de acidez se expresa como:

$$\text{Índice de acidez} = \frac{56.11 \times V \times N}{P} \quad (\text{Ec.4.7})$$

El grado de acidez o porcentaje de A.G. libres, expresado como ácido oleico, viene dado por la expresión:

$$\text{Grado de acidez (ácido oleico, \%)} = \frac{28.2 \times V \times N}{P} \quad (\text{Ec. 4.8})$$

Donde:

- V = Volumen consumido de la disolución de KOH (mL).
- N = Normalidad de la disolución de KOH.
- P = Peso de la muestra de aceite (g).

4.6.3.2.2. Índice de iodo

El índice de iodo es una expresión cuantitativa del grado de insaturación de la grasa, que representa convencionalmente los gramos de I_2 fijados por cada 100 g de aceite. El Índice de Iodo se determina según la norma UNE 55-013.

Se introducen 0.2 g de muestra en un matraz Erlenmeyer esmerilado. Se agregan 10 mL de CCl_4 y 25 mL de reactivo de Hanus (0.02 g/mL BrI/CH_3COOH), exactamente medidos. Se tapa el matraz, se homogeneiza el contenido mediante un suave movimiento de rotación y se deja en reposo en la oscuridad durante 1 h.

Transcurrido el tiempo indicado, se añaden 20 mL de disolución de IK al 10% y 100 mL de agua destilada, y se valora el I_2 libre con $Na_2S_2O_3$ 0.1 N, empleando una disolución indicadora de almidón (1%), que debe agregarse poco antes del punto final.

Paralelamente se realiza un ensayo testigo, sin aceite.

El índice de iodo se calcula mediante la fórmula:

$$\text{Índice de iodo} = \frac{(12.69 \times N \times (V - V_p))}{P} \quad (\text{Ec. 4.9})$$

Donde:

- V = Volumen de $Na_2S_2O_3$ consumido en el ensayo testigo (mL).
- V_p = Volumen de $Na_2S_2O_3$ consumido en la valoración problema (mL).
- N = Normalidad de la disolución de $Na_2S_2O_3$.
- P = Peso de la muestra de aceite (g).

4.6.3.2.3 Absorción específica en la zona del ultravioleta: índices K_{232} y K_{270}

Esta determinación se lleva a cabo según la norma UNE 55-047-73.

Se pesa exactamente en un matraz aforado de 10 mL una cantidad de aceite comprendida entre 0.10 g y 0.02 g. La muestra se disuelve en ciclohexano químicamente puro y se completa hasta el enrase. Se mide la absorbancia a 232 nm y a 270 nm, en un espectrofotómetro (CECIL INSTRUMENTS LIMITED SERIES 1020). Se utilizan cubetas de cuarzo de 1 cm de paso. La absorbancia de todas las muestras se mide frente a un patrón de comparación, que en este caso es ciclohexano. Los coeficientes específicos K_{232} y K_{270} (K_{λ}) se calculan como:

$$K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{p} \times 100 \quad (\text{Ec. 4.10})$$

Donde:

- A_{λ} = Absorbancia leída en espectrofotómetro a 232 ó 270 nm.
- p = Peso de la muestra (mg).

4.7. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico de los resultados se lleva a cabo mediante análisis de la varianza (ANOVA) y se calculan diferencias mínimas significativas (LSD) al nivel de significación ≤ 0.05 . Se emplea el programa estadístico asistido por ordenador Statgraphics 5.0.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ESTUDIO MICROESTRUCTURAL DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

La caracterización microestructural permite una explicación fina de las observaciones macroscópicas y de las modificaciones químicas que sufren los alimentos durante su procesado. Es evidente que cualquier tratamiento térmico, ya sea altas como bajas temperaturas, modifica la microestructura del alimento, y varía sus propiedades como producto final (Stanley y Smith, 1984; Kugino y Kugino, 1994).

En el presente apartado se aborda, mediante la utilización conjunta de distintas técnicas microscópicas, el estudio de las principales modificaciones que tienen lugar en la microestructura de los productos obtenidos en la elaboración de calamares rebozados congelados. Se obtiene información complementaria a partir de las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Microscopía Óptica (LM), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Análisis de Imagen.

Antes de proceder a la descripción de la microestructura de los productos elaborados, es necesario realizar un estudio microscópico preliminar de las principales materias primas utilizadas, lo que resulta fundamental para entender mejor la relación entre la estructura y la funcionalidad de los distintos ingredientes.

5.1.1. ESTUDIO DE LAS MATERIAS PRIMAS.

Calamar

Como ya se ha explicado en el apartado 4.1.1, se emplea calamar como alimento sustrato en la preparación de un producto rebozado congelado. El

calamar presenta una estructura y composición diferente a otras especies marinas que se ha detallado previamente en el capítulo de introducción.

La figura 5.1.1 muestra las fibras de calamar fresco en sección longitudinal, observadas por Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM). Estas fibras están recubiertas de agua que no ha sido totalmente sublimada durante la preparación de la muestra, ya que el calamar es un producto de alto contenido en humedad (83.50g H₂O/ 100g producto). Se puede apreciar que las fibras musculares de este cefalópodo tienen un diámetro aproximado de 3.5 µm, muy inferiores a los valores de 90-100 µm propios de las fibras musculares de la carne. El diámetro de las fibras musculares del calamar incluso está dentro del orden de tamaño de las miofibrillas de los mamíferos (1-2 µm), por ejemplo, del conejo (Pérez-Munuera *et al.*, 1999; Sotelo *et al.*, 2004).

La técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) permite observar la disposición del tejido muscular del calamar fresco (figuras 5.1.2, 5.1.3 y 5.1.4) en bandas perpendiculares de fibras radiales y circunferenciales, lo cual concuerda con las observaciones realizadas por Otwell y Hamann (1979). Esta distribución de fibras se puede observar mejor en las figuras 5.1.5, 5.1.6, 5.1.7 y 5.1.8 mediante la técnica de Microscopía Óptica (LM).

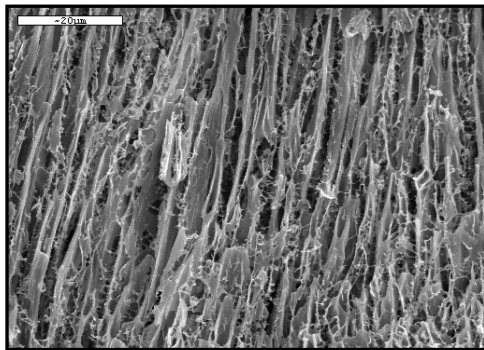


Figura 5.1.1. Cryo-SEM. Calamar fresco. Sección longitudinal.

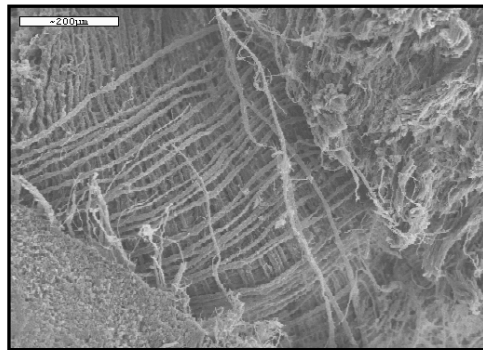


Figura 5.1.2. SEM. Calamar fresco. Disposición de las fibras en el tejido muscular.

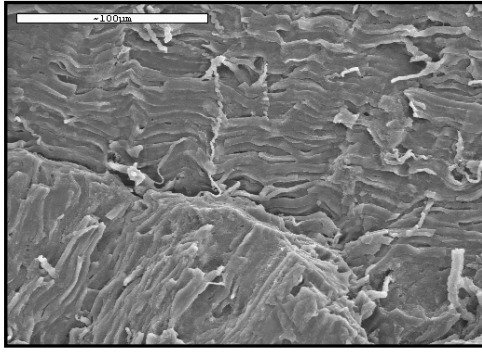


Figura 5.1.3. SEM. Calamar fresco. Disposición de las fibras en el tejido muscular.

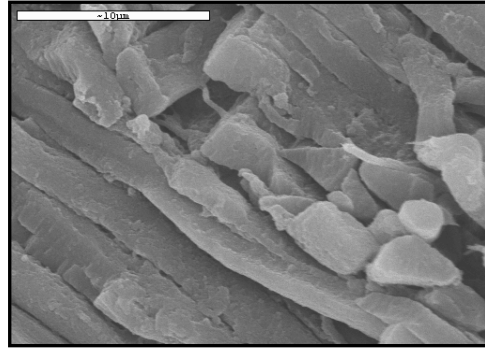


Figura 5.1.4. SEM. Calamar fresco. Detalle de disposición de las fibras en el tejido muscular.

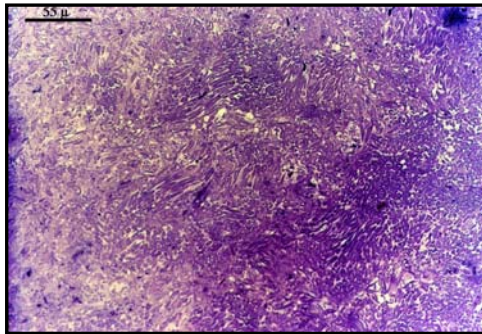


Figura 5.1.5. LM (azul de toluidina). Calamar fresco. Sección longitudinal del tejido muscular. 20x

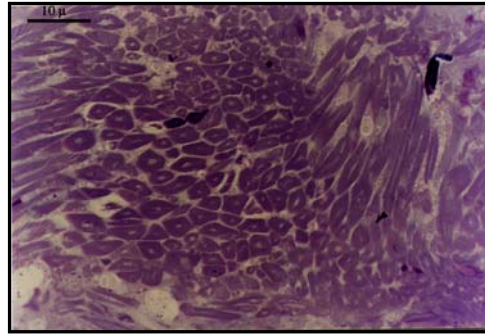


Figura 5.1.6. LM (azul de toluidina). Calamar fresco. Sección longitudinal del tejido muscular. 100x

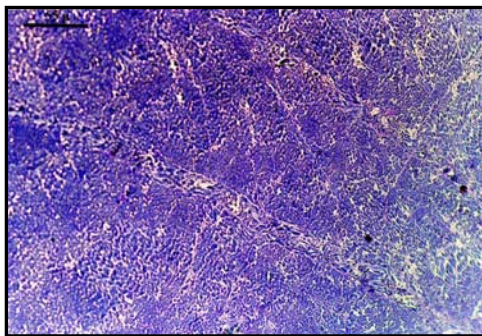


Figura 5.1.7. LM (azul de toluidina). Calamar fresco. Sección transversal del tejido muscular. 20x

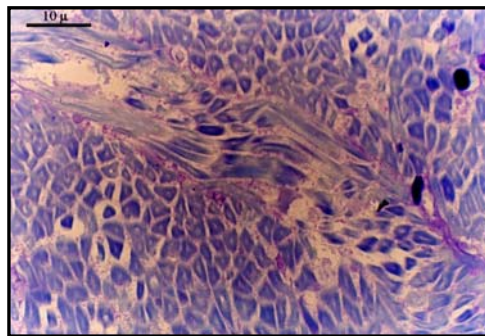


Figura 5.1.8. LM (azul de toluidina). Calamar fresco. Sección transversal del tejido muscular. 100x

La figura 5.1.9 muestra, en sección transversal, una fibra de calamar fresco en la que se aprecia el sarcoplasma central rodeado por miofibrillas. Cada fibra está rodeada por una red de tejido conjuntivo. Esta estructura se visualiza con más detalle por la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) en cortes transversales (figuras 5.1.10, 5.1.11 y 5.1.12). La figura 5.1.10 muestra la ultraestructura de las células de calamar en las que se observa además del sarcoplasma central, el complejo sistema de retículo sarcoplásmico compuesto por tres tipos de túbulos: los túbulos periféricos que contactan directamente con el sarcolema; los túbulos radiales que separan miofibrillas y los túbulos centrales que contactan directamente con el sarcoplasma central. Este sistema fue descrito por Moon y Hulbert (1975), que lo relacionaron con el movimiento muscular.

La forma triangular de las fibras de calamar fresco se aprecia en la figura 5.1.11 donde también se puede observar las miofibrillas separadas por espacios intermiofibrilares. La figura 5.1.12 presenta un detalle del sarcoplasma central que contiene mitocondria y núcleo; Otwell y Giddings (1980) descubrieron la estructura del sarcoplasma y determinaron la existencia en él de numerosas mitocondrias y al menos un núcleo.

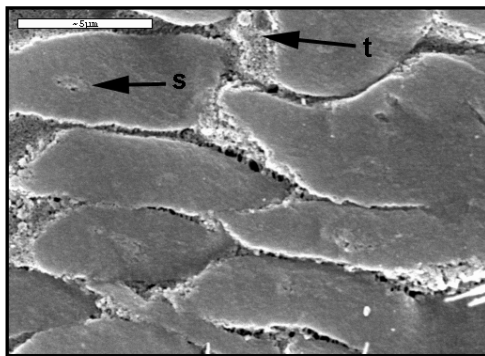


Figura 5.1.9. SEM. Calamar fresco. s: sarcoplasma central, t: tejido conjuntivo.



Figura 5.1.10. TEM. Calamar fresco. Detalle de fibra muscular. s: sarcoplasma central, m: miofibrillas, f: túbulo periférico, d: túbulo radial, e: túbulo central. 4640x



Figura 5.1.11. TEM. Calamar fresco. Detalle de fibra muscular. Espacio intermiofibrilar (flecha). 4640x

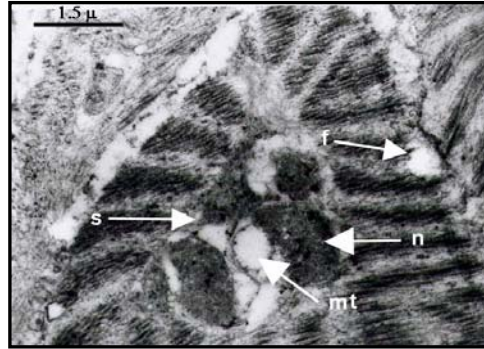


Figura 5.1.12. TEM. Calamar fresco. Detalle de fibra muscular. s: sarcoplasma central, n: núcleo, mt: mitocondria, f: túbulo periférico. 10400x

Ingredientes empleados en la formulación de la masa

Los ingredientes utilizados en las formulaciones de las pastas para rebozar el alimento substrato, son mayoritariamente harinas de trigo y de maíz (véase apartado 4.1.3). Hug-Iten *et al.* (1999) y Autio y Salmenkallio-Marttila (2001) observaron que el procesado de los cereales, incluyendo la molienda, produce grandes cambios microestructurales en sus proteínas, componentes de la pared celular y almidón, que pueden alterar la calidad del producto final. Por este motivo, se estudian primero los granos de trigo y de maíz y posteriormente, las harinas obtenidas a partir de estos granos. De este modo, se puede diferenciar los distintos componentes de los granos antes y después de la molienda y apreciar si este proceso afecta su estructura.

La figura 5.1.13 muestra una micrografía del endospermo de un grano de trigo. Se puede observar la estructura formada por gránulos de almidón en la matriz citoplasmática. Los gránulos de almidón de trigo se agrupan por tamaño en dos poblaciones diferentes: los gránulos más grandes son lenticulares y presentan un diámetro de 12-21 μm , y los gránulos más pequeños (3-6 μm de diámetro) son de forma redondeada. En la figura 5.1.14, se puede apreciar el hilum de un grano de almidón.

En la figura 5.1.15 se observa una micrografía del endospermo de un grano de maíz. Se visualiza la red proteica citoplasmática envolviendo y cementando los gránulos de almidón; también se observa la pared celular. Los gránulos de almidón del maíz son poligonales (figura 5.1.16) y presentan un tamaño aproximado de 3.5 μm .

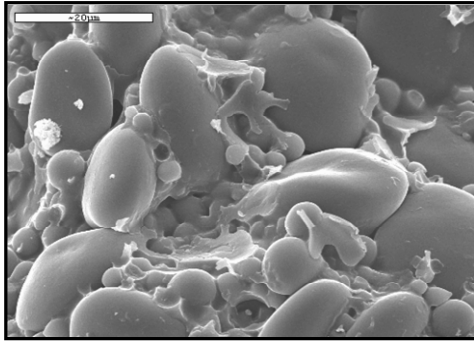


Figura 5.1.13. Cryo-SEM. Grano de trigo. Distintas poblaciones de gránulos de almidón.

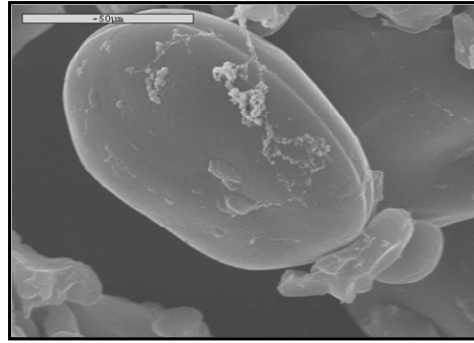


Figura 5.1.14. Cryo-SEM. Detalle del hilum de un gránulo de almidón de trigo

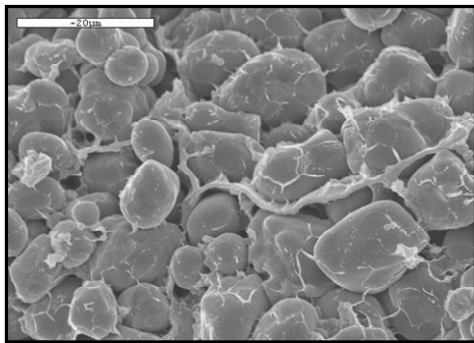


Figura 5.1.15. Cryo-SEM. Grano de maíz. Restos de pared celular.

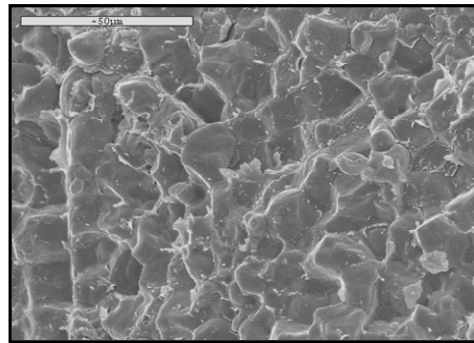


Figura 5.1.16. Cryo-SEM. Grano de maíz. Forma poligonal de los gránulos de almidón del maíz.

En las figuras 5.1.17, 5.1.18 y 5.1.19 se presenta la estructura de la mezcla de harinas de trigo y de maíz. En la figura 5.1.17 se diferencian las dos poblaciones de gránulos de almidón de trigo y los gránulos de almidón de maíz con forma poligonal. Las proteínas de ambos cereales constituyen la matriz amorfa que cementará todos los componentes de la masa, entre los que se encuentran los gránulos de almidón. En la harina (figuras 5.1.18 y 5.1.19), se puede observar fragmentos de paredes celulares del endospermo y partes de capa de aleurona que la etapa de molienda no ha logrado romper; aunque se trata de harina blanca, a nivel microscópico se observa que todavía tiene cierta cantidad de fibra en su

composición. La figura 5.1.20 ilustra el deterioro que sufren algunos gránulos de almidón durante la molienda de los granos.

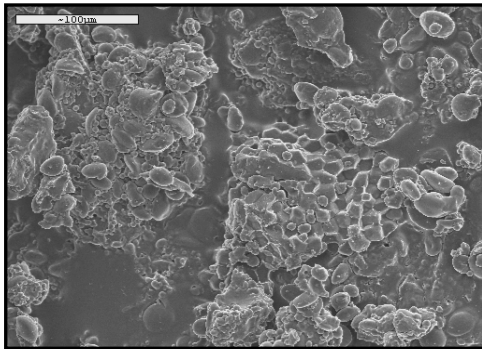


Figura 5.1.17. Cryo-SEM. Mezcla de harinas de trigo y de maíz.

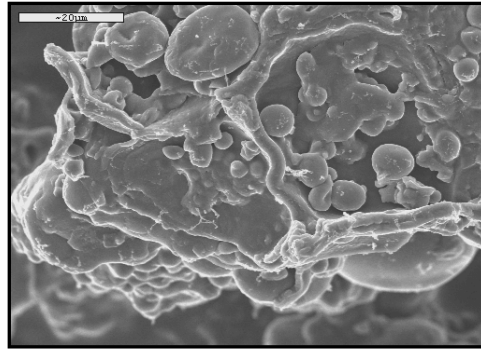


Figura 5.1.18. Cryo-SEM. Mezcla de harinas de trigo y de maíz. Detalle de pared celular.

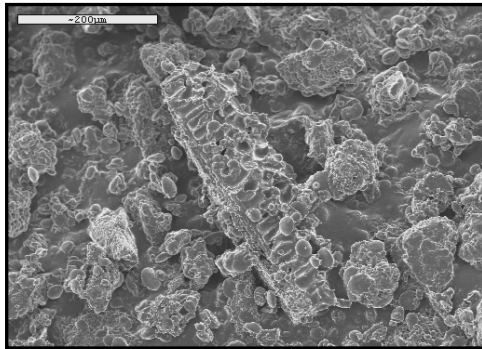


Figura 5.1.19. Cryo-SEM. Mezcla de harinas de trigo y de maíz. Detalle de capa de aleurona.

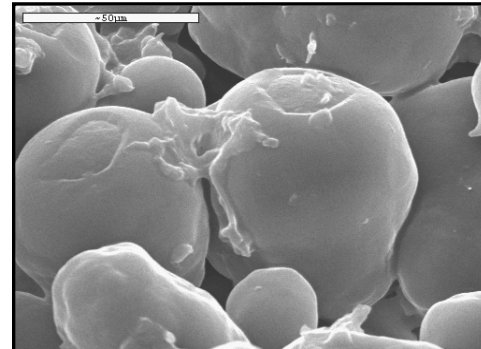


Figura 5.1.20. Cryo-SEM. Detalle de gránulos de almidón deteriorados tras la etapa de molienda.

5.1.2. INFLUENCIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN EN LA MICROESTRUCTURA.

Se realiza el estudio de la microestructura de los productos obtenidos a lo largo del proceso. Las etapas observadas por las distintas técnicas microscópicas son la etapa **pasta** (mezcla de los distintos ingredientes que constituyen la formulación del rebozado con agua), **prefritura** (30 s en aceite a 180°C), **congelación** (1 semana a -18°C), **fritura final** (fritura 3 min a 180°C de los productos que han sufrido prefritura y congelación) y **fritura control** (3 min a 180°C, sin prefritura ni congelación) según la figura 4.1 del apartado 4.2. La formulación elegida para el seguimiento de la microestructura es la formulación V (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) y las principales diferencias encontradas a nivel microestructural entre los productos obtenidos empleando las distintas formulaciones descritas en el apartado 4.1.3 se descubrirán en el apartado 5.1.3.

5.1.2.1. Microestructura de las pastas crudas.

En la figura 5.1.21 se observa por Cryo-SEM la **pasta** utilizada para rebozar; se pueden apreciar gránulos de almidón de trigo, y en menor proporción de maíz, homogéneamente distribuidos tras el mezclado de la harina con el agua y cementados por las proteínas de ambos cereales. También se puede apreciar en la **pasta** (figuras 5.1.22 y 5.1.23) la existencia de restos de paredes celulares; el efecto del mezclado no es lo suficientemente drástico como para degradar los componentes de la fibra en las pastas que constituyen el rebozado. En la figura 5.1.23, los elementos constituyentes de la **pasta** aparecen sueltos, debido a que el agua que los liga se elimina durante la preparación de la muestra para su observación por SEM.

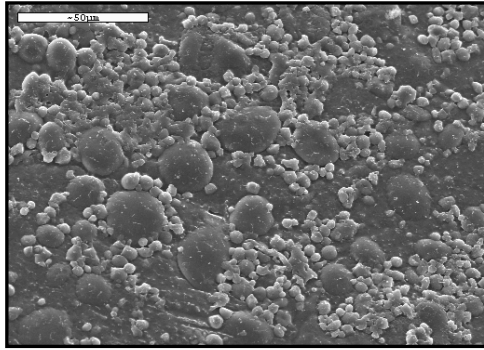


Figura 5.1.21. Cryo-SEM. **Pasta.** Distintas poblaciones de gránulos de almidón.

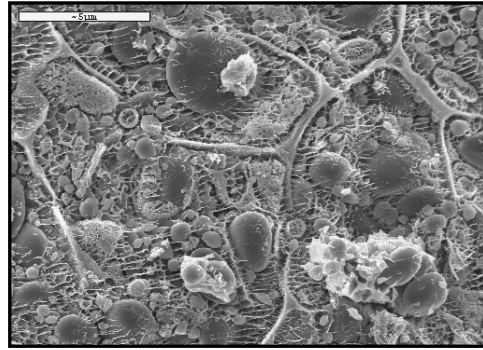


Figura 5.1.22. Cryo-SEM. **Pasta.** Paredes celulares.

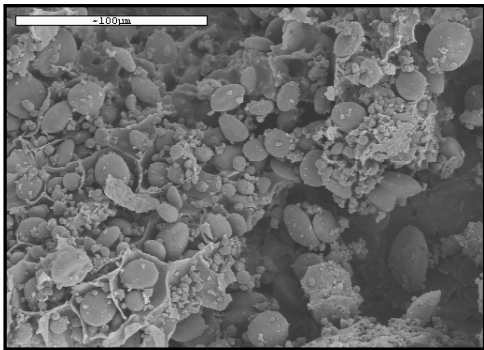


Figura 5.1.23. SEM. **Pasta.**

5.1.2.2. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de **prefritura**.

Tras la etapa de **prefritura**, los gránulos de almidón se encuentran parcialmente gelatinizados e inmersos en la matriz continua que forman las proteínas desnaturalizadas; la gelatinización de los gránulos de almidón así como la desnaturalización de la matriz proteica son consecuencia del calor al que son sometidos estos componentes durante la etapa de **prefritura**. La figura 5.1.24 corresponde a la zona de interfase entre el calamar substrato y la capa de

rebozado; en la zona de la micrografía donde se observa el calamar se aprecia el clásico artefacto eutéctico inherente a la técnica de preparación de muestras para Cryo-SEM. Este artefacto se hace más patente en muestras con mayor contenido en agua; el agua constituyente del calamar sólo se ha evaporado un 25% (véase apartado 5.5) durante el proceso de **prefritura** que somete a la muestra a calentamiento durante un período relativamente corto (30 s), por lo que el calamar sigue teniendo un contenido en agua elevado, que da lugar a la aparición del artefacto. Un hecho relevante en el producto prefrito es que hay fuertes interacciones en la zona de interfase entre la capa de rebozado y calamar, de modo que los componentes de ambos se encuentran íntimamente imbricados (figura 5.1.24). Presumiblemente, el período tan corto de **prefritura** no es suficiente para que el vapor de agua formado durante el calentamiento produzca una separación entre ambas capas.

En la zona de la capa de rebozado más cercana al medio de fritura (figura 5.1.25), se puede observar que los componentes estructurales de la pasta están recubiertos por aceite. El aceite no sólo alcanza la capa de rebozado (figura 5.1.26) sino que también penetra hasta las zonas del calamar cercanas al rebozado (figura 5.1.27). Durante la penetración del aceite de fritura, se produce un arrastre de otros componentes microestructurales de la pasta como los gránulos de almidón (figura 5.1.28), deformados por el tratamiento térmico de la etapa de **prefritura**. En las muestras que corresponden a capas más profundas de calamar, alejadas de la capa de rebozado, no se observa esta penetración masiva de grasa y almidón (figura 5.1.29).

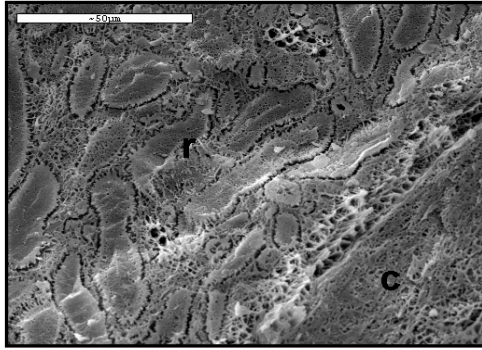


Figura 5.1.24. Cryo-SEM. Prefritura. Zona de interfase. C: calamar; r: capa de rebozado.

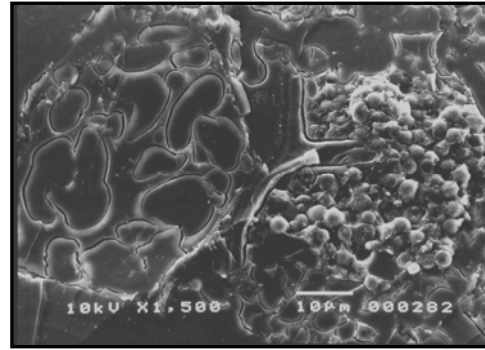


Figura 5.1.25. SEM. Prefritura. Capa de rebozado.

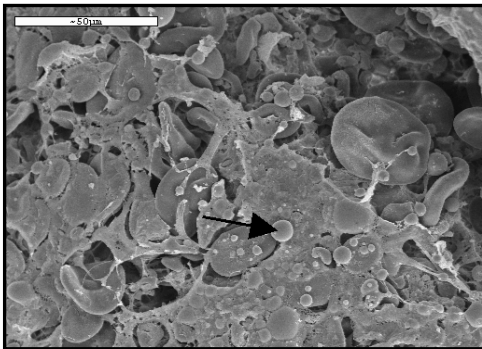


Figura 5.1.26. SEM. Prefritura. Capa de rebozado. Glóbulos de grasa (flecha).

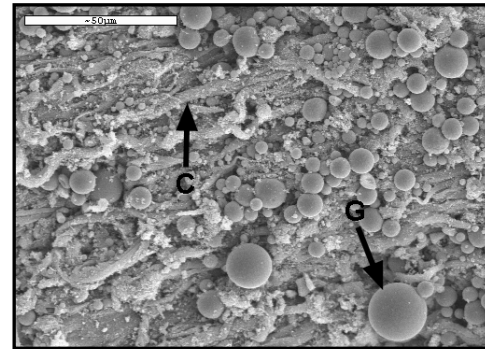


Figura 5.1.27. SEM. Prefritura. Superficie del calamar en contacto con la capa de rebozado. G: glóbulos de grasa, C: fibras de calamar.

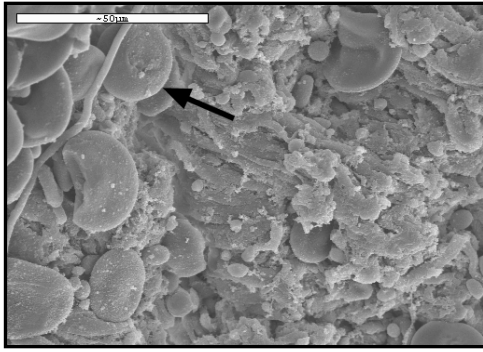


Figura 5.1.28. SEM. Prefritura. Superficie del calamar en contacto con la capa de rebozado. Gránulos de almidón (flecha).

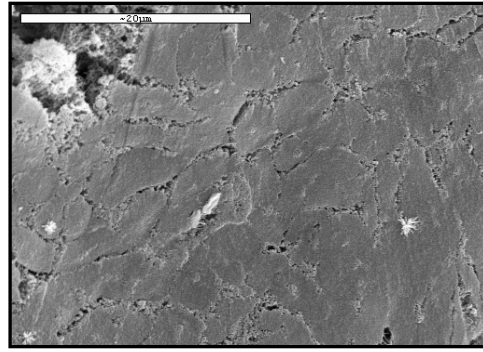


Figura 5.1.29. SEM. Prefritura. Zona del calamar más alejada de la masa. Ausencia de glóbulos de grasa.

La técnica de Microscopía Óptica (LM) permite visualizar el grado de deterioro de los gránulos de almidón sometidos a tratamiento térmico. La tinción con lugol (figuras 5.1.30 y 5.1.31) muestra los gránulos de almidón muy deformados; lo que también ha sido observado durante la fritura de patatas por Bouchón y Aguilera (2001). Las figuras 5.1.32 y 5.1.33 corresponden a muestras teñidas con sudán III, que colorea las membranas lipoproteicas que rodean los gránulos de almidón. De este modo, se puede apreciar que muchos gránulos de almidón presentan sus membranas parcialmente dañadas, lo que permite la salida de sus componentes (amilosa y amilopectina) al exterior del gránulo.

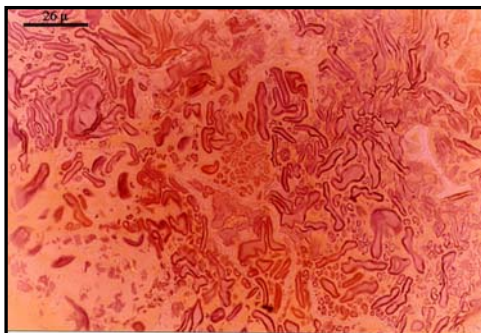


Figura 5.1.30. LM (lugol). **Prefritura.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 40x

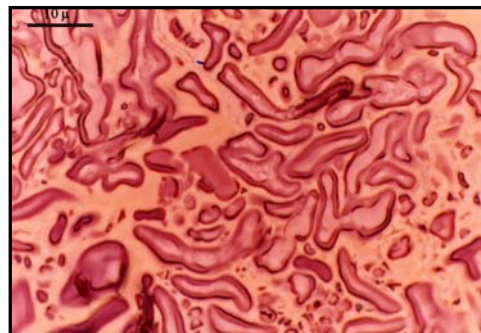


Figura 5.1.31. LM (lugol). **Prefritura.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 100x

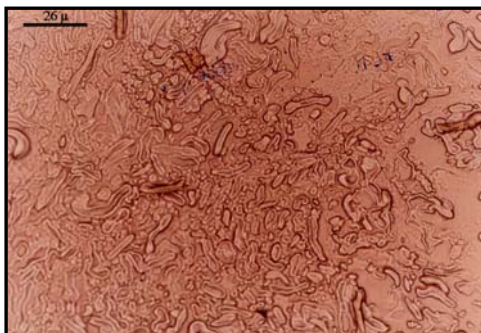


Figura 5.1.32. LM (sudán III). **Prefritura.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 40x

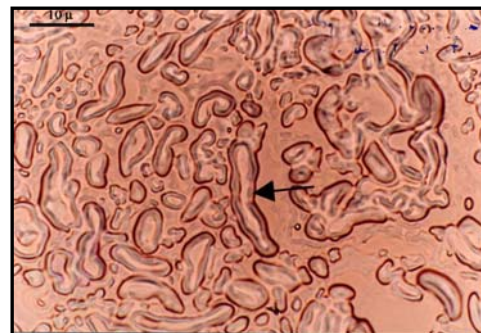


Figura 5.1.33. LM (sudán III). **Prefritura.** Capa de rebozado. Detalle de gránulos de almidón con paredes deterioradas (flecha). 100x

Por otro lado, tras la **prefritura**, el calamar substrato mantiene su disposición perpendicular de fibras formando bandas (figura 5.1.34), aunque aparecen huecos formados entre las fibras que no se observan en el calamar fresco. Estos huecos aparecerían como consecuencia de la contracción de las fibras del manto del calamar por calor durante la etapa de **prefritura**, contracción que ha sido observada por Kugino y Kugino (1994) en calamares cocidos en agua durante distintos tiempos. La figura 5.1.35 muestra estos huecos a mayor aumento.

Tanto el sarcoplasma como las miofibrillas se desdibujan durante la **prefritura** (figura 5.1.36), este fenómeno se debe a la desnaturalización de proteínas (Otwell y Giddings, 1980). Además, los espacios intermiofibrilares que estaban presentes en el calamar fresco (figura 5.1.11) prácticamente no se aprecian. Ando *et al.* (1999) relacionan estos cambios estructurales durante los tratamientos térmicos con el ablandamiento del músculo del calamar. Por otro lado, el paquete miofibrilar se separa del sarcolema (figura 5.1.37), dejando espacios que se visualizan por la técnica de Microscopía electrónica de Transmisión (TEM). Todo ello evidencia una degradación importante de la red sarcoplásmica. Stanley y Smith (1984) también detallan la destrucción de dicha red en algunas zonas de muestras de calamar cocido.

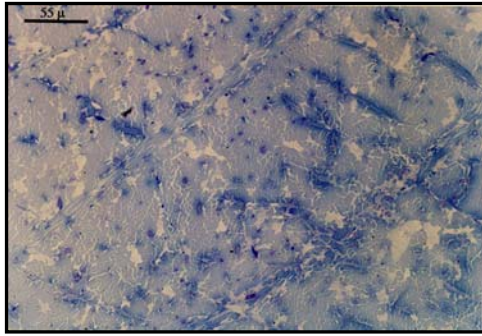


Figura 5.1.34. LM (azul de toluidina). **Prefritura.** Calamar substrato. 20x.

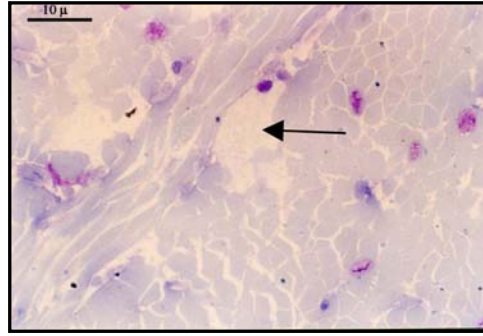


Figura 5.1.35. LM (azul de toluidina). **Prefritura.** Calamar substrato. Huecos (flecha). 100x.

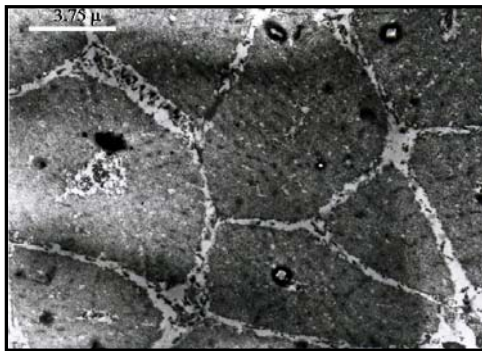


Figura 5.1.36. TEM. **Prefritura.** Calamar substrato. 4640x.

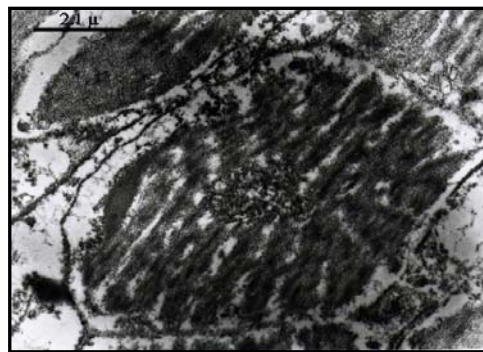


Figura 5.1.37. TEM. **Prefritura.** Calamar substrato. Detalle fibra. 7740x.

5.1.2.3. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de congelación.

La figura 5.1.38 y 5.1.39 muestran la capa de rebozado tras la etapa de **congelación**. Se observan los gránulos de almidón gelatinizados y deformados inmersos en una matriz proteica degradada por el efecto de la congelación; la visualización de la matriz proteica es posible debido a que las muestras se han teñido con azul de toluidina. En la figura 5.1.40, se puede observar el mismo tipo de muestra teñida con lugol lo que permite observar el contenido de los gránulos de almidón; aún después de la etapa de **congelación** se pueden apreciar en la parte inferior de la micrografía la presencia de células intactas. Las muestras teñidas con sudán III (específico de grasas) permite observar algunos gránulos de almidón totalmente teñidos; esto sería debido a la posible penetración de aceite hacia el interior del gránulo a través de su membrana dañada durante la prefritura (figura 5.1.41).

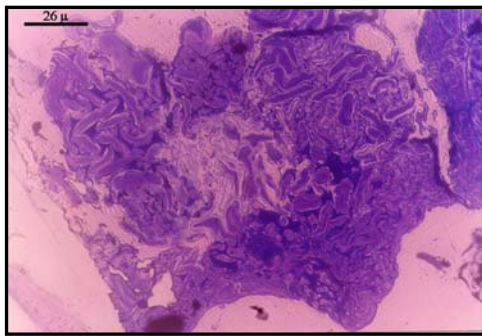


Figura 5.1.38. LM (azul de toluidina). **Congelación.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 40x

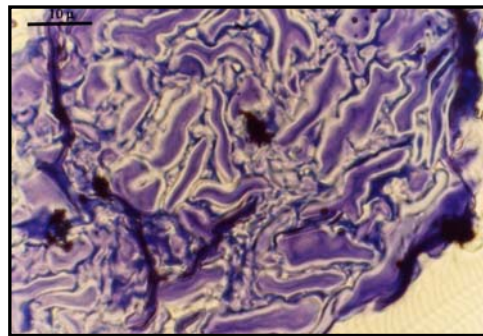


Figura 5.1.39. LM (azul de toluidina). **Congelación.** Capa de rebozado. Detalle gránulos de almidón. 100x

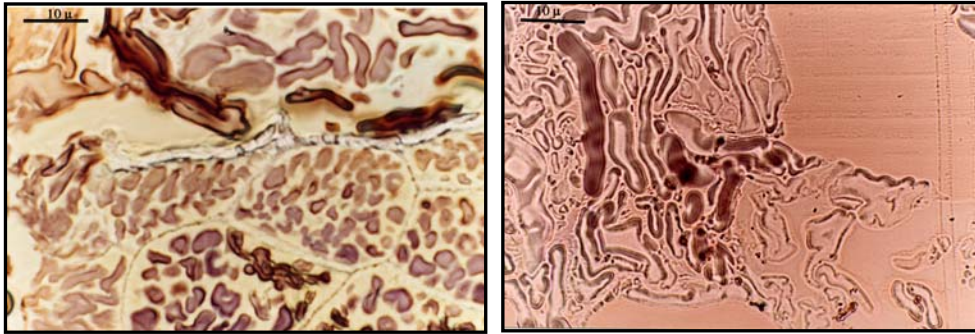


Figura 5.1.40. LM (lugol). **Congelación.** Capa de rebozado. Detalle gránulos de almidón. 100x
Figura 5.1.41. LM (sudán III). **Congelación.** Capa de rebozado. Detalle gránulos de almidón. 100x

Cuando se observa por Cryo-SEM el calamar substrato tras la etapa de **congelación** (figura 5.1.42) se aprecian “islotos” o zonas más artefactadas. Estas zonas donde se hace más patente la aparición del artefacto eutéctico, corresponderían a zonas más ricas en agua y en solutos, que se irían acumulando durante la sublimación de la muestra. Este hecho podría ser debido a que durante la formación de los cristales en el proceso de congelación podrían producirse roturas de los elementos estructurales del producto, que abrirían huecos a los que migraría preferentemente gran cantidad de agua que contiene el producto. Por otro lado, la formación de artefactos a modo de islotes también podría ser reflejo de la propia estructura heterogénea del calamar, en el cual las fibras se disponen a modo de paquetes longitudinales y transversales. Sin embargo, en las figuras 5.1.43 y 5.1.44 se puede ver todavía la disposición de las fibras tras la **congelación**, a pesar de los huecos tan grandes que se forman y que dan idea del gran deterioro sufrido en la estructura del producto. Otwell y Giddings (1980) estudiaron que la congelación lenta y los prolongados períodos de congelación son responsables de la deshidratación y compresión de fibras debido al crecimiento de los cristales de hielo. El almacenamiento en congelación provoca deshidratación parcial de los espacios intermiofibrilares permitiendo que los miofilamentos se compacten, se endurezcan y se entrecrucen, lo que se observa a

nivel ultraestructural en la figura 5.1.45. En la figura 5.1.46, se puede observar que el espacio entre dos fibras aumenta tras esta etapa por degradación del tejido conjuntivo que originalmente había entre ellas y del sarcolema. También Stanley y Hultin (1982) evidenciaron la pérdida de sarcolema durante la congelación en músculo de calamar.

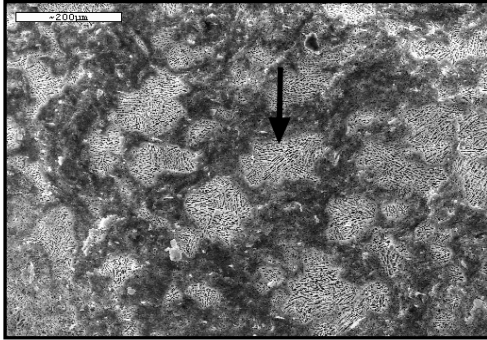


Figura 5.1.42. Cryo-SEM. **Congelación.** Calamar substrato.

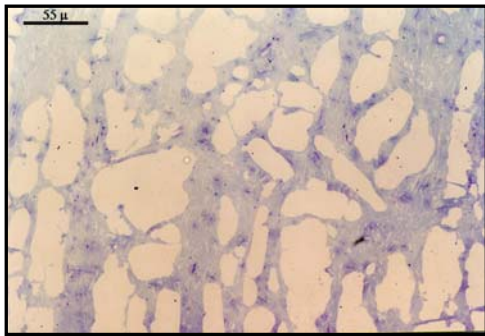


Figura 5.1.43. LM (azul de toluidina). **Congelación.** Calamar substrato. 20x

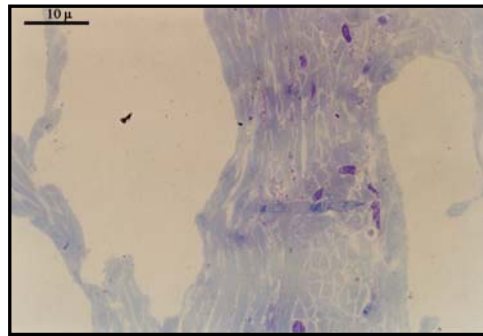


Figura 5.1.44. LM (azul de toluidina). **Congelación.** Calamar substrato. 100X

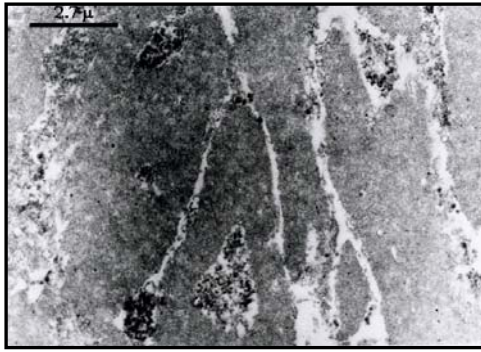


Figura 5.1.45. TEM. Congelación. Calamar substrato. 6040x.

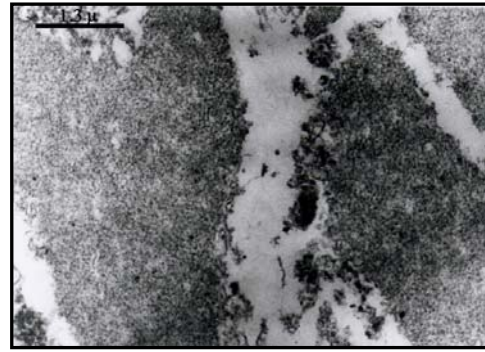


Figura 5.1.46. TEM. Congelación. Calamar substrato. 12500x

Otras estructuras microscópicas, como los microtúbulos, mitocondrias, etc que se visualizan en el calamar fresco (5.1.10-5.1.12), no es posible detectarlos en esta etapa debido a la desnaturalización que se produce en la prefrutura y en la congelación.

5.1.2.4. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de fritura final.

Las figuras 5.1.47 y 5.1.48, correspondientes a las técnicas de Cryo-SEM y SEM, respectivamente, muestran la zona correspondiente a la capa de rebozado tras la etapa de **fritura final**. En ellos aparecen los gránulos de almidón masivamente gelatinizados y contraídos después del tratamiento térmico al que son sometidos. La figura 5.1.49 muestra en sección transversal los gránulos de almidón completamente achatados y compactados entre ellos y con la matriz proteica, aunque estas zonas más compactadas coexisten con otras donde se han generado alvéolos por los que preferentemente se produciría la penetración del aceite. Este aceite que penetra durante el proceso de **fritura final** se observa entremezclado con el resto de componentes de la capa de rebozado frita en la figura 5.1.50.

El lugol, como se ha comentado anteriormente, tiñe los componentes del almidón y permite distinguir la integridad del gránulo. En la figura 5.1.51 se observan gránulos de almidón que han vertido al exterior gran parte de sus componentes, por lo que indican un alto grado de gelatinización.

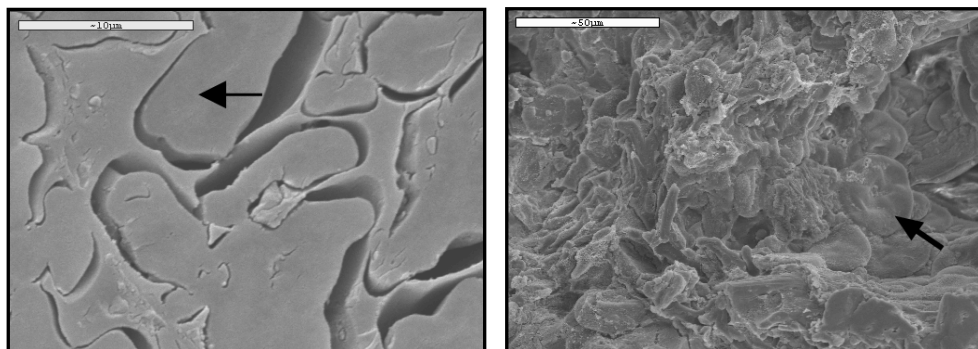


Figura 5.1.47. Cryo-SEM. **Fritura final.** Capa de rebozado. Gránulos contraídos y deformados. **Figura 5.1.48.** SEM. **Fritura final.** Capa de rebozado. Gránulos deformados.

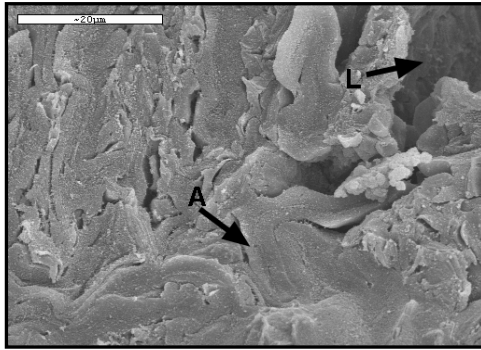


Figura 5.1.49. SEM. **Fritura final.** Capa de rebozado. A: gránulos de almidón. L: Alvéolos.

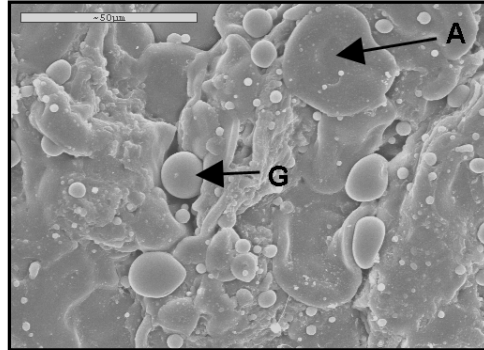


Figura 5.1.50. SEM. **Fritura final.** Capa de rebozado. A: Gránulos de almidón. G: Glóbulos de grasa.

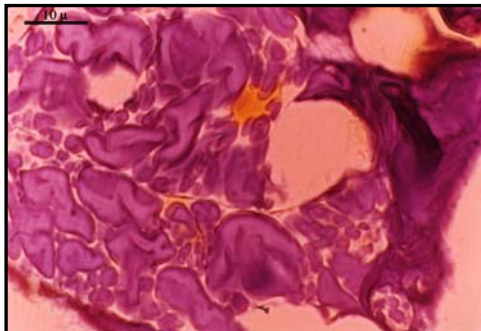


Figura 5.1.51. LM (lugol). **Fritura final.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 100x

En cuanto al calamar substrato, tras la etapa de **fritura final** no se ha producido penetración masiva de aceite en las zonas más internas (figuras 5.1.52 y 5.1.53), pero sí se observan modificaciones en su tejido muscular. Las fibras aparecen más encogidas que en el calamar crudo (véase figura 5.1.9), con los sarcoplasmas centrales visibles pero alterados, ya que se ha producido la coagulación de las proteínas sarcoplásmicas que lo componen.

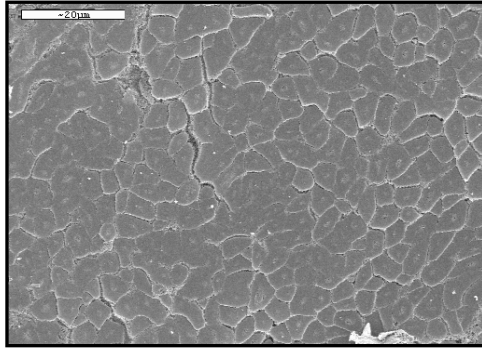


Figura 5.1.52. SEM. **Fritura final.** Calamar substrato. Sección transversal de fibras musculares.

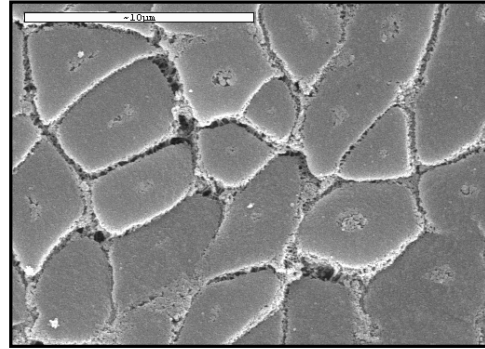


Figura 5.1.53. SEM. **Fritura final.** Calamar substrato. Sección transversal de fibras musculares. Detalle

A nivel ultraestructural, lo más destacable es la pérdida de parte del paquete miofibrilar (Otwell y Giddings, 1980), así como el evidente deterioro del tejido conjuntivo, que entre algunas fibras es prácticamente inexistente. Por otra parte, hay que resaltar (figura 5.1.55) que aunque todavía se aprecian restos del sarcolema tras la **fritura final**, éste se observa completamente separado de las miofibrillas por retraimiento de todo el contenido celular. Estas modificaciones en la estructura del calamar por efecto del cocinado ya han sido descritas por Otwell y Giddings (1980) en calamar cocido por inmersión en agua a 100°C durante 1 minuto. Además, también se observa que en el calamar frito se produce un empaquetamiento de las fibras por contracción como consecuencia de la evaporación de agua durante la etapa de fritura. Esta evaporación de agua se hace muy evidente por la técnica de LM ya que los abundantes huecos que se observaban tras la etapa de congelación se minimizan durante la **fritura final** (compárese figuras 5.1.43 y 5.1.44 correspondientes a la etapa de **congelación** con 5.1.56 y 5.1.57 correspondientes a la **fritura final**). Cabe destacar que todavía se mantiene la disposición original de las fibras del calamar (figura 5.1.56) que tras la congelación se observaba con dificultad (5.1.43). Esta pérdida de agua a lo largo del proceso de elaboración del calamar rebozado también ha sido observada en este trabajo a nivel macroscópico (apartado 5.5.2).

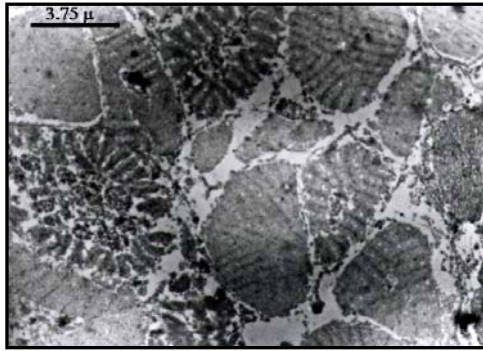


Figura 5.1.54. TEM. **Fritura final.** Calamar substrato. Deterioro de fibras. 4600x

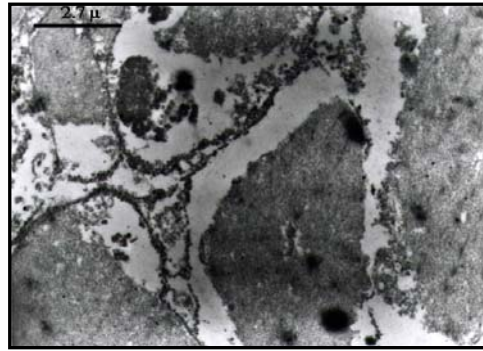


Figura 5.1.55. TEM. **Fritura final.** Calamar substrato. Detalle. 6000x

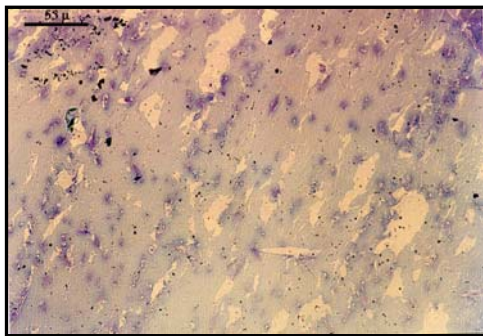


Figura 5.1.56. LM (azul de toluidina). **Fritura final.** Calamar substrato. Huecos. 20x

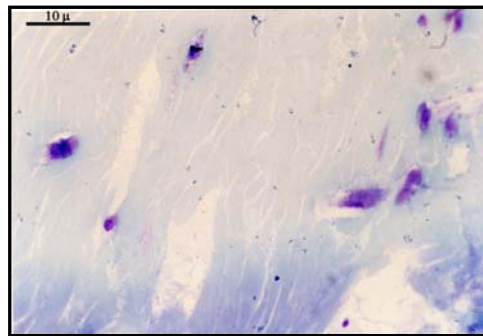


Figura 5.1.57. LM (azul de toluidina). **Fritura final.** Calamar substrato. 100x

5.1.2.5. Microestructura de los productos obtenidos tras la etapa de fritura control.

Como ya se ha explicado en el apartado 4.2, con el objetivo de tener un producto de referencia, se estudia un **control** (calamar sometido a fritura inmediatamente tras su rebozado). Tras esta etapa de fritura, la capa de rebozado aparece invadida por glóbulos de grasa (figura 5.1.58); no se observa un aspecto diferente a la capa de rebozado sometida a la etapa de **fritura final**.

Sin embargo, por la técnica de LM, se puede apreciar una diferencia importante entre **fritura final** y **fritura control** en el grado de deterioro de los gránulos de almidón. La figura 5.1.59 correspondiente a **fritura control** muestra, mediante tinción con lugol, el contenido de los gránulos de almidón casi completamente recluido en el interior de éstos mientras que en la **fritura final** (véase figura 5.1.51) se apreciaba la salida de los componentes del almidón al exterior del gránulo.

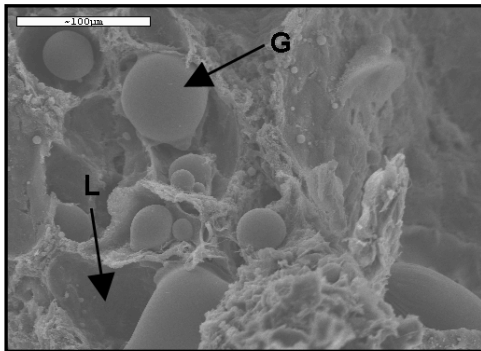


Figura 5.1.58. SEM. **Fritura control.** Capa de rebozado. Penetración masiva de aceite. L: alvéolos, G: glóbulos de grasa.

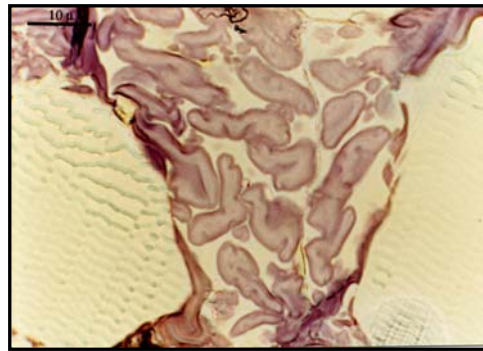


Figura 5.1.59. LM (lugol). **Fritura control.** Capa de rebozado. Gránulos de almidón. 100x

El calamar sustrato sometido a **fritura control** (figura 5.1.60) presenta un nivel de deterioro semejante al **frito final** (figuras 5.1.52 y 5.1.53). Este hecho también se evidencia por la técnica de LM, al comparar las figuras 5.1.61 y 5.1.62

(**fritura control**) con las figuras 5.1.56 y 5.1.57 (**fritura final**). Sin embargo, a nivel ultraestructural se aprecia un deterioro más visible en el producto que ha sido sometido a prefritura y congelación (ver figura 5.1.55 correspondiente a **fritura final**) que en los productos de referencia o **fritos control** (figura 5.1.63).

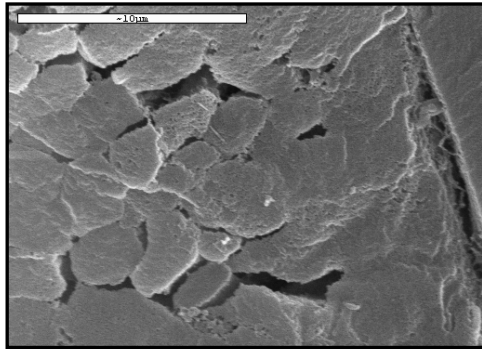


Figura 5.1.60. SEM. **Fritura control.** Calamar substrato.

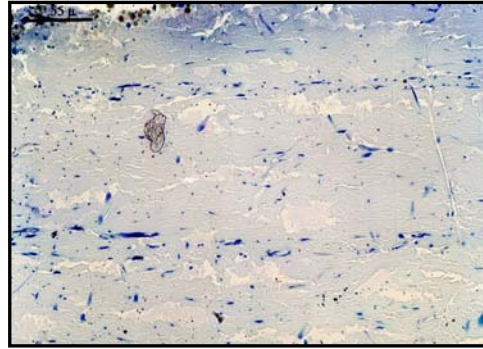


Figura 5.1.61. LM (azul de toluidina). **Fritura control.** Calamar substrato. 20x

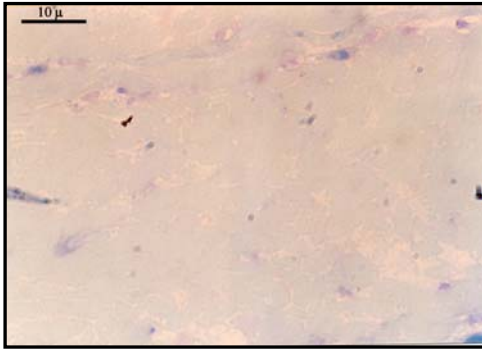


Figura 5.1.62. LM (azul de toluidina). **Fritura control.** Calamar substrato. 100x

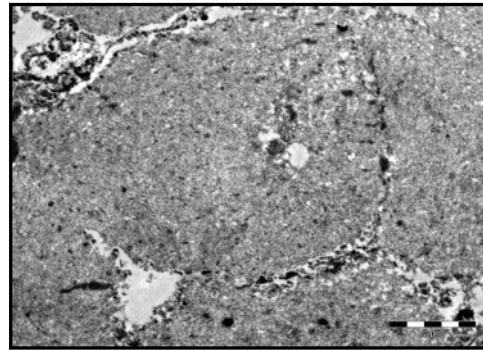


Figura 5.1.63. TEM. **Fritura control.** Calamar substrato. 2200x

Las estructuras que conforman el sarcoplasma central, mitocondrias y núcleo, no se visualizan con claridad tanto en el calamar **frito final** como en el calamar **frito control** debido a la coagulación de las proteínas como consecuencia del tratamiento térmico al que es sometido el alimento.

5.1.3. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA MICROESTRUCTURA

A continuación, se compara el efecto que tiene el empleo de las distintas formulaciones en la microestructura, atendiendo a algunas características importantes de los productos rebozados. Las formulaciones estudiadas son **formulación I** (sólo harina de trigo), **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **formulación III** (harina de trigo y de maíz (6%)) **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) según la tabla 4.1 en el apartado 4.1.3.

Una de las cualidades a mejorar en calamares rebozados congelados es la obtención de un producto prefrito que tenga total adherencia entre la capa de rebozado y el alimento substrato. La adherencia capa de rebozado-substrato es fundamental para la posterior manipulación y comercialización en congelación del alimento. A modo de ejemplo, en la figura 5.1.64, se observa para un producto prefrito la interfase entre la capa de rebozado y el calamar substrato cuando se emplea la **formulación II** (harina de trigo y harina de maíz); las dos capas aparecen totalmente imbricadas. La figura 5.1.65 presenta la interfase de un producto elaborado con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), en la cual también se aprecia la unión entre las dos capas, aunque no hay un grado de interacción tan alto entre rebozado y substrato, como en el caso de la **formulación II**. El impulsor presente en la **formulación V** no llega a producir la separación entre las dos capas. Todas las formulaciones estudiadas tras la etapa de prefritura presentan un grado de adherencia bueno entre la capa de rebozado y el calamar lo que garantiza una manipulación sencilla del producto.

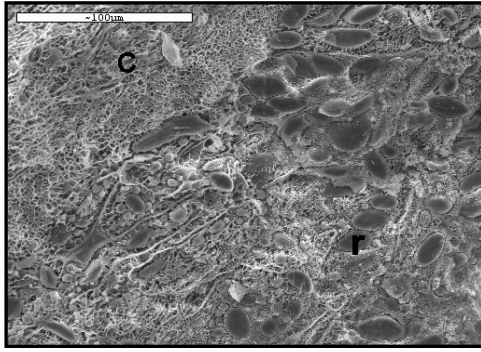


Figura 5.1.64. Cryo-SEM. Prefritura. Zona interfase. **Formulación II.** C: calamar; r: capa de rebozado.

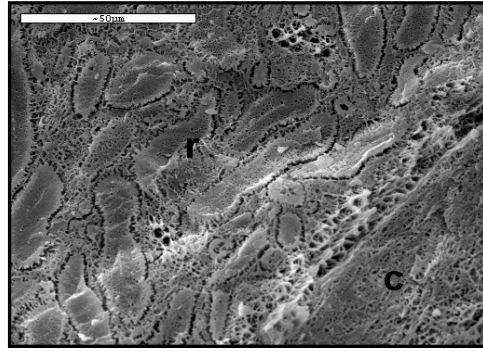


Figura 5.1.65. Cryo-SEM. Prefritura. Zona interfase. **Formulación V.** C: calamar; r: capa de rebozado.

La figura 5.1.66 muestra la zona correspondiente a la capa de rebozado de un producto frito final elaborado con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). Se distingue la presencia de alvéolos formados durante el proceso de fritura a causa del impulsor que lleva la masa en su formulación (figura 5.1.67). La pérdida de agua a través de los alvéolos junto con la consolidación del conjunto de los elementos estructurales, fundamentalmente de la matriz proteica que se produce durante la fritura, se traducirían en la aparición de un atributo de calidad típico de los rebozados congelados, como es la crujibilidad. El CO_2 formado a partir del impulsor durante la fritura, junto con el vapor de agua desprendido darían lugar a estos canales, lo que macroscópicamente se traduce en la aparición de algunos atributos texturales típicos de los rebozados, como la esponjosidad a la que el consumidor está habituado y asocia como característica de calidad. Además por estos canales se produce una mayor penetración de aceite que se traduce en el sabor característico de un producto frito y por tanto, en una mayor aceptación por parte del consumidor.

Precisamente, otra característica importante de los productos rebozados es el contenido en grasa lo que a nivel microestructural se relaciona con la

observación de la penetración de aceite de fritura. La penetración del aceite se puede evaluar, tras fijación con tetróxido de osmio a nivel microestructural por la técnica de SEM; lo que se muestra en las figuras 5.1.68, 5.1.69, 5.1.70, 5.1.71 para las **formulaciones I, II, III y IV**, respectivamente. En ellas se observa que la penetración del aceite de fritura no es tan masiva como en el producto elaborado con la **formulación V**, que contiene impulsor y genera alvéolos, canales de entrada del medio de fritura. El aceite no sólo alcanza la capa de rebozado (figura 5.1.67), sino que cuando se utiliza la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) alcanza hasta el alimento substrato (figura 5.1.72). En la figura 5.1.73, se presenta a modo de ejemplo, la zona de calamar-substrato elaborado con la **formulación I** (sólo harina de trigo), en la que apenas hay penetración de aceite; lo mismo sucede con el resto de **formulaciones II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **III** (harina de trigo y de maíz (6%)) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal).

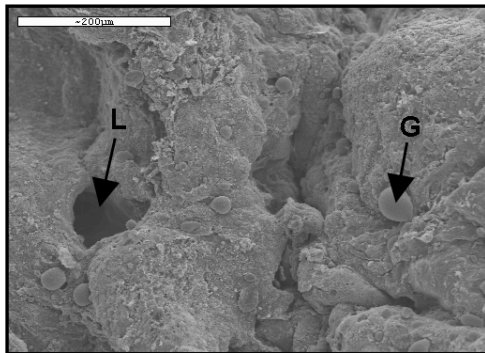


Figura 5.1.66. SEM. Fritura final. Capa de rebozado. **Formulación V.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

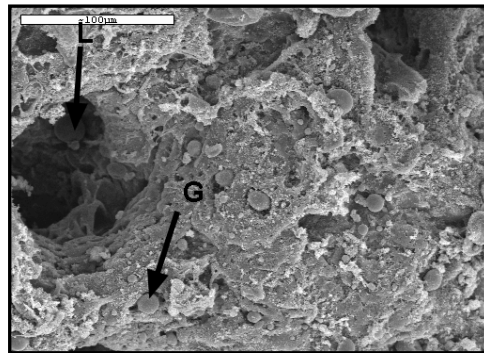


Figura 5.1.67. SEM. Fritura final. Capa de rebozado. **Formulación V.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

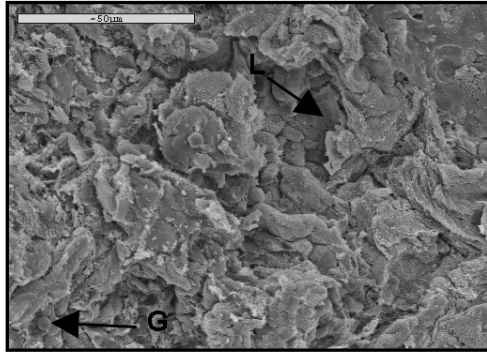


Figura 5.1.68. SEM. Fritura final. Capa de rebozado. **Formulación I.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

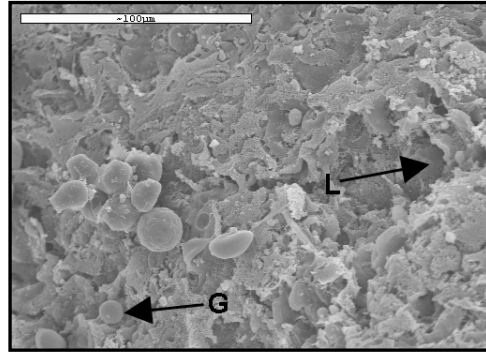


Figura 5.1.69. SEM. Fritura final. capa de rebozado. **Formulación II.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

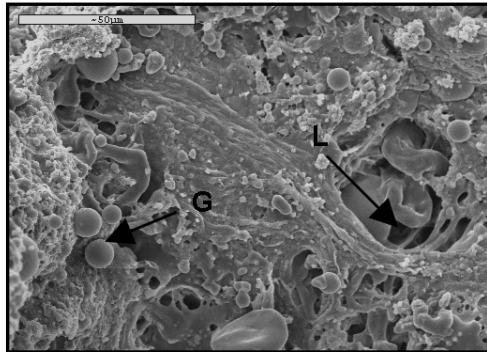


Figura 5.1.70. SEM. Fritura final. Capa de rebozado. **Formulación III.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

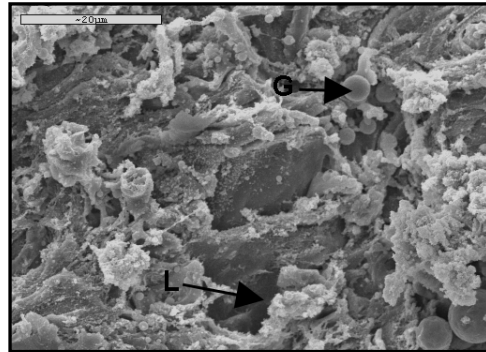


Figura 5.1.71. SEM. Fritura final. Capa de rebozado. **Formulación IV.** G: glóbulos de grasa. L: alvéolos.

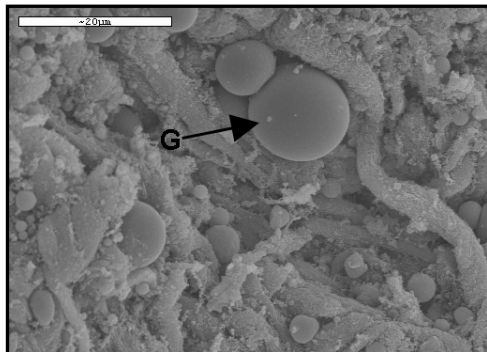


Figura 5.1.72. SEM. Fritura final. Calamar substrato. **Formulación V.** G: glóbulos de grasa.

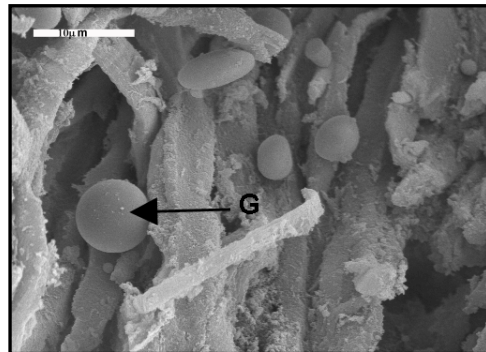


Figura 5.1.73. SEM. Fritura final. Calamar substrato. **Formulación I.** G: glóbulos de grasa.

Así como la presencia del impulsor (**formulación V**) es determinante para la generación de alvéolos, lo que se traduce en una mayor penetración del medio de fritura, la presencia de sal (**formulación IV**) ejerce un efecto notable en la estructura de la matriz proteica. La figura 5.1.74 presenta un producto congelado elaborado con la **formulación IV** que presenta sal entre sus componentes; destaca el estado de la matriz proteica, parcialmente desnaturalizada y solubilizada por el efecto de la sal. Los gránulos de almidón aparecen sueltos y no están unidos a dicha matriz (figura 5.1.75). Este efecto puede estar magnificado por el tratamiento térmico al que está sometido el producto en esta etapa.

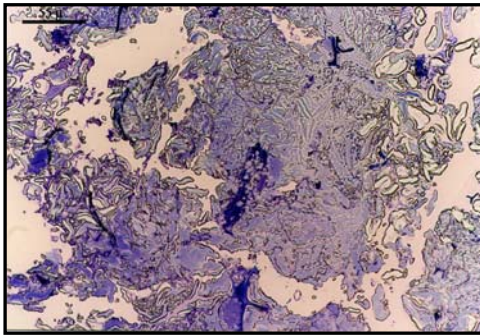


Figura 5.1.74. LM (azul de toluidina). Congelación. Capa de rebozado. **Formulación IV.** A: gránulos de almidón. 20x

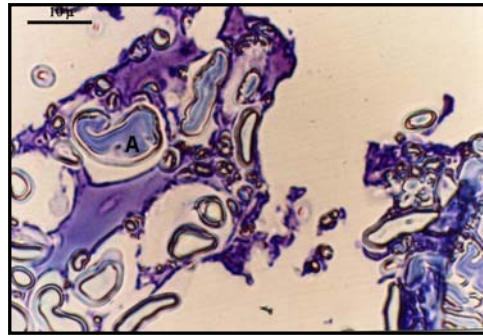


Figura 5.1.75. LM (azul de toluidina). Congelación. Capa de rebozado. **Formulación IV.** A: gránulos de almidón. 100x

5.1.4. EVOLUCIÓN DE LAS DIMENSIONES DE LOS GRÁNULOS DE ALMIDÓN. ANÁLISIS DE IMAGEN.

Se realiza el estudio de las dimensiones de los gránulos de almidón que se visualizan en imágenes obtenidas por la técnica de microscopía electrónica de barrido a bajas temperaturas (Cryo-SEM). Los datos se procesan mediante un análisis de la varianza (ANOVA) en el que se evalúan dos factores: factor etapa del proceso y factor formulación. El factor formulación presenta cuatro niveles: **formulación I** (sólo harina de trigo), **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). El factor etapa presenta cinco niveles: **pasta (P)**, **prefritura (PF)**, **congelación (RC)**, **fritura final (Ff)** y **fritura control (Fc)**. Las variables respuesta estudiadas son: diámetro mayor (**a**) y diámetro menor (**b**) de distintos gránulos de almidón. A partir de estas variables se calculan otros parámetros como son la **excentricidad** y el **área**.

Adicionalmente se ha realizado también un estudio de las dimensiones de los gránulos de almidón de las materias primas con la intención de obtener unos datos de partida.

5.1.4.1. Estudio de las dimensiones de los gránulos de almidón en las materias primas de las distintas formulaciones.

Se estudian las harinas de trigo y de maíz como materias primas utilizadas para preparar las formulaciones utilizadas para rebozar. El trigo contiene gránulos de almidón de distinto tamaño (figura 5.1.76); se diferencian dos poblaciones cuyo tamaño estimado como área es de $635 \mu\text{m}^2$ para la población grande y de $70 \mu\text{m}^2$ para la población pequeña. La harina de trigo es el componente mayoritario en todas las formulaciones (véase tabla 4.1). La harina de trigo utilizada está formada

por una mezcla de harinas: harina de panificación (HP), harina de fuerza (HF) y harina tratada térmicamente (HTT); los tamaños de las poblaciones de sus gránulos de almidón se presentan igualmente en la figura 5.1.76.

El maíz también contiene gránulos de almidón de distinto tamaño; la población grande presenta un área de $501.9 \mu\text{m}^2$ y la población pequeña de $48.4 \mu\text{m}^2$. Aunque los gránulos de almidón aportados por la harina de maíz (figura 5.1.76) tienen unas dimensiones medias algo inferiores a los de las harinas de trigo, estadísticamente no presenta diferencias significativas. Por este motivo, en los estudios de la evolución de los gránulos de almidón en las distintas etapas de elaboración de rebozados congelados, a partir de aquí no se realizará una distinción entre su origen (trigo o maíz) pero sí entre el tamaño de sus poblaciones (población grande o población pequeña).

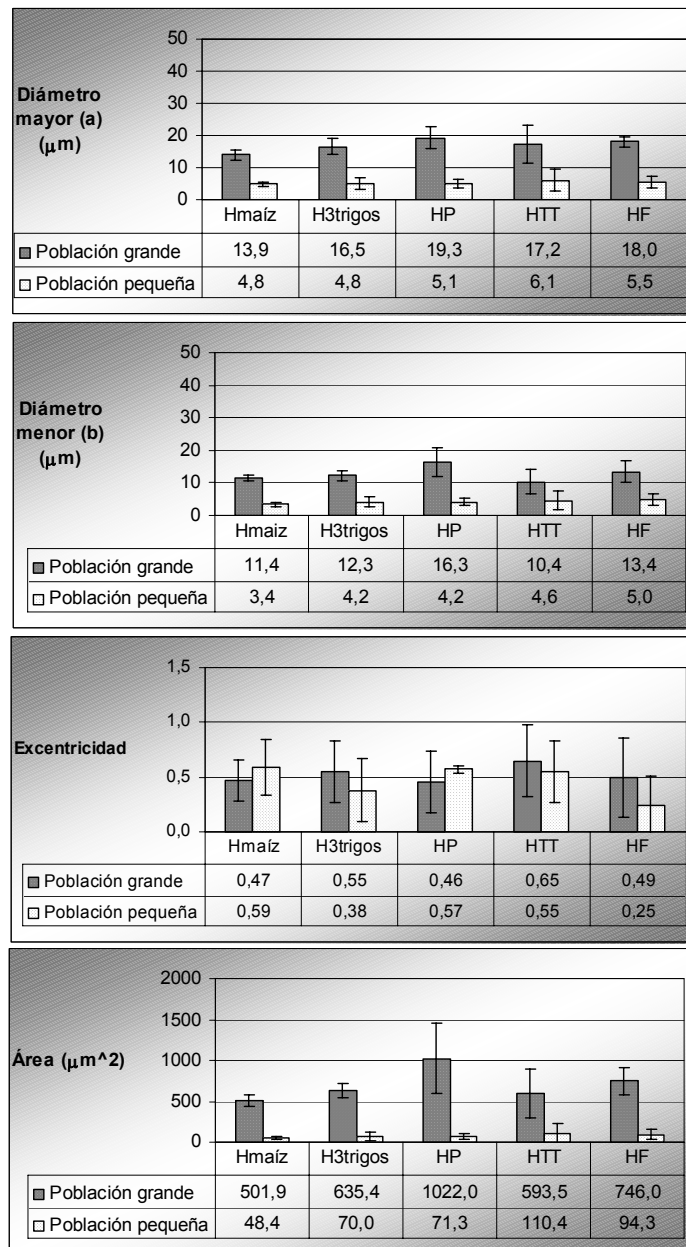


Figura 5.1.76. Dimensiones de los gránulos de almidón de las harinas empleadas como materias primas en las formulaciones destinadas a la elaboración de calamares rebozados congelados. Hmaíz: harina de maíz; H3trigos: mezcla de HP, HTT, HF; HP: harina de panificación; HTT: harina tratada térmicamente; HF: harina de fuerza.

5.1.4.2. Influencia del proceso en las dimensiones de los gránulos de almidón

En la figura 5.1.77, se presentan los valores medios de los diámetros **a** y **b**, **excentricidad** y **área** para la **formulación I** (sólo harina de trigo) en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados. Las dos poblaciones que forman los gránulos de almidón (que ya se comentaron en apartado 5.1.4.1) siguen distinguiéndose a lo largo del proceso. Sin embargo, a la población pequeña no parece afectarle tanto el proceso como a la población grande. Se observa que el diámetro mayor (**a**) disminuye al ser sometida la muestra a **prefritura**, que produce una contracción en los gránulos de almidón de ambas poblaciones. Dicho fenómeno se atribuye a una pérdida masiva de agua acompañada de un arrastre de solutos, cuando se introduce el alimento en aceite caliente. Al congelar la muestra este parámetro aumenta, que puede ser debido a una desnaturalización de proteínas que hace que aumente el volumen del gránulo. Durante la **fritura final**, se produce una ligera disminución del diámetro mayor (**a**). El producto **frito control** sufre una mayor contracción.

Aunque la dimensión **b** evoluciona en el mismo sentido que la **a** no parecen afectarle tanto los cambios de temperaturas a los que se someten las muestras en el proceso de elaboración, y es también la dimensión menor.

La **excentricidad** (véase apartado 4.3.5) es función de los valores de **a** y de **b**; cuando un gránulo es totalmente esférico, la **excentricidad** alcanza valores próximos a 0, si el gránulo presenta una forma achatada la excentricidad está más cercana a 1. Así pues, un aumento de los valores de la **excentricidad** hacia la unidad se podría considerar como un estimador de la deformación de los gránulos de almidón. Dado que no es posible realizar una medida tridimensional de los gránulos de almidón a partir de las micrografías, se considera que el área determinada a partir de los diámetros mayor (**a**) y menor (**b**) es un estimador del tamaño de dichos gránulos.

Como muestran los resultados, la muestra sometida a **prefritura** posee los gránulos de almidón más excéntricos, más deformados, que los valores que presenta la etapa **pasta**. La **congelación** aumenta la excentricidad, y particularmente en la población pequeña de los gránulos. Los gránulos de almidón del producto **frito control** son algo menos deformes. Hay diferencias significativas entre la etapa **pasta** y el resto de etapas. Los gránulos de almidón del producto **frito final** siguen deformados aunque los del producto **frito control** presentan un nivel menor de deformación y también un menor tamaño estimado a través de su área. Así pues, el procesado influye decisivamente en la deformación y en el tamaño de los gránulos de almidón.

Los valores medios de los parámetros estudiados para la **formulación II** (harina de trigo y de maíz) se presentan en la figura 5.1.3. Los gránulos de almidón de la **formulación II** (harina de trigo y de maíz) se comportan de forma similar que los de la **formulación I** (sólo harina de trigo) durante las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados. En la etapa de **fritura final**, los gránulos recuperan su forma inicial, haciéndose más redondeados. El producto frito final presenta unos valores del diámetro mayor y del diámetro menor del mismo orden que el producto **frito control**. Al igual que sucede con la **formulación I** (sólo harina de trigo), la población de gránulos pequeños presenta menos diferencias entre las muestras de las distintas etapas que la población de gránulos grandes.

En la figura 5.1.4, se pueden observar los valores medios de las dimensiones de los gránulos de almidón para la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal). En el producto elaborado con dicha formulación, al contener sal, es de esperar que se produzca una disolución de compuestos lipoproteicos de la membrana que recubre el gránulo de almidón. En este sentido, se entiende que la

prefritura produzca mayor deformación que en las otras formulaciones y que la **fritura final** tampoco ayude a la recuperación de las dimensiones iniciales.

En la figura 5.1.5, se presentan los resultados obtenidos para la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). El efecto del agente impulsor no tiene un impacto notable en la deformación y el tamaño de los gránulos de almidón y presenta una pauta de evolución análoga a la de la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal).

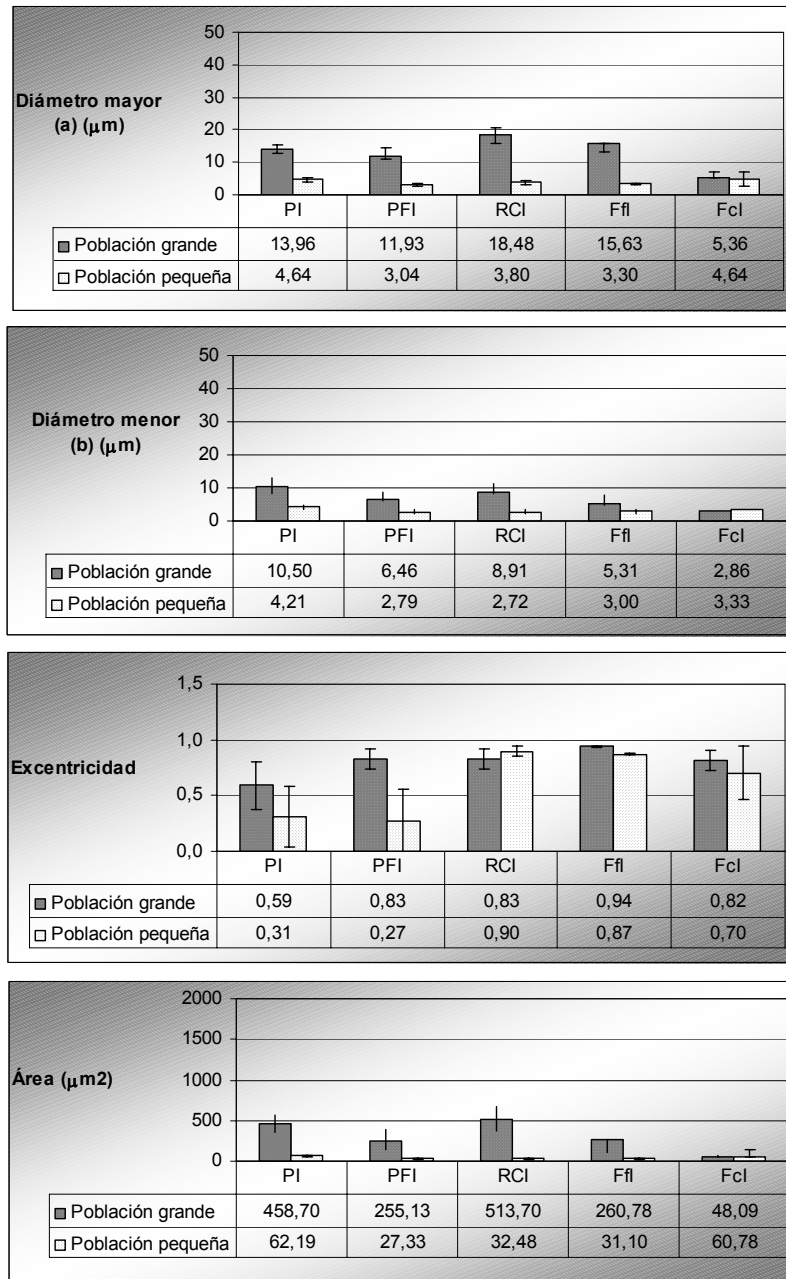


Figura 5.1.77. Dimensiones de los gránulos de almidón de la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

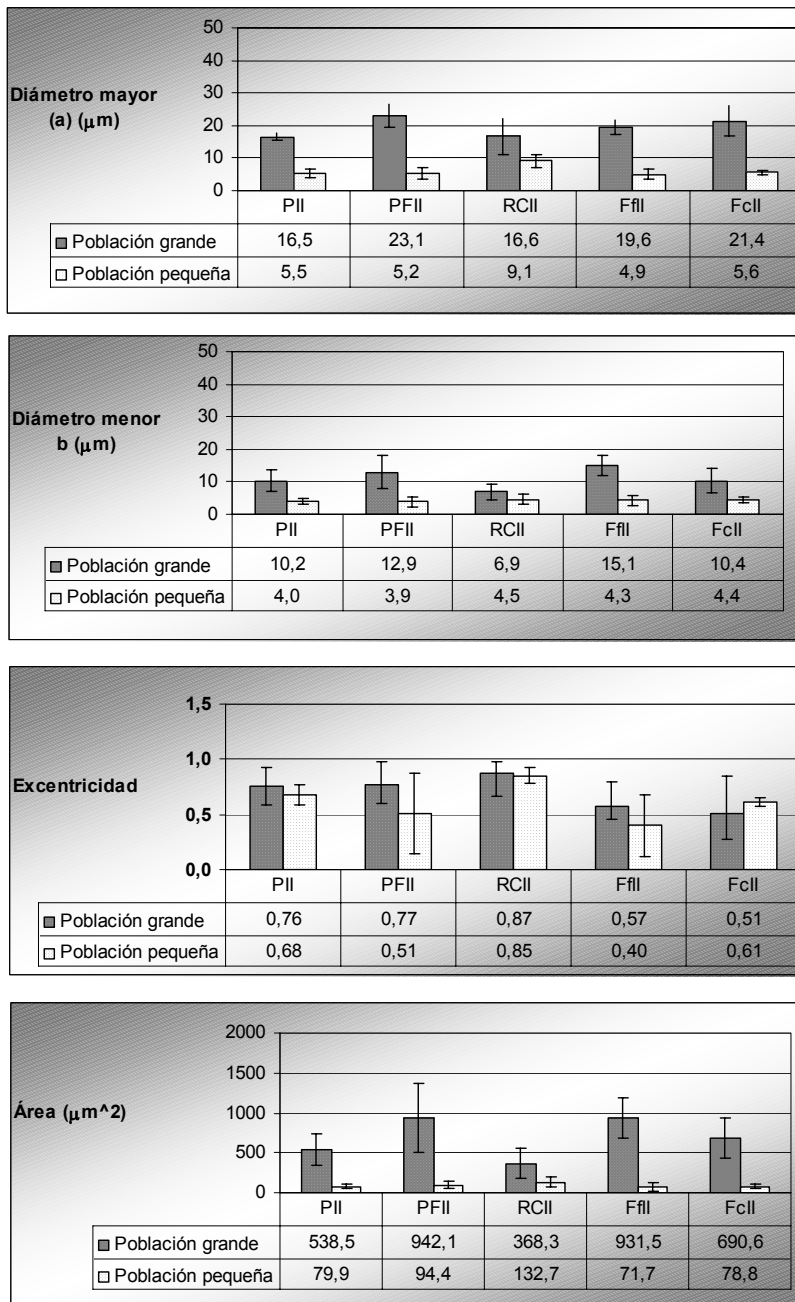


Figura 5.1.78 Dimensiones de los gránulos de almidón de la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

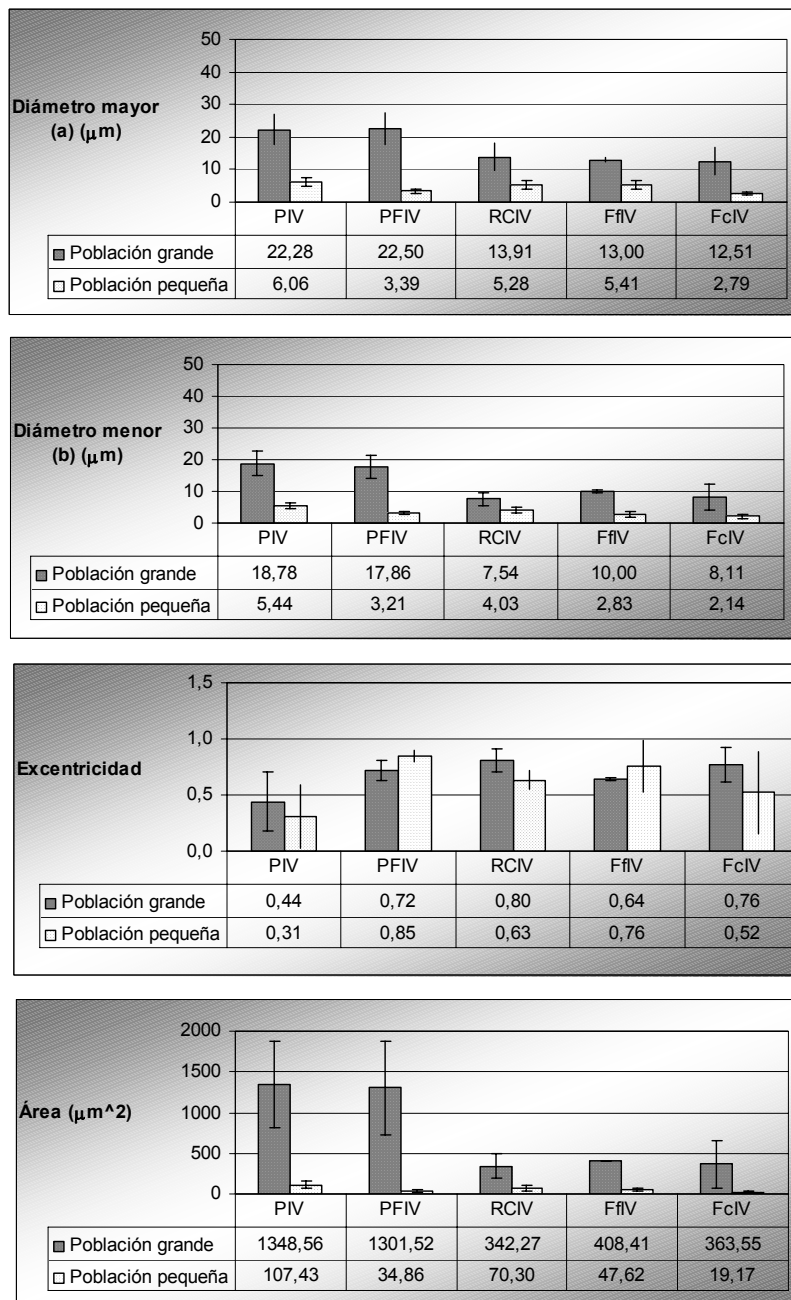


Figura 5.1.79. Dimensiones de los gránulos de almidón de la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

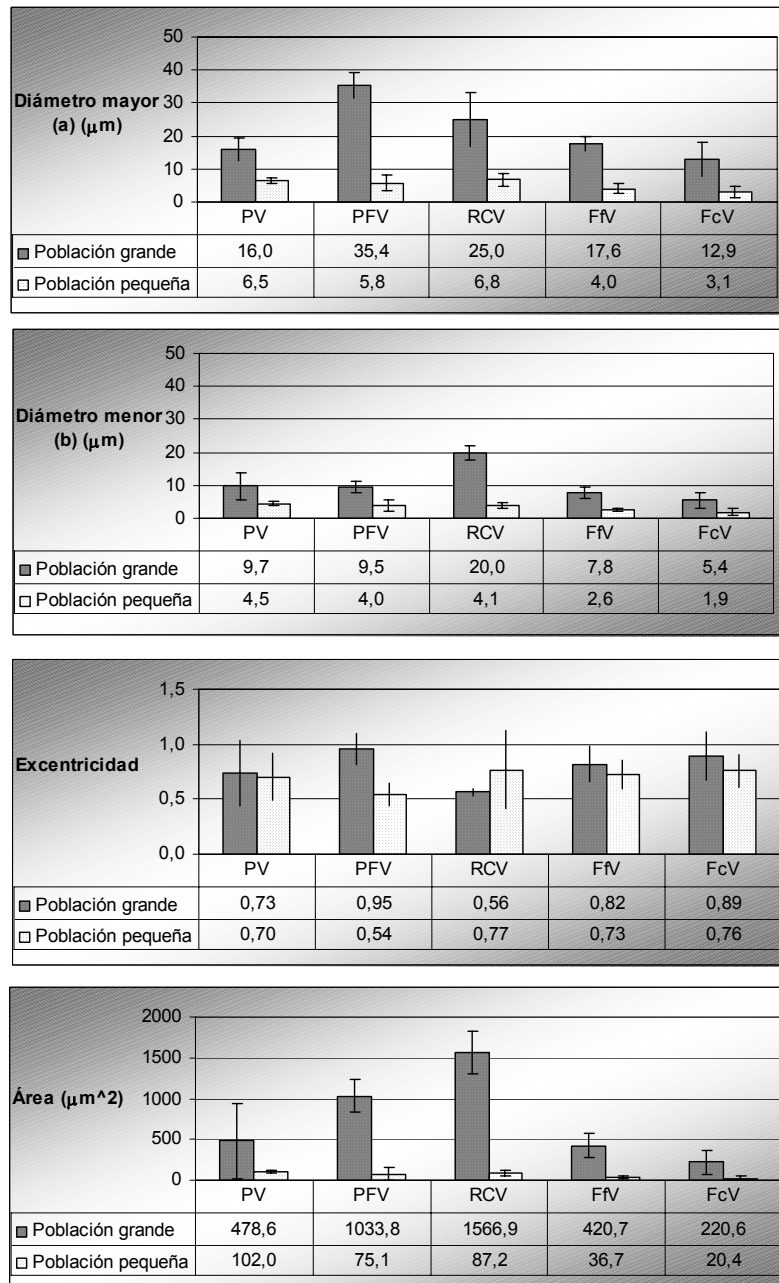


Figura 5.1.80. Dimensiones de los gránulos de almidón de la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

5.1.4.3. Influencia de la formulación en las dimensiones de los gránulos de almidón

En la figura 5.1.81, se presentan los valores de las dimensiones de los gránulos de almidón de la etapa **pasta** para las cuatro formulaciones ensayadas en la elaboración de calamares rebozados congelados. Destacan los altos valores alcanzados por la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) en **a**, **b** y **área**, así como su menor **excentricidad**. Estos datos difieren significativamente de los obtenidos por las distintas formulaciones en esta etapa del proceso. La presencia de la sal podría explicar este comportamiento diferente debido a la posible disolución de componentes lipoproteicos de la membrana de estos gránulos, lo cual permitiría la relajación de su estructura. A la población de gránulos pequeños no le influye tanto ni la formulación ni la etapa del proceso.

En la figura 5.1.82, se observan las dimensiones de los gránulos de almidón de la etapa **prefritura**; los valores de **a** para la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) son mayores significativamente frente al resto de formulaciones. Las **formulaciones II** (harina de trigo y de maíz) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) presentan valores intermedios. La **formulación I** (sólo harina de trigo) posee gránulos de almidón mucho más pequeños.

El diámetro menor (**b**) sigue una pauta análoga a **a** excepto con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) que da valores inferiores a las **formulaciones II** (harina de trigo y de maíz) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal). Posiblemente, el incremento tan notable de **a** en la **formulación V** impida una evolución paralela de la dimensión **b**.

La **excentricidad** de la etapa **prefritura** presenta valores altos para todas las formulaciones ensayadas; los gránulos aparecen deformados, en mayor medida los pertenecientes a la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e

impulsor). Este hecho parece razonable ya que al contener impulsor en su formulación, genera alvéolos que facilitan la penetración de aceite caliente a través de la capa de rebozado y favorece la degradación de dichos gránulos.

Las **formulaciones II** (harina de trigo y de maíz), **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) presentan áreas similares, en cambio la **formulación I** posee gránulos más pequeños. Burge (1990) describen mayor capacidad de retención de agua para los gránulos de almidón de maíz que para los del trigo. Esto también se traduce en un aumento del área de los gránulos de almidón, que se ha observado a nivel microestructural y también en el apartado 5.5.1.

La etapa de **congelación** (figura 5.1.83) se caracteriza por ejercer un efecto mayor sobre las dimensiones de los gránulos de la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) donde **a**, **b** y el **área** presentan valores mayores. Es posible que la presencia de los alvéolos generados por el impulsor en la **formulación V** facilite la circulación de materiales (agua y solutos) y magnifique el efecto de los cambios térmicos (bajas temperaturas por congelación, altas temperaturas por inmersión en aceite caliente).

En la etapa de **fritura final** (figura 5.1.84), destaca la disminución del tamaño de los gránulos para todas las formulaciones que podría estar relacionado con la deshidratación brusca producida por el impacto térmico que supone la inmersión en aceite de fritura. En la etapa de **fritura control** (figura 5.1.85), se sigue una pauta de comportamiento similar a la etapa de **fritura final**. Es de destacar que la formulación II (harina de trigo y de maíz) es la que mayor área presenta tanto en la etapa de **fritura control** como en la de **fritura final**.

A modo de ejemplo, se ha representado la forma de un gránulo de almidón y su evolución en cada una de las etapas del proceso de elaboración (figura 5.1.86).

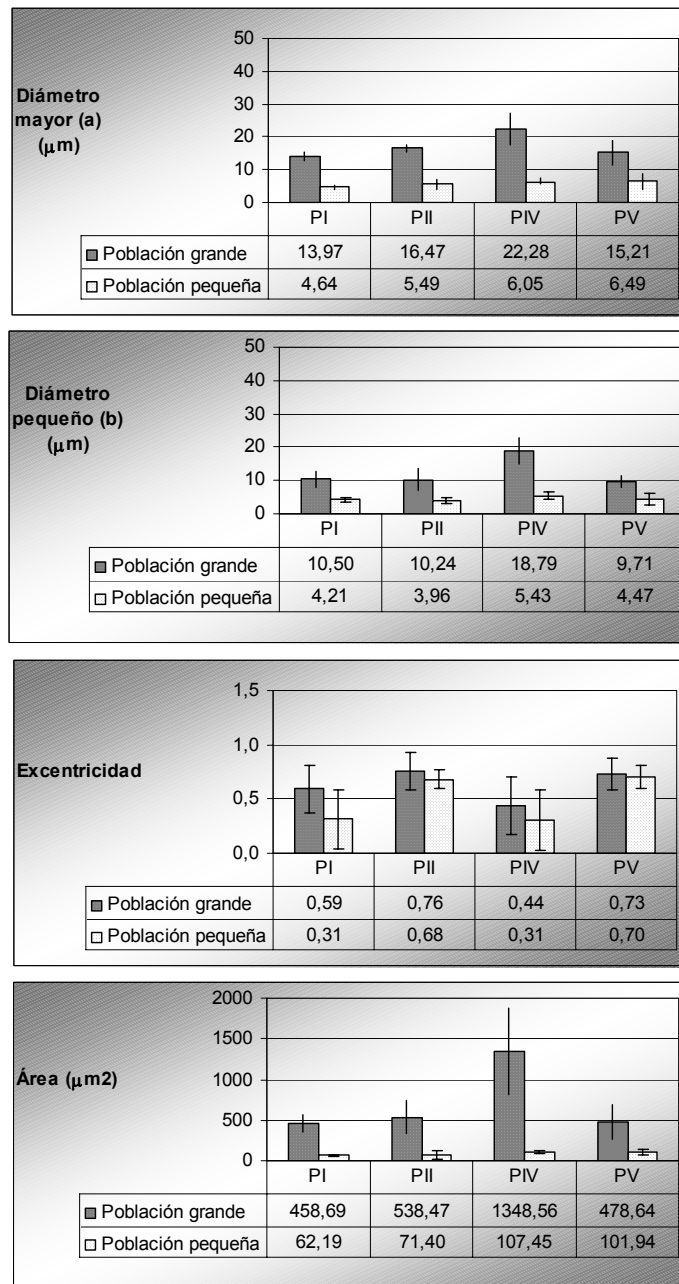


Figura 5.1.81. Dimensiones de los gránulos de almidón de las distintas formulaciones y en la etapa **pasta** del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

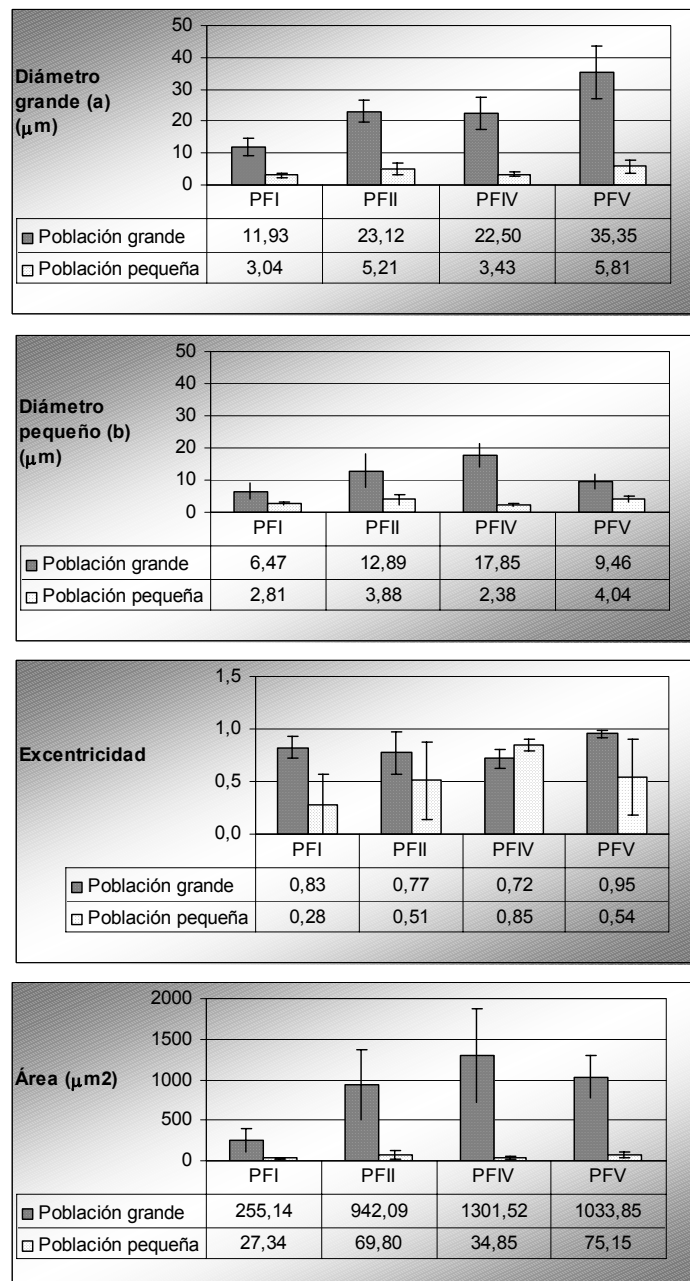


Figura 5.1.82. Dimensiones de los gránulos de almidón de las distintas formulaciones en la etapa de **prefritura** del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

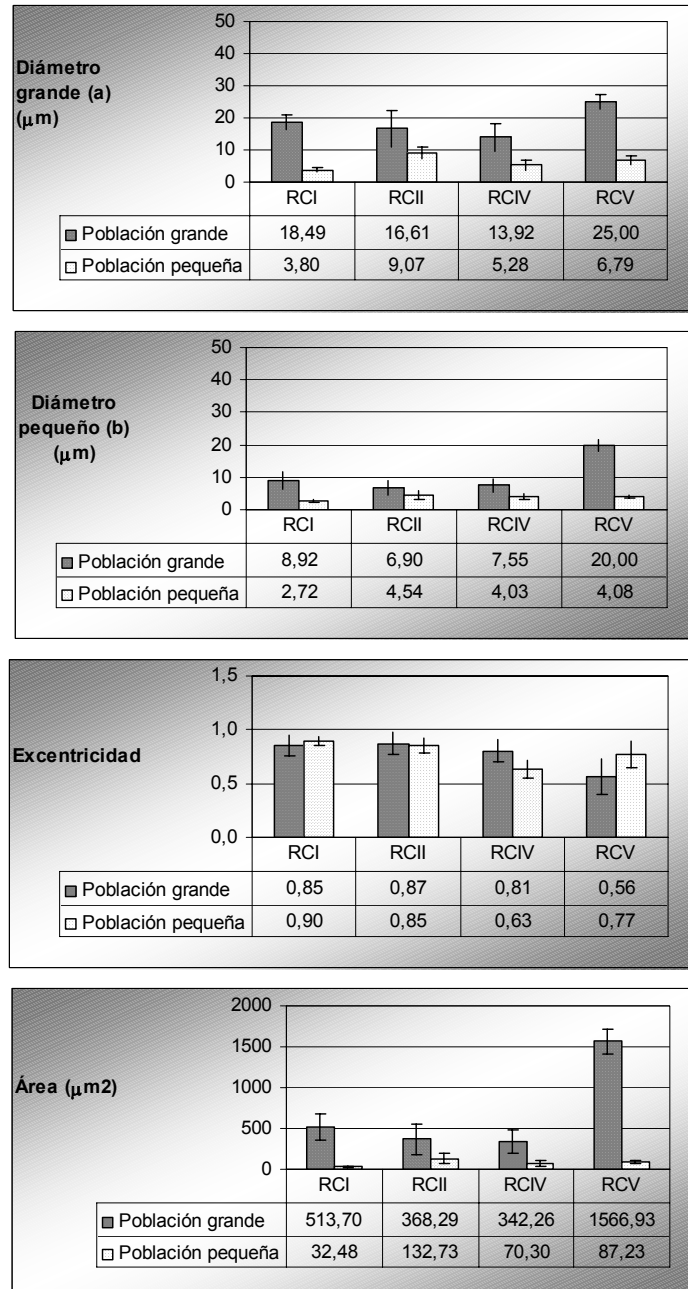


Figura 5.1.83. Dimensiones de los gránulos de almidón en las distintas formulaciones en la etapa de **congelación** del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

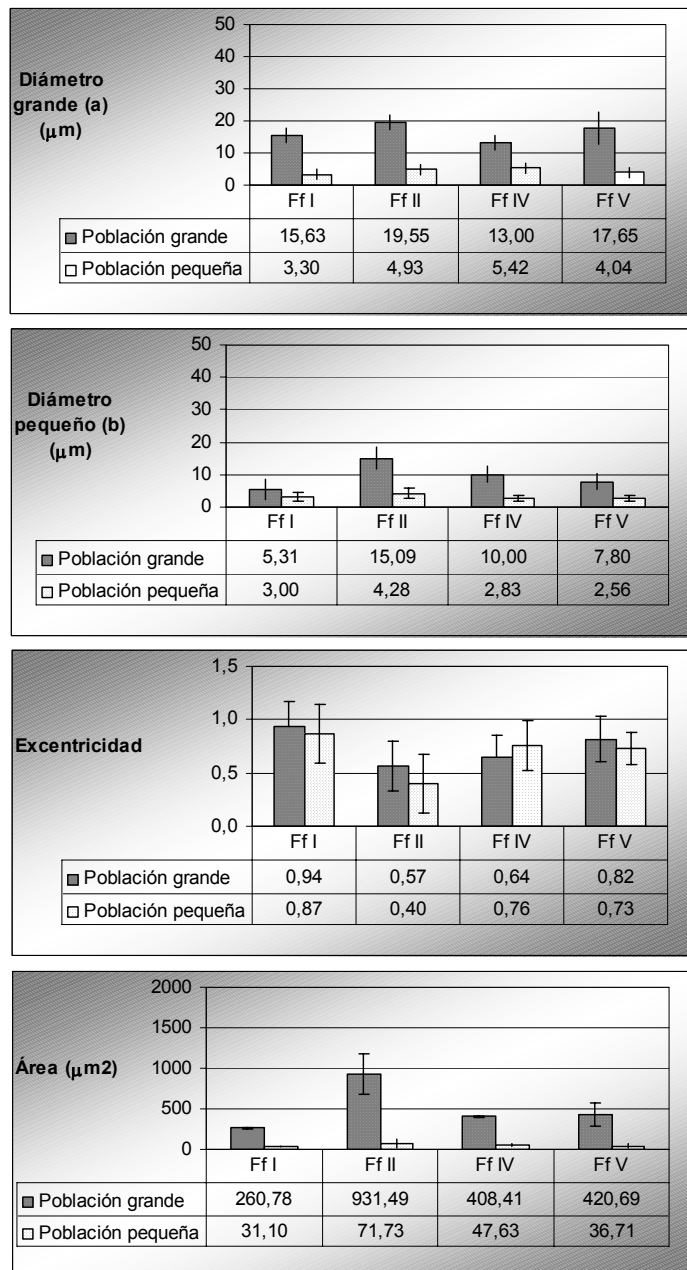


Figura 5.1.84. Dimensiones de los gránulos de almidón en las distintas formulaciones en la etapa de **fritura final** del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

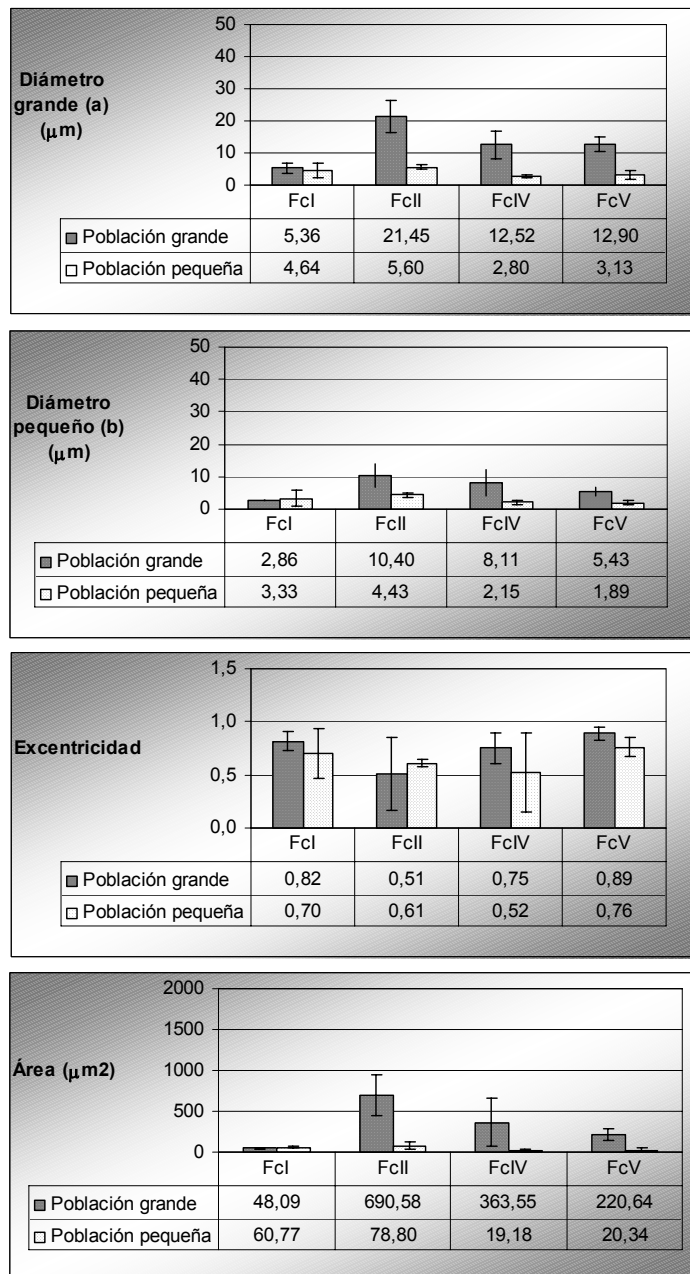


Figura 5.1.85. Dimensiones de los gránulos de almidón en las distintas formulaciones en la etapa de **fritura control** del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

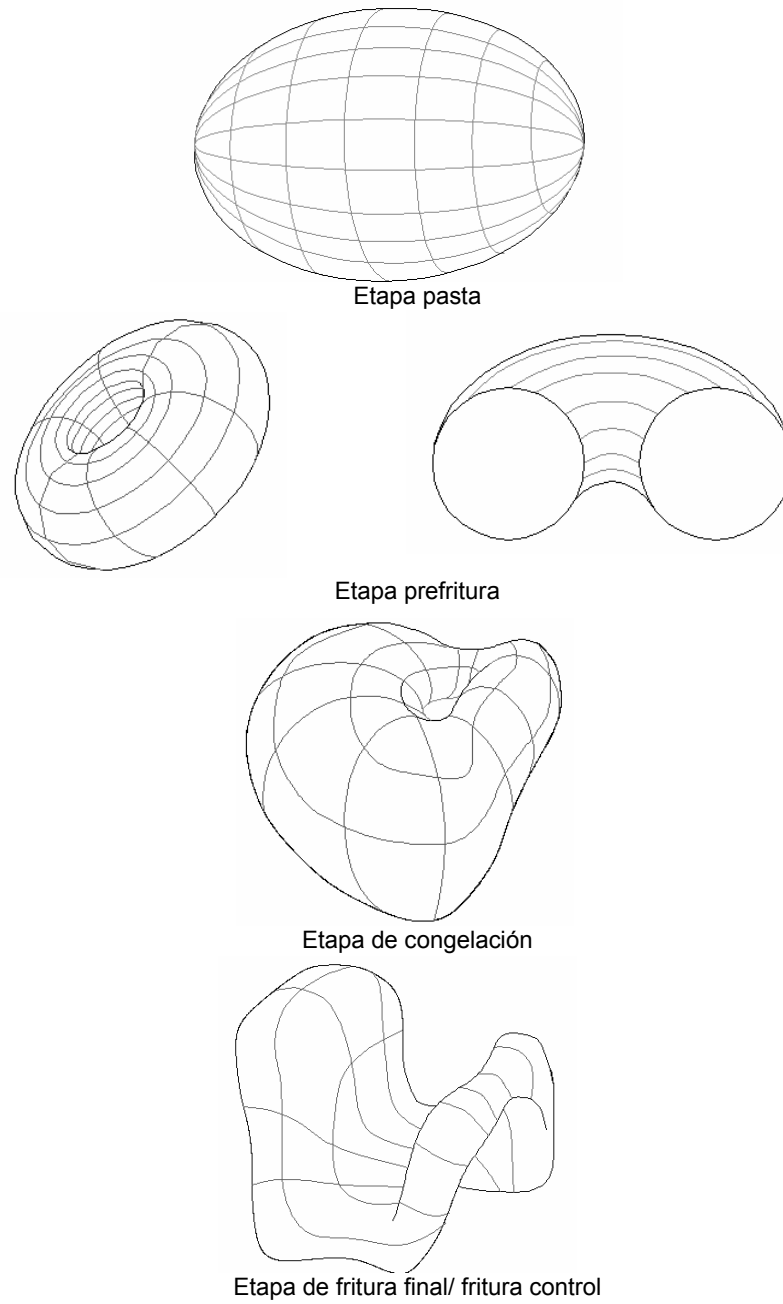


Figura 5.1.86. Evolución de la deformación de un gránulo de almidón en cualquier formulación en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

5.1.4.4. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre los gránulos de almidón.

En las figuras 5.8.87, 5.8.88, 5.8.89, 5.8.90, se pueden observar los intervalos LSD del diámetro mayor (**a**), del diámetro menor (**b**), de la **excentricidad** y del **área** correspondiente a los distintos niveles del factor formulación (para cualquier etapa del proceso) de los gránulos de almidón y correspondiente a los distintos niveles del factor **etapa** (para cualquier formulación). También se representan los diagramas de interacción entre ambos factores para cada parámetro estudiado.

La adición de cualquier ingrediente en la formulación influye siempre en la dimensión de **a** en cualquiera de las dos poblaciones (figura 5.8.87). La **formulación I** (sólo harina de trigo) presenta diferencias significativas con el resto de formulaciones, con valores menores. La **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) posee los gránulos de almidón mayores que las demás. Respecto al diagrama del factor **etapa** en la población grande, destaca la etapa de **prefritura**, que posee valores mayores que el resto de etapas y la etapa de **fritura control** con los valores menores, gránulos más contraídos. Estas dos etapas presentan diferencias significativas con el resto de etapas. En la población pequeña, la etapa más relevante es la congelación sea cual sea la formulación. La dimensión **b** (figura 5.8.88) tiene un comportamiento similar a **a** para el factor **formulación**. Respecto al factor **etapa**, **b** disminuye conforme avanza el proceso industrial.

La figura 5.8.89 muestra que los gránulos de almidón de las formulaciones I (sólo harina de trigo) y V (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) son más excéntricos, están más deformados que los de las formulaciones II (harina de trigo y de maíz) y IV (harina de trigo, de maíz y sal). La excentricidad es menor en la etapa **pasta** que en el resto de etapas, presentando diferencias significativas con la **prefritura**, la **congelación** y la **fritura control**. Es lógico que no se produzca

deformación en la etapa **pasta** en la que el producto no ha sido sometido a ningún tratamiento. La **prefritura** presenta los valores más altos de excentricidad. En la población pequeña no hay diferencias significativas entre las excentricidades de las distintas formulaciones. Cualquier tratamiento térmico (congelación o inmersión en aceite caliente) influye respecto de la pasta. Este tratamiento térmico sigue influyendo aunque es menos manifiesto en la **prefritura**.

La figura 5.8.90 muestra que los gránulos de almidón de la **formulación I** (sólo harina de trigo) tienen menor tamaño que el resto de las formulaciones y presenta diferencias significativas con las demás. Las otras formulaciones no presentan diferencias significativas pero los valores de la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) son mayores. La etapa de **prefritura** presenta diferencias significativas frente al resto de etapas, aunque no es detectable en la población pequeña.

En los próximos capítulos se hacen algunos comentarios que relacionan estas observaciones con aquellos resultados.

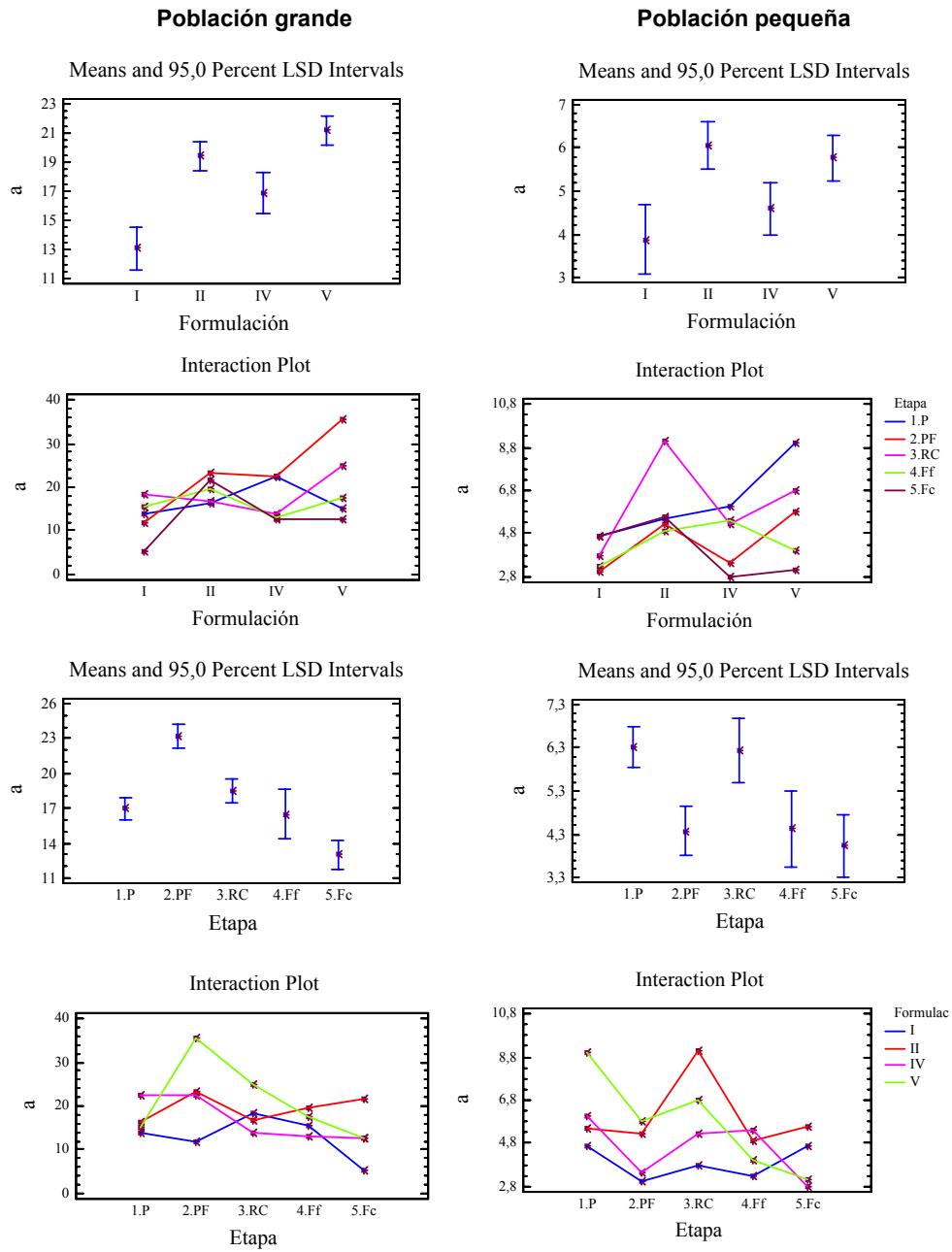


Figura 5.8.87. Dimensiones de *a* e intervalos LSD de poblaciones grande y pequeña de gránulos de almidón en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

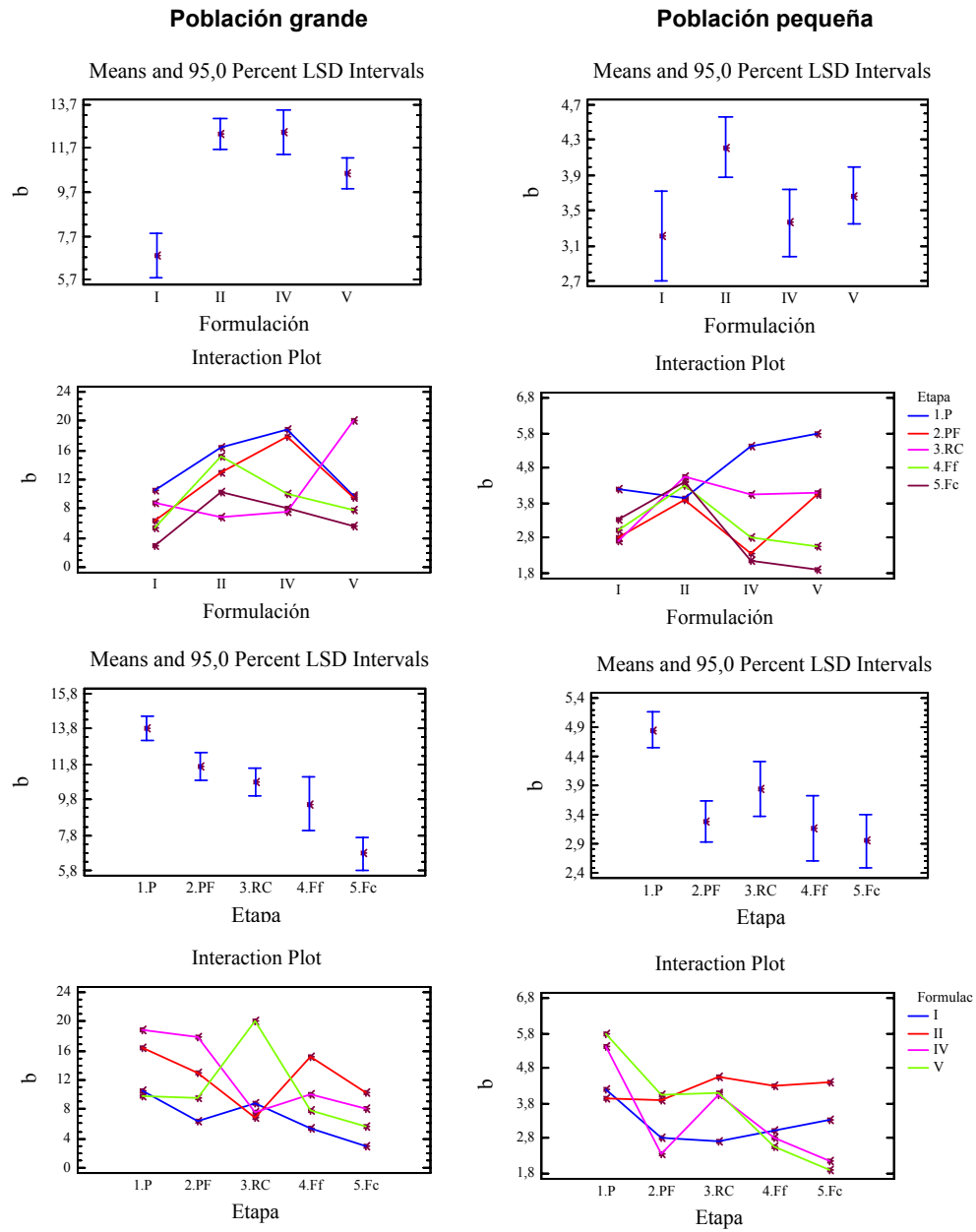


Figura 5.8.88. Dimensiones de **b** e intervalos LSD de poblaciones grande y pequeña de gránulos de almidón en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

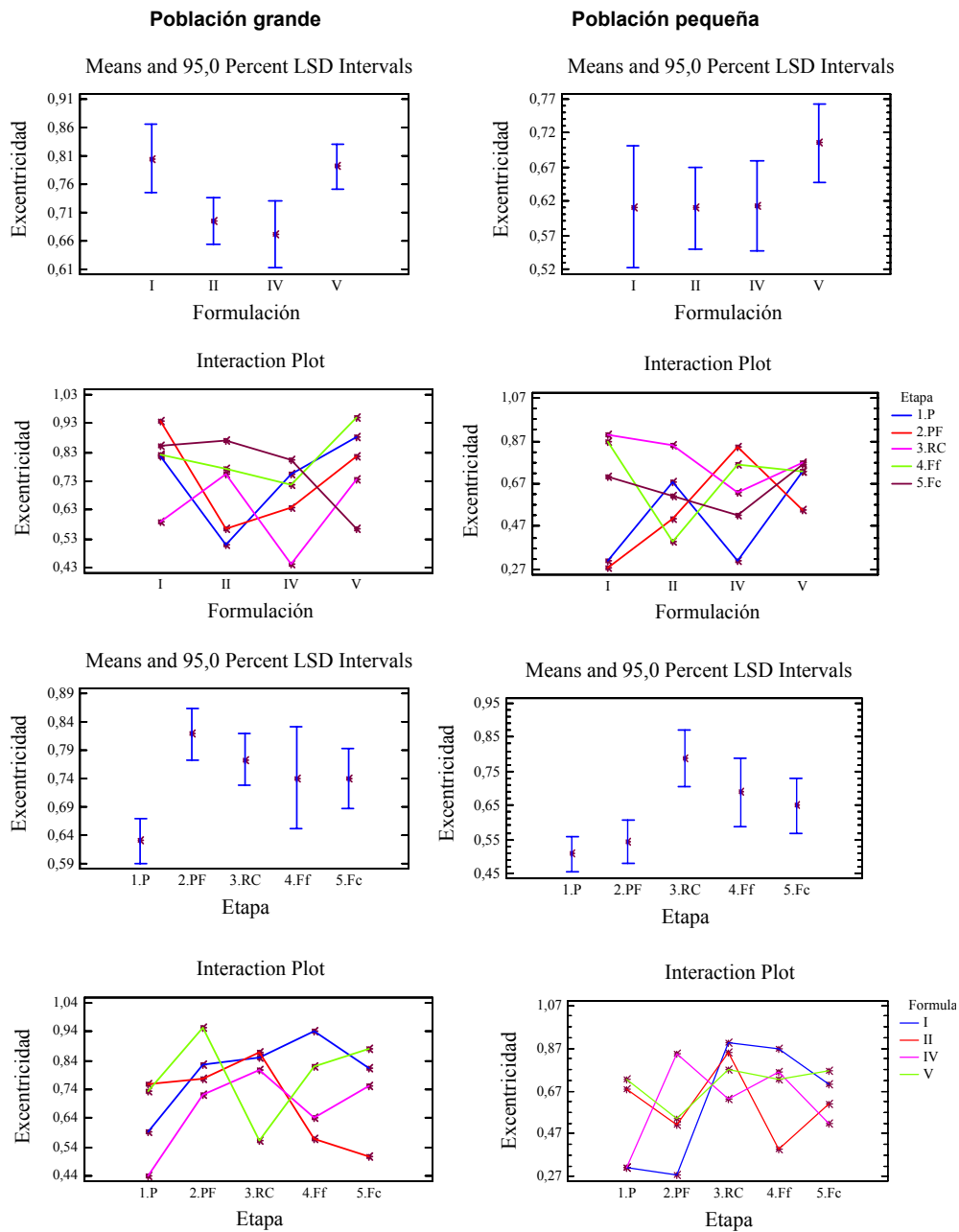


Figura 5.8.89. Excentricidades e intervalos LSD de poblaciones grande y pequeña de gránulos de almidón en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

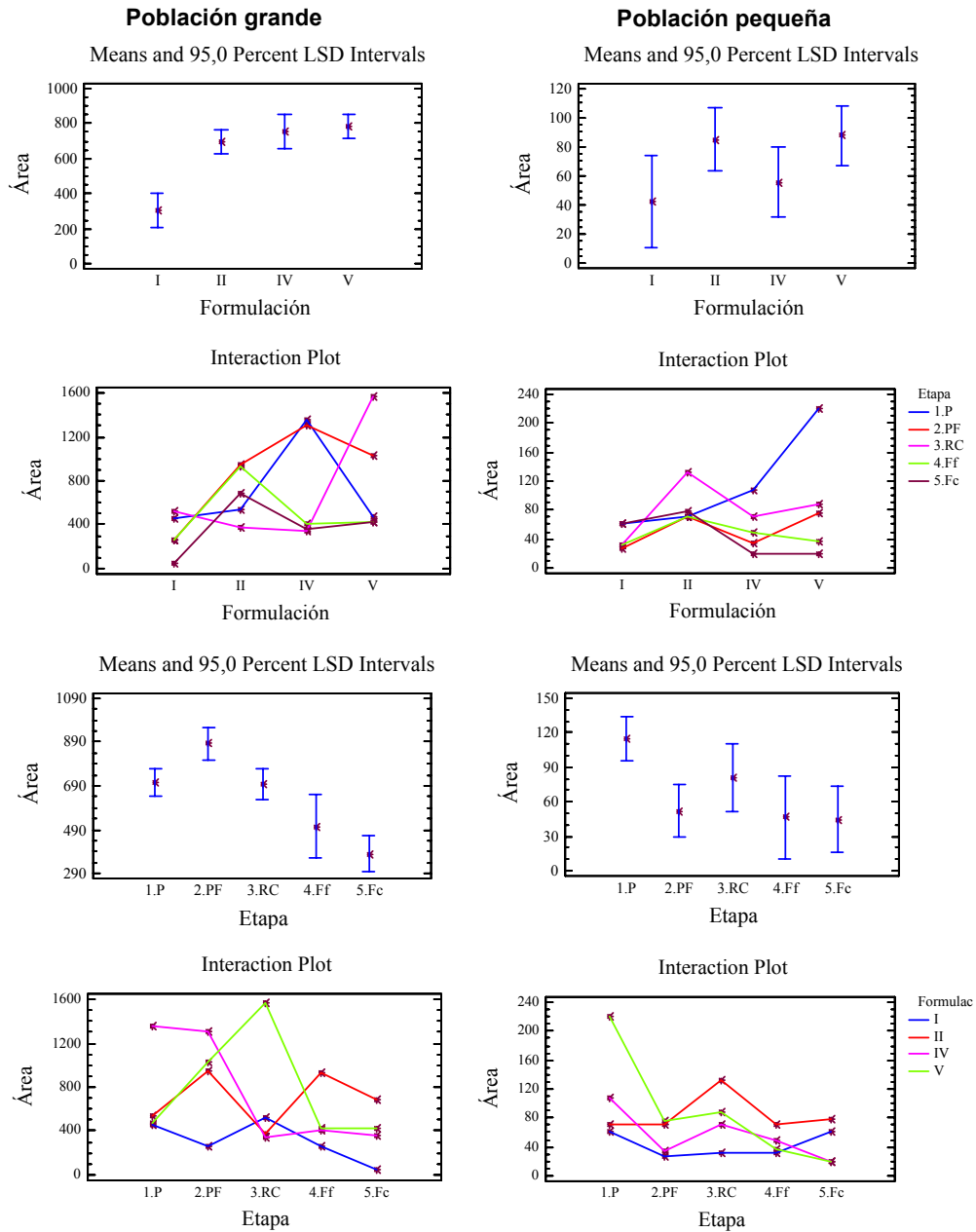


Figura 5.8.90. Áreas e intervalos LSD de poblaciones grande y pequeña de gránulos de almidón en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

5.2. TEXTURA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS

La determinación de la textura en productos fritos es difícil en general (Segnini *et al.*, 1999). Una de las características más apreciadas en productos rebozados y fritos es que la corteza sea crujiente pero sin ser dura, y es deseable que esta característica textural perdure durante un período de tiempo suficiente después de la fritura.

La determinación instrumental de la textura se realiza mediante ensayos de penetración con un émbolo cilíndrico de 4 mm de diámetro en muestras fritas control y final. Los perfiles obtenidos en función del tiempo permiten tener información acerca de la dureza de la muestra (fuerza necesaria para penetrar la muestra) y de su fragilidad o gomosidad (mayor o menor valor de la pendiente de la curva de penetración). La crujibilidad se determina por la presencia de múltiples picos en el perfil de la curva de textura. En este apartado se realiza un estudio textural para las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y harina de maíz (3%)), **III** (harina de trigo y harina de maíz (6%)), **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), solamente en las etapas de **fritura control** y **fritura final**. Los valores de fuerza máxima, pendiente y área de la curva determinados en muestras **fritas control** se presentan en la tabla 5.2.1.

En cuanto a los valores obtenidos para muestras recién fritas ($t=0$ min) se puede observar que la adición de maíz tanto al 3% como al 6% (**formulación II y III**) disminuye los valores de los parámetros texturales estudiados. Aunque Loewe (1993) observó que un nivel alto de harina de maíz en la formulación aumentaba la crujibilidad, de los resultados obtenidos se deduce que para producir aumentos en la crujibilidad, sería necesaria la adición de cantidades de harina de maíz superiores al 6%.

También se puede apreciar que la presencia de impulsor en la formulación (**formulación V**) hace que los valores de fuerza obtenidos sean significativamente más bajos que en el resto de las formulaciones. Este ingrediente genera alvéolos en el interior de la masa debido a la producción de CO₂, lo cual hace que las formulaciones que lo contienen sean más esponjosas y por tanto, menos duras.

Tabla 5.2.1. Valores medios de fuerza máxima, pendiente y área en ensayos de penetración de capa de rebozado de calamares rebozados **fritos control** a diferentes tiempos después de su fritura.

	t=0 min			t=15 min			t=30 min		
	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)
Formulación I	18.5 ^a (5.7)	10.9 ^a (2.8)	11.8 ^a (3.1)	12.7 ^a (3.1)	7.3 ^{ab} (1.8)	11.1 ^a (3.1)	11.6 ^{ab} (3.6)	5.7 ^a (2.0)	9.3 ^a (2.5)
Formulación II	12.8 ^b (5.6)	7.0 ^{bc} (3.3)	10.6 ^a (4.0)	9.9 ^{ab} (2.7)	6.2 ^{ab} (2.2)	8.7 ^{bc} (1.9)	7.4 ^{cd} (2.6)	4.3 ^a (1.1)	7.6 ^{ab} (3.0)
Formulación III	15.1 ^{ab} (3.4)	9.0 ^{abc} (2.3)	10.8 ^a (4.0)	10.2 ^a (3.0)	6.8 ^{ab} (2.6)	11.7 ^a (2.5)	9.8 ^{abc} (3.4)	3.8 ^a (1.2)	9.2 ^{ab} (1.6)
Formulación IV	22.1 ^c (8.0)	14.5 ^d (6.0)	15.1 ^b (3.8)	11.7 ^a (5.6)	8.6 ^a (4.2)	8.8 ^c (3.0)	11.4 ^b (4.0)	7.8 ^b (2.1)	9.1 ^a (3.7)
Formulación V	7.3 ^d (2.4)	5.4 ^c (2.1)	5.1 ^c (2.2)	7.2 ^b (3.0)	5.1 ^b (2.0)	5.7 ^a (2.0)	6.5 ^d (2.5)	4.5 ^a (1.9)	6.1 ^b (3.0)

* Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

a, b, ... Los valores que tienen la misma letra como supraíndice en la misma columna no presentan diferencias significativas entre ellos.

Como ya se ha explicado anteriormente, en la elaboración de productos rebozados congelados a nivel industrial, se realiza una prefritura de pocos segundos con el objetivo de fijar la estructura del producto antes de la congelación. Por este motivo, se estudian las características texturales del muestra **frita final** que previamente fue sometido a prefritura y congelación. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 5.2.2.

Del tratamiento estadístico realizado se determina que entre los distintas formulaciones de la tabla 5.2.2, los resultados de fuerza, pendiente y área en las muestras **fritas final** inmediatamente tras su fritura (t=0 min) siguen, en general, una pauta muy similar a las muestras **fritas control**, comentadas con anterioridad.

Tabla 5.2.2. Valores de fuerza máxima, pendiente y área en ensayos de penetración de capa de rebozado de calamares rebozados **fritos final** a diferentes tiempos después de la fritura.

	t=0 min			t=15 min			t=30 min		
	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)	Fuerza (N)	Pend (N/s)	Área (N s)
Formulación I	13.0 ^a (3.4)	11.4 ^a (3.6)	11.0 ^a (2.7)	9.1 ^{ab} (2.2)	3.8 ^a (0.7)	8.8 ^a (1.8)	10.0 ^a (2.7)	5.1 ^a (1.2)	8.3 ^a (2.0)
Formulación II	10.2 ^{bc} (2.6)	5.1 ^{bcd} (1.5)	9.6 ^a (1.7)	8.3 ^{bc} (2.6)	4.1 ^a (1.9)	9.8 ^a (2.4)	8.3 ^{bc} (3.0)	4.0 ^a (1.4)	9.4 ^{ab} (2.5)
Formulación III	11.6 ^a (4.9)	6.0 ^{cd} (2.1)	9.2 ^a (2.8)	8.9 ^{ab} (4.1)	4.1 ^a (1.7)	9.0 ^a (3.2)	7.4 ^{bc} (1.6)	3.8 ^a (1.0)	7.4 ^a (1.7)
Formulación IV	21.5 ^b (4.8)	20.8 ^d (8.7)	15.6 ^b (4.9)	12.9 ^c (2.9)	7.3 ^b (3.5)	12.3 ^b (4.7)	13.8 ^b (6.2)	8.5 ^b (3.1)	11.2 ^b (3.1)
Formulación V	7.6 ^c (3.0)	4.7 ^e (1.8)	6.0 ^c (2.7)	8.8 ^b (3.0)	4.8 ^a (1.1)	5.8 ^c (2.5)	6.3 ^c (1.8)	3.9 ^a (1.7)	4.8 ^c (1.6)

* Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

^{a, b, ...} Los valores que tienen la misma letra como supraíndice en la misma columna no presentan diferencias significativas entre ellos.

Sin embargo, la comparación entre los valores obtenidos en las tablas 5.2.1 y 5.2.2 permite estudiar la influencia del procesado industrial en las características texturales del producto. En general, los valores de fuerza máxima obtenidos inmediatamente después de la fritura son menores en el producto **frito final** que en el producto **frito control**; aunque solamente resultan significativas las diferencias en el caso de la **formulación I** (sólo harina de trigo). No existen diferencias significativas para los valores de pendiente y área entre las muestras **fritas final** y **fritas control** para ninguna de las distintas formulaciones.

Las figuras 5.2.1 y 5.2.2 muestran, a modo de ejemplo, los perfiles de penetración obtenidos con las **formulaciones I** (sólo harina de trigo) y **III** (harina de trigo y 6% de harina de maíz) inmediatamente después de someter las muestras al proceso de fritura en muestra **frito control** (figura 5.1) y muestra **frito final** (figura 5.2).

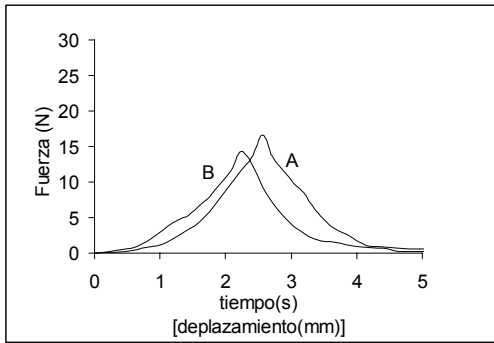


Figura 5.2.1. Perfiles de penetración de la **formulación I (A)** y **formulación III (B)** en muestra frita control.

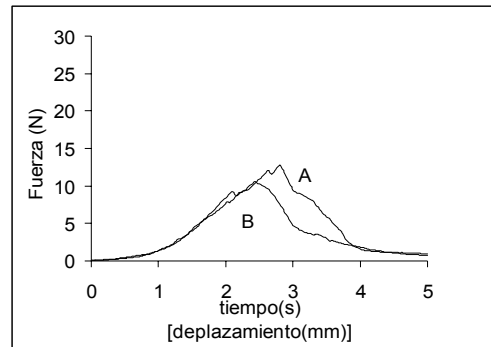


Figura 5.2.2. Perfiles de penetración de la **formulación I (A)** y **formulación III (B)** en muestra frita final.

Así mismo, en la figura 5.2.3 se muestran los perfiles de penetración correspondientes a la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y a la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) tanto en muestra **frita control** (figura 5.2.3) como en muestra **frito final** (figura 5.2.4). El perfil de la curva de la **formulación V** corresponde al de un producto crujiente que sufre múltiples fracturas antes de ser perforado por el cilindro (la curva tiene más de 1 pico). Este cambio en la textura se puede apreciar visualmente ya que la **formulación V** es la única que presenta una capa esponjosa, mientras que las otras formulaciones simplemente forman una corteza más dura, mucho más resistente a la penetración. Microestructuralmente también se ha observado la formación de enormes alvéolos que hacen que los productos elaborados con esta formulación presenten una estructura más esponjosa (apartado 5.1.3). Desde el punto de vista funcional, el agente leudante contribuye al desarrollo de la textura final del producto, en mayor medida que la harina de trigo, harina de maíz o sal. En la figura 5.2.4, se observan los perfiles de las muestras **fritas finales**; si se comparan con los obtenidos con los del **control** (figura 5.2.3) la diferencia más importante es que la **formulación V** en el **frito final** obtiene el valor de fuerza máxima más tarde que en el **frito control**.

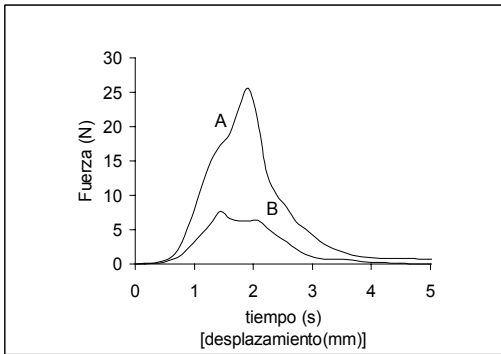


Figura 5.2.3. Perfiles de penetración de la **formulación IV** (A) y la **formulación V** (B) en muestra **frita control**.

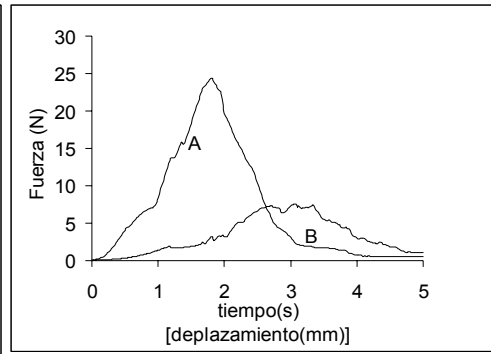


Figura 5.2.4. Perfiles de penetración de la **formulación IV** (A) y la **formulación V** (B) en muestra **frita final**.

Una de las cualidades más apreciadas en productos rebozados y fritos es su crujibilidad y que ésta permanezca durante el mayor tiempo posible después de la fritura. Por este motivo, se estudian los perfiles texturales en las distintas formulaciones, pasados 15 y 30 min después de la fritura. El análisis estadístico en muestras **control** (tabla 5.2.1) indica que conforme transcurre el tiempo después de la fritura, la fuerza va disminuyendo. Tras los primeros 15 min, la disminución es significativa para todas las formulaciones excepto para la **formulación V** (con impulsor); sin embargo, no existen diferencias significativas entre los 15 y los 30 min después de la fritura para cualquiera de las formulaciones ensayadas. Los valores de pendiente y del área también disminuyen al pasar el tiempo. Todos estos cambios son indicativos de la pérdida del carácter crujiente de la capa de rebozado con el paso del tiempo.

Las muestras **fritas final** (tabla 5.2.2) siguen una pauta muy semejante a las muestras fritas control en los parámetros texturales estudiados. Si se comparan las muestras **fritas control** y **final** entre sí transcurridos 15 min tras la fritura, la única muestra que sigue presentando diferencias significativas en la fuerza es la **formulación I** (sólo harina de trigo); sin embargo, estas diferencias no

se mantienen pasados 30 min desde la fritura para todos los parámetros estudiados.

Sin embargo, la degradación de la textura a lo largo del tiempo no tiene la misma magnitud para todas las formulaciones. El cambio más dramático se observa en la **formulación I**; la figura 5.2.5 muestra el perfil de penetración de esta formulación en función del tiempo transcurrido tras la fritura en muestra **frita control** y la figura 5.2.6 los perfiles de esta formulación a lo largo del tiempo en muestra **frita final**. En la muestra **control**, conforme transcurre el tiempo tras la fritura, la capa de rebozado se hace más blanda y pierde fragilidad. La etapa de compresión (antes de que se produzca la rotura de la muestra) es más larga en la muestra C (tras 30 min de fritura) y alcanza un desplazamiento del cilindro de más de 3 mm. Además durante la realización del ensayo, no se produce una perforación limpia de la muestra durante su penetración, la base del cilindro empuja fuera un trozo de masa desgarrada más que cortada. En la figura 5.2.6, no se observan tantas diferencias entre los distintos tiempos, que se amortiguan a causa de la prefrutura y congelación previas a las que se sometió a la muestra antes de su **fritura final**.

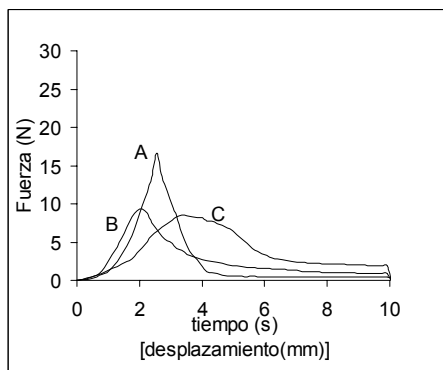


Figura 5.2.5. Perfil de penetración de la **formulación I** en función del tiempo después de la fritura (A: t=0 min; B: t=15 min; C: t=30 min) en muestra **frita control**.

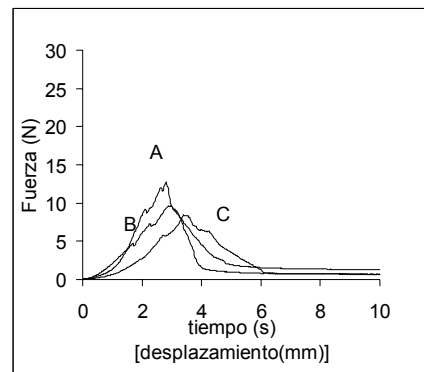


Figura 5.2.6. Perfil de penetración de la **formulación I** en función del tiempo después de la fritura (A: t=0 min; B: t=15 min; C: t=30 min) en muestra **frita final**.

La textura de la **formulación V** muestra un cambio mucho menor cuando transcurre un tiempo después de la fritura tanto en muestra **frita control** (figura 5.2.7) como en muestra **frita final** (figura 5.2.8). La presencia de varios picos en las curvas indica que la muestra no pierde crujibilidad. Los perfiles no se alteran drásticamente con el tiempo (aunque la fuerza a 30 min es menor). En el producto **frito final** (figura 5.2.8), los perfiles presentan numerosos picos y muy puntiagudos, lo cual indica que claramente la muestra es más crujiente, aún transcurrido un tiempo después de la fritura. La inclusión de impulsor en la formulación parece ser determinante para el mantenimiento de la textura transcurrido determinado tiempo tras la fritura. De hecho, los principales cambios microestructurales se observan con la presencia de impulsor, ya que éste genera grandes alvéolos por donde puede circular mejor el agua y el aceite de fritura. Así en los siguientes capítulos se verá que por este motivo se produce una mayor deshidratación, más ganancia de grasa y mayor solubilización de proteínas cuando se utiliza la **formulación V**. Las **formulaciones II, III y IV** muestran un comportamiento intermedio.

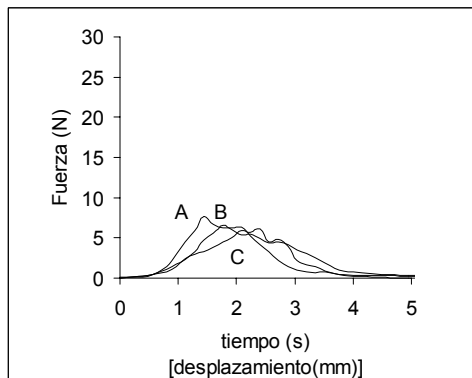


Figura 5.2.7. Perfil de penetración de la **formulación V** en función del tiempo después de la fritura (A: t=0 min; B: t=15 min; C: t=30 min) en muestra **frita control**.

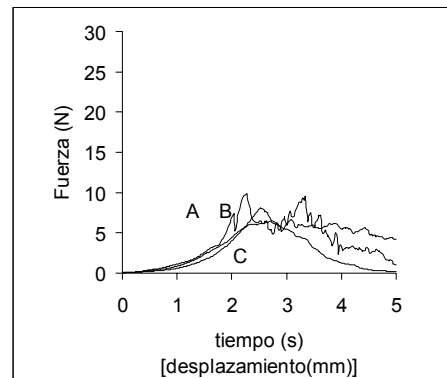


Figura 5.2.8. Perfil de penetración de la **formulación V** en función del tiempo después de la fritura (A: t=0 min; B: t=15 min; C: t=30 min) en muestra **frita final**.

5.3. REOLOGÍA DE LAS PASTAS EMPLEADAS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS

La calidad de un producto rebozado depende en gran medida de la cantidad de masa que queda adherida al alimento substrato. Esta cantidad de masa determina el espesor de la capa de rebozado, así como algunas características texturales y el rendimiento en la producción, lo que es de gran importancia a nivel industrial. En el procesado industrial de los alimentos rebozados, la viscosidad aparente se utiliza como índice para predecir el comportamiento que tendrá determinada masa durante la operación de rebozado.

La comparación de la viscosidad aparente (tabla 5.3.1) para la formulación con sólo harina de trigo (**formulación I**) con las formulaciones que llevan adicionado harina de maíz (**formulaciones II y III**) muestran que no hay diferencias significativas entre ellas, mientras que las dos formulaciones que contienen sal (**IV y V**) presentan valores significativamente más pequeños. Con respecto a la relación entre los valores de viscosidad aparente y los índices de recubrimiento obtenidos, hay una relación directa entre ambos. Así la pasta de menor viscosidad es también la que muestra un menor índice de recubrimiento. Sin embargo, hay que señalar que la variación en la cantidad de masa adherida al alimento substrato (índice de recubrimiento) llega al 10% en ningún caso.

Sanz *et al.* (2004b) y Fiszman y Salvador (2003) obtienen índices de recubrimiento ligeramente menores en formulaciones para la elaboración de calamares rebozados congelados que incorporan metilcelulosa como ingrediente.

Tabla 5.3.1. Valores de viscosidad aparente para las 5 formulaciones.

Formulación	Viscosidad (mPas)	Índice recubrimiento (%)
I	67180 ^a (721)	70.0 ^a (3.1)
II	66340 ^a (1994)	68.0 ^a (4.9)
III	61670 ^a (1046)	68.0 ^a (4.1)
IV	41175 ^b (955)	65.0 ^b (3.7)
V	33915 ^b (912)	61.4 ^c (4.4)

* Los valores entre paréntesis son las desviaciones estándar.

^{a, b, c} Los valores que tienen la misma letra como supraíndice en la misma columna no presentan diferencias significativas entre ellos.

Todas las formulaciones se preparan con la misma proporción sólidos:agua; por tanto, la viscosidad aparente de cada formulación puede ser indicativa de la contribución funcional de cada uno de los ingredientes a la mezcla. De hecho, la consistencia más débil que presentan las formulaciones que contienen sal (**formulaciones IV y V**) se refleja en una aplicación más fácil sobre el alimento, aunque con un índice de recubrimiento menor. Sin embargo, todas las masas se pueden aplicar al substrato sin dificultades, y en todos los casos la calidad de la capa de rebozado es buena y no presenta defectos visibles.

5.3.1. COMPORTAMIENTO AL FLUJO.

El aumento de la fuerza de cizallamiento con la velocidad de cizallamiento indica un comportamiento pseudoplástico para todas las formulaciones (figura 5.3.1), que se ajusta, en el intervalo de velocidades de cizallamiento estudiado, al modelo de Ostwald-de Waale:

$$\tau = k \times \gamma^n$$

Donde k es el índice de consistencia (Pa.sⁿ), n es el índice de flujo, τ es la tensión de cizalladura (Pa) y γ es la velocidad de deformación (1/s)ⁿ.

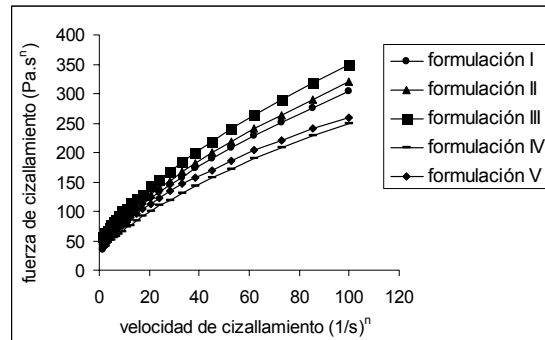


Figura 5.3.1. Curvas de flujo de las distintas formulaciones del rebozado.

Se observa un incremento en el índice de consistencia (tabla 5.3.2), cuando se añade harina de maíz a la formulación (**formulaciones II y III**). Además, la concentración más alta de harina de maíz (**formulación III**) coincide con el índice de consistencia más alto. Burge (1990) añaden concentraciones crecientes de maíz a un sistema para rebozar pescado y obtienen índices de consistencia cada vez mayores. La adición de sal produce un descenso en el índice de consistencia (**formulaciones IV y V**) que se podría atribuir al efecto de la solubilización de las proteínas, principalmente del gluten, que produce la sal.

Tabla 5.3.2. Constantes reológicas de las diferentes formulaciones.

Formulaciones	Índice consistencia k (Pa s ⁿ)	Índice de flujo n	Coefficiente regresión R ²
I	24.24	0.54	0.998
II	27.20	0.53	0.995
III	32.12	0.51	0.992
IV	27.31	0.53	0.991
V	28.15	0.48	0.989

Con respecto al comportamiento pseudoplástico, no hay diferencias importantes en el índice de flujo entre las distintas formulaciones, excepto en la **formulación V** (con impulsor) que es más bajo, lo que indica la existencia de un comportamiento más pseudoplástico (índice de flujo más alejado de 1). Otros autores han estudiado la influencia de la adición de sal en el comportamiento reológico de distintas masas. Changala Reddy *et al.* (1989) añaden este ingrediente a masas elaboradas con harina de judías y observan una disminución en el índice de consistencia y un aumento en el índice de flujo. Es importante resaltar que la sal, que en principio se añade como mejorante del sabor, modifica las propiedades reológicas en las masas de rebozado incluso cuando se incluye en la formulación en cantidades pequeñas. Esto puede tener consecuencias tecnológicas en el índice del recubrimiento, rendimiento y textura del producto obtenido.

5.3.2. ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO VISCOELÁSTICO LINEAL A 65°C.

Las sustancias viscoelásticas son aquellas que presentan un comportamiento reológico según el cual deben clasificarse en una zona entre

líquidos y sólidos. Son, en diferente medida, tanto elásticas como viscosas, por lo que reciben el nombre de viscoelásticas (Schramm, 1994). El estudio del comportamiento viscoelástico lineal se lleva a cabo en las distintas formulaciones de las pastas a la temperatura de 65°C mediante ensayos de cizallamiento oscilatorio de baja amplitud también conocidos como ensayos dinámicos. En estos ensayos la muestra se somete a un esfuerzo o a una deformación de cizalla oscilatoria que garantice la existencia de comportamiento viscoelástico lineal y se mide el esfuerzo o la deformación resultante.

Los ensayos dinámicos permiten la determinación de funciones viscoelásticas del material como son el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdidas (G'') que están relacionados con el comportamiento elástico y viscoso del material respectivamente.

Las figuras 5.3.2, 5.3.3 y 5.3.4 presentan los valores del módulo de almacenamiento (G') y del módulo de pérdidas (G'') en función de la frecuencia (espectro mecánico), a valores de amplitud del esfuerzo que garantizan la existencia de comportamiento viscoelástico lineal.

En la figura 5.3.2 se muestra el espectro mecánico correspondiente a las **formulaciones I, II y III** a la temperatura de 65°C. En las tres formulaciones se observa la existencia de valores de G' y G'' muy parecidos y con una evolución similar con la frecuencia similar. En el intervalo de frecuencias estudiado, G' es siempre superior a G'' , y ambos módulos son prácticamente independientes de la frecuencia, lo que refleja la existencia de un comportamiento tipo gel de las pastas a esta temperatura.

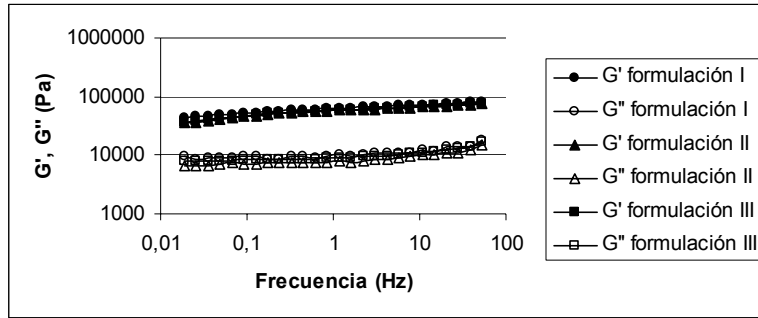


Figura 5.3.2. Espectros mecánicos en las **formulaciones I, II y III** a 65°C.

La influencia de la sal en las propiedades dinámicas se puede observar en la figura 5.3.3 que muestra los espectros mecánicos de las **formulaciones III y IV**, entre las cuales la única diferencia es la adición de este componente. Se observa que la adición de sal produce una disminución en ambas funciones viscoelásticas, lo que se podría interpretar como consecuencia de la interferencia de la sal en el proceso de gelatinización del almidón, que se comenta a continuación en el apartado 5.3.3.

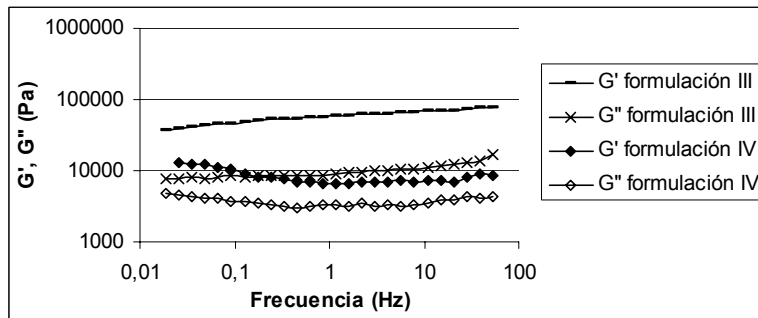


Figura 5.3.3. Espectros mecánicos de las **formulaciones III y IV** a 65°C.

La figura 5.3.4 muestra el espectro mecánico de la **formulación V** cuya única diferencia con la **formulación IV** es la presencia de impulsor. El comportamiento de ambas muestras es muy similar por lo que se puede concluir

que el impulsor no modifica las propiedades reológicas de la pasta a esta temperatura.

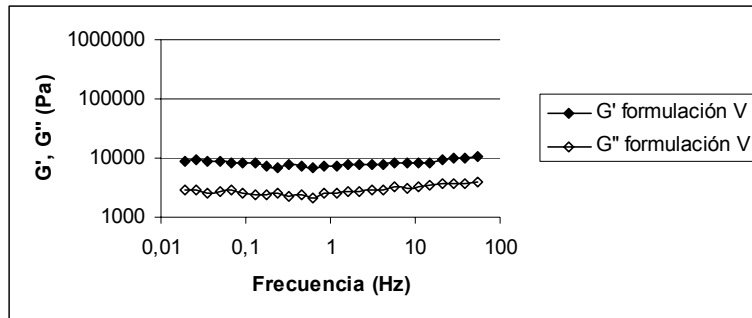


Figura 5.3.4. Espectro mecánico de la **formulación V** a 65°C.

5.3.3. EFECTO DE LA TEMPERATURA MEDIANTE ENSAYOS DINÁMICOS

La gelatinización de los gránulos de almidón en agua caliente es un fenómeno bien conocido en el cual se produce la ruptura de los gránulos de almidón con salida de parte de las moléculas que los constituyen al medio acuoso y formación de una disolución. Como consecuencia de este cambio, las pastas de almidón desarrollan una viscosidad, que las hace técnicamente muy útiles como ingredientes de las masas de rebozados. Por esto, se estudia el proceso de calentamiento de las masas elaboradas con las cinco formulaciones distintas y el comportamiento del almidón en dicho proceso mediante ensayos de reología dinámicos.

La figura 5.3.5 muestra que las formulaciones con sal (**IV** y **V**) presentan una temperatura de gelatinización del almidón más alta (70°C) en comparación con las **formulaciones I** (harina de trigo) o la **III** (harina de trigo y harina de maíz) (60°C). Este incremento en la temperatura de gelatinización debido a la presencia

de sal en la formulación, ya fue observado por Ganz (1965) en masas de almidón de maíz y por Evans y Haisman (1982) en almidón de patata. Aunque la sal puede aumentar la solubilización de la membrana lipoproteica del gránulo de almidón, lo que disminuiría la temperatura de gelatinización, puede producirse una posible competencia de la sal por el agua de hidratación necesaria para la gelatinización de los gránulos de almidón (efecto salting out); este efecto aumentaría la temperatura de gelatinización de los gránulos de almidón.

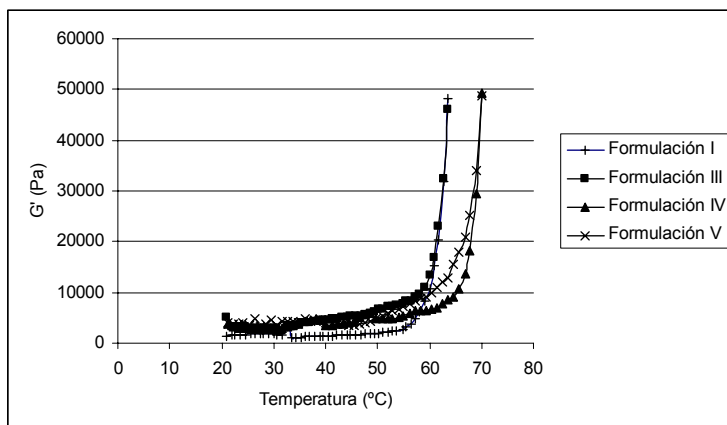


Figura 5.3.5. Módulo de almacenamiento (G') en función de la temperatura (T) de las distintas formulaciones.

5.4. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN PROTEICA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

En el presente apartado se aborda el estudio de las principales modificaciones que tienen lugar en la fracción proteica de los productos obtenidos en la elaboración de calamares rebozados congelados. Las etapas del proceso estudiadas (véase figura 4.1, apartado 4.2) son la etapa **pasta** (mezcla de los distintos ingredientes que constituyen la formulación del rebozado con agua), **rebozado** (la anilla de calamar recubierta con la pasta), **prefritura** (30 s en aceite a 180°C), **congelación** (1 semana a -18°C), **fritura final** (fritura 3 min a 180°C de los productos que han sufrido prefritura y congelación) y **fritura control** (3 min a 180°C, sin prefritura ni congelación). Para la cuantificación de la fracción proteica que se lleva a cabo en el apartado 5.4.1, se estudia sólo la **formulación V** por ser la más completa en ingredientes, mientras que en el estudio fino de proteínas por SDS-PAGE (apartado 5.4.2 y 5.4.3) las formulaciones estudiadas son: **formulación I** (sólo harina de trigo), **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor); la **formulación III** no se ensaya, ya que experimentos previos no indicaron diferencias importantes al modificar el contenido de maíz que se incorpora a la formulación.

La extracción de la fracción proteica se lleva a cabo con SDS ya que las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares de especies marinas desnaturalizadas por efecto del calor se solubilizan con este agente (Etienne *et al.*, 2000). Además, se obtienen rendimientos más elevados que con agua y que con disoluciones de urea (Etienne *et al.* 2001); el mayor poder de solubilización del SDS que de la urea también ha sido demostrado por An *et al.* (1989) en proteínas desnaturalizadas de camarón crudo y cocido.

5.4.1. CUANTIFICACIÓN DE LA FRACCIÓN PROTEICA

Tal y como se ha explicado en el apartado 4.3.3 se procede a la cuantificación de proteínas por el método OD₂₈₀ (Etienne *et al.*, 2001). Este método se basa en la detección y cuantificación de los aminoácidos aromáticos triptófano, tirosina y fenilalanina cuyos máximos de absorción se encuentran en torno a los 280 nm.

En este apartado, se cuantifica la fracción proteica de los productos obtenidos en las distintas etapas del proceso con la **formulación V**, por ser la más completa en ingredientes y con el fin de tener unos valores orientativos en cuanto a las cantidades de proteínas totales que pueda aportar un calamar rebozado congelado como alimento. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 5.4.1.

Tabla 5.4.1. Concentración de proteínas (mg/ mL de extracto) de los productos obtenidos en las distintas etapas del proceso con la **formulación V**.

Etapas	Proteínas (mg/ mL extracto)
Calamar	85.20±4.26
Pasta	11.54±0.96
Rebozado	27.13±1.15
Prefritura	25.52±2.01
Congelación	24.32±3.54
Fritura final	29.63±1.98
Fritura control	23.60±2.20

No existen diferencias significativas entre las distintas etapas excepto para la **pasta** y para la **fritura final**. La concentración de proteínas en la etapa pasta es mucho menor que en el resto de etapas ya que todavía no se le ha incorporado el calamar, que tiene una elevada concentración de proteínas. Después de las etapas de **prefritura** y de **congelación**, se aprecia una ligera disminución en el contenido proteico que aunque no es estadísticamente significativa, podría ser debida a la acción de la temperatura sobre las proteínas. Concretamente, durante

la **congelación**, se producen daños en las fibras musculares, debido a la formación de cristales de hielo, y se dan agregaciones entre proteínas que pueden afectar a su cuantificación (Ueng y Chow, 1998).

Los valores de concentración de proteínas obtenidos coinciden con los determinados por Etienne *et al.* (2001) para distintas especies de pescado congelado rebozado como bacalao, abadejo, merluza y salmón para los cuales obtienen concentraciones aproximadas de 16-17 mg proteína/ mL extracto.

Llama la atención que el contenido en proteínas del calamar **frito final** es mayor que el del calamar **frito control** por lo cual habría que profundizar en este estudio para obtener una explicación consistente.

5.4.2. INFLUENCIA DEL PROCESO EN LA FRACCIÓN PROTEICA (SDS-PAGE)

Las proteínas extraídas, como se ha explicado en el apartado 4.6.1.1, se analizan por la técnica SDS-PAGE. Los geles correspondientes a las cuatro formulaciones ensayadas se presentan en las figuras 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3 y 5.4.4. Como se ha indicado en el apartado 5.4, las formulaciones estudiadas son **I**, **II**, **IV** y **V**; la **formulación III** no se presenta dado que no se observan diferencias entre la **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)) y **formulación III** (harina de trigo y de maíz (6%)). Las bandas identificadas en las distintas carreras de las que consta cada gel se presentan en la tabla 5.4.2.

Tabla 5.4.2. Bandas identificadas en los distintos geles obtenidos para cada una de las formulaciones.

Bandas	Pm (kDa)
1	160
2	137
3	111
4	95
5	66
6	55
7	42
8	40
9	37
10	20
11	17
12	13

En las figuras 5.4.5, 5.4.6, 5.4.7 y 5.4.8 se presentan los correspondientes densitogramas.

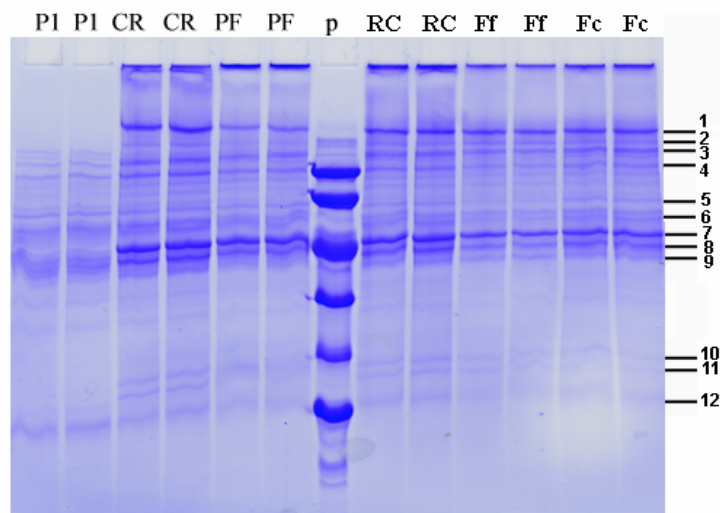


Figura 5.4.1. Electroforegrama correspondiente a los productos elaborados con la **formulación I**. P1: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control, p: patrón. Los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: 1: 160 kDa, 2: 137 kDa, 3: 111 kDa, 4: 95 kDa, 5: 66 kDa, 6: 55 kDa, 7: 42 kDa, 8: 40 kDa, 9: 37 kDa, 10: 20 kDa, 11: 17 kDa, 12: 13 kDa.

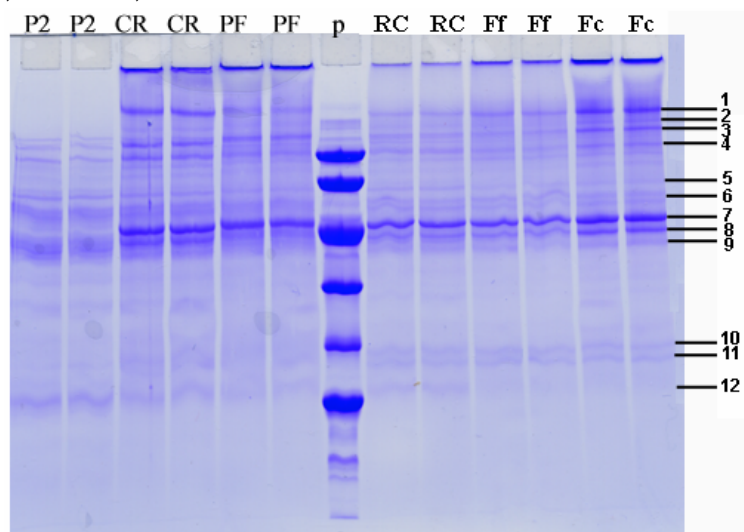


Figura 5.4.2. Electroforegrama correspondiente a los productos elaborados con la **formulación II**. P2: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control, p: patrón. Los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: 1: 160 kDa, 2: 137 kDa, 3: 111 kDa, 4: 95 kDa, 5: 66 kDa, 6: 55 kDa, 7: 42 kDa, 8: 40 kDa, 9: 37 kDa, 10: 20 kDa, 11: 17 kDa, 12: 13 kDa.

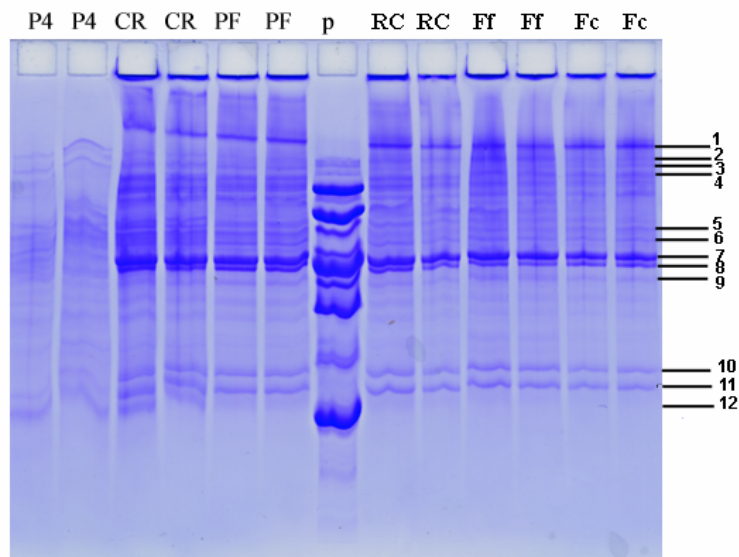


Figura 5.4.3. Electroforegrama correspondiente a los productos elaborados con la **formulación IV**. P4: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control, p: patrón. Los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: 1: 160 kDa, 2: 137 kDa, 3: 111 kDa, 4: 95 kDa, 5: 66 kDa, 6: 55 kDa, 7: 42 kDa, 8: 40 kDa, 9: 37 kDa, 10: 20 kDa, 11: 17 kDa, 12: 13 kDa.

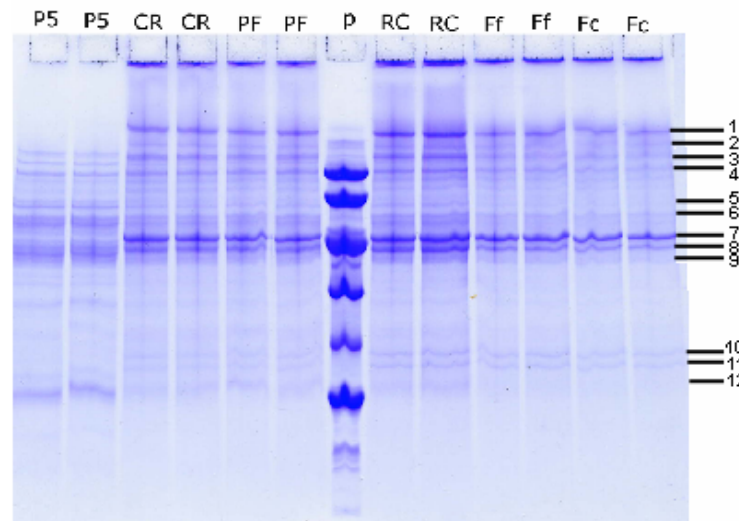


Figura 5.4.4. Electroforegrama correspondiente a los productos elaborados con la **formulación V**. P5: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control, p: patrón. Los pesos moleculares de las bandas estudiadas son: 1: 160 kDa, 2: 137 kDa, 3: 111 kDa, 4: 95 kDa, 5: 66 kDa, 6: 55 kDa, 7: 42 kDa, 8: 40 kDa, 9: 37 kDa, 10: 20 kDa, 11: 17 kDa, 12: 13 kDa.

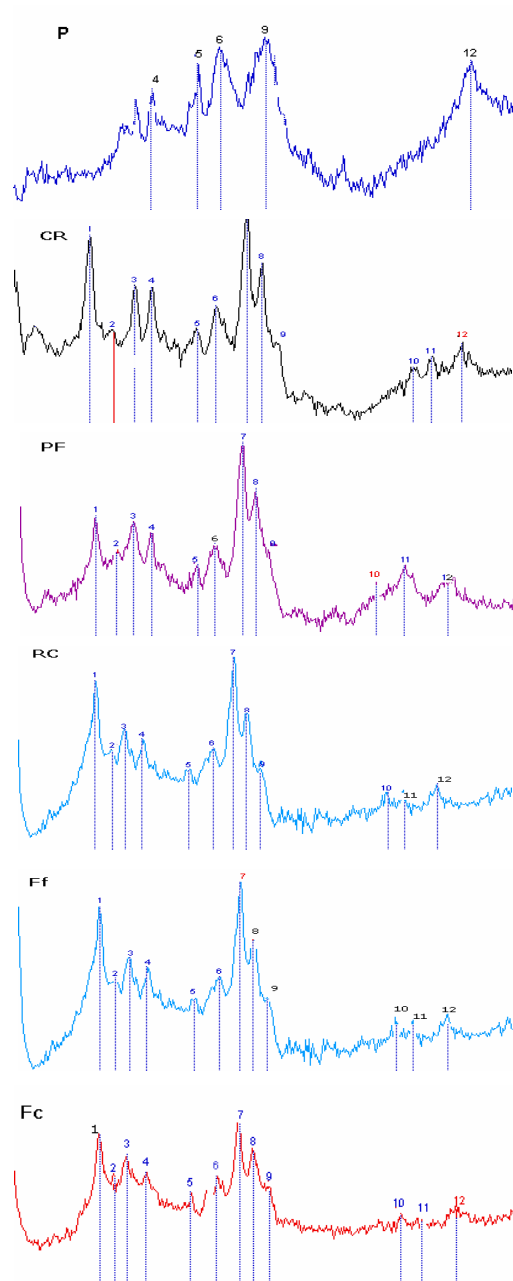


Figura 5.4.5. Densitogramas correspondientes a los productos elaborados con la **formulación I**. P: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

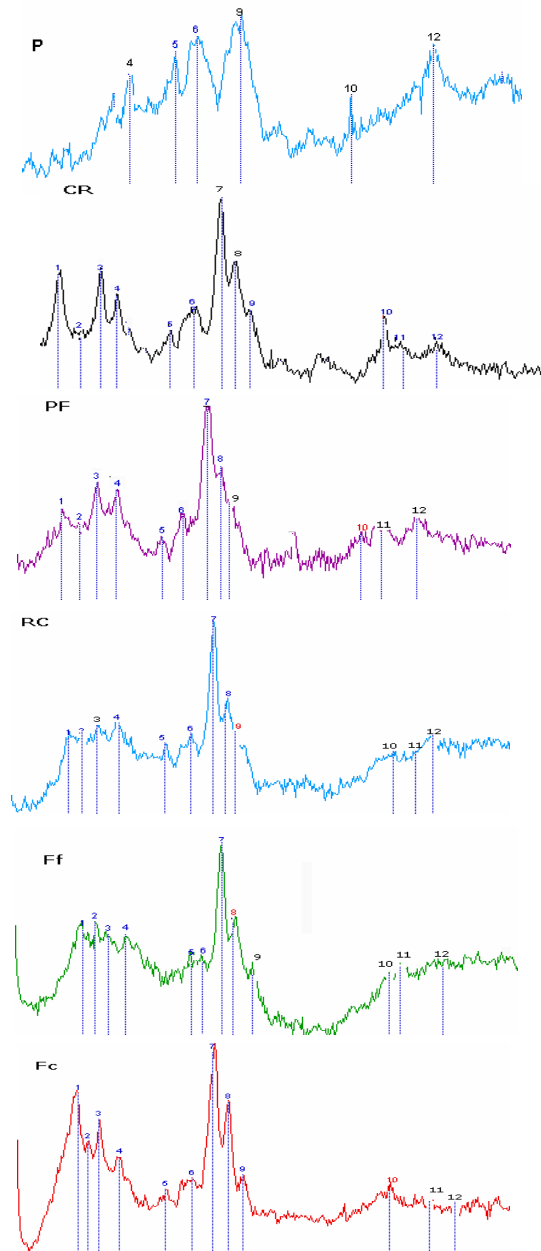


Figura 5.4.6. Densitogramas correspondientes a los productos elaborados con la **formulación II**. P: pasta. CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

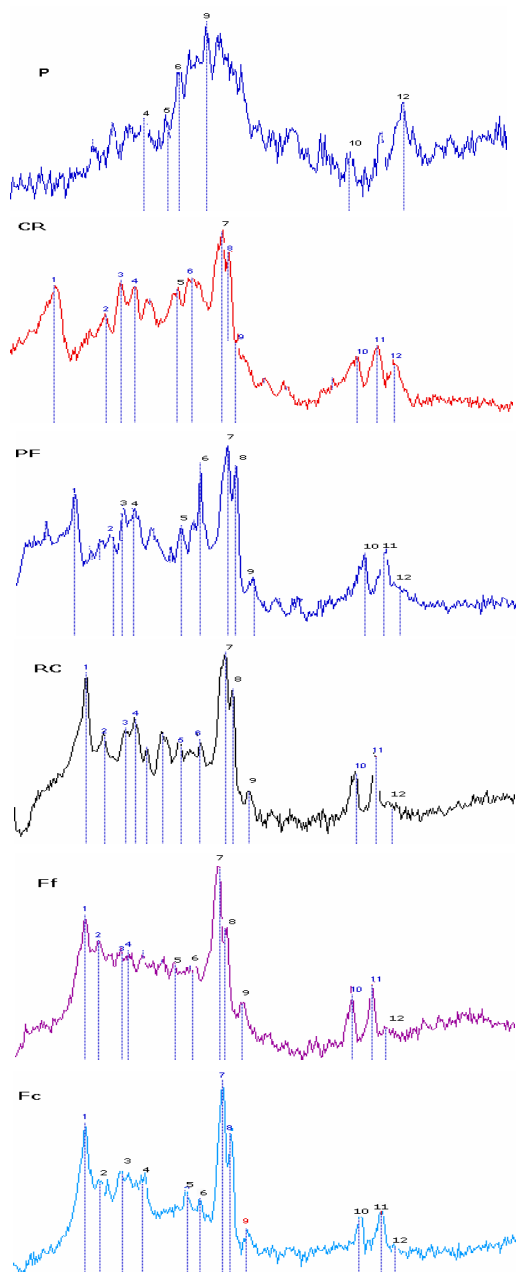


Figura 5.4.7. Densitogramas correspondientes a los productos elaborados con la **formulación IV**. P: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

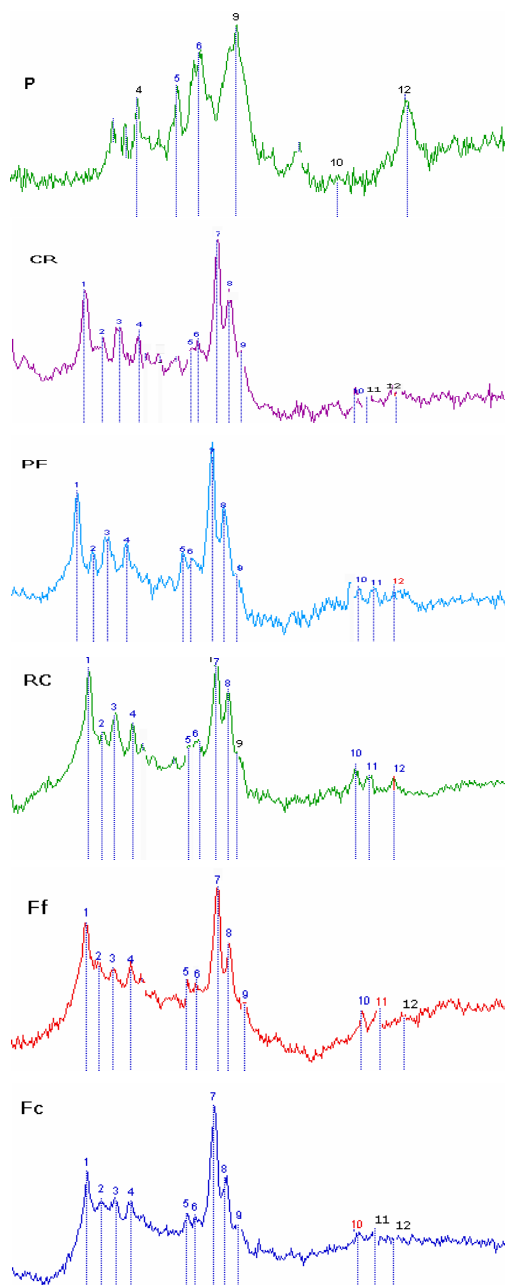


Figura 5.4.8. Densitogramas correspondientes a los productos elaborados con la **formulación V**. P: pasta, CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

Tabla 5.4.3. Porcentaje de área de cada banda del densitograma correspondiente a los productos elaborados con la **formulación I**. CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

	CR1	PF1	RC1	Ff1	Fc1
1	14.04	10.62	14.37	16.70	13.52
2	6.04	6.88	7.76	10.34	7.89
3	10.00	10.22	9.85	11.21	10.47
4	9.65	8.03	8.40	8.77	8.24
5	6.38	6.19	7.30	5.92	8.10
6	7.75	7.92	7.86	6.08	7.92
7	16.47	20.47	16.88	17.46	16.58
8	11.73	12.84	11.38	9.41	11.35
9	5.36	6.48	5.89	6.22	7.04
10	3.27	5.17	2.98	2.64	2.92
11	3.64	2.49	3.67	2.17	2.97
12	5.66	2.70	3.66	3.07	3.01

Tabla 5.4.4. Porcentaje de área de cada banda del densitograma correspondiente a los productos elaborados con la **formulación II**. CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

	CR2	PF2	RC2	Ff2	Fc2
1	10.69	6.93	8.14	10.27	13.06
2	5.99	5.60	7.48	8.11	9.19
3	11.14	11.10	7.82	9.55	10.38
4	9.38	10.12	8.76	9.24	7.89
5	5.20	4.27	5.91	6.42	5.01
6	6.97	6.69	7.04	6.08	6.12
7	18.45	20.15	21.12	19.38	16.74
8	12.37	11.21	12.58	9.00	11.80
9	7.28	7.41	6.03	5.13	5.88
10	4.49	4.20	4.80	4.97	3.92
11	3.39	6.14	4.21	5.12	4.56
12	4.67	6.18	6.11	6.71	5.45

Tabla 5.4.5. Porcentaje de área de cada banda del densitograma correspondiente a los productos elaborados con la **formulación IV**. CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

	CR4	PF4	RC4	Ff4	Fc4
1	9.46	10.73	12.22	11.51	12.70
2	6.51	7.65	8.37	9.47	8.13
3	9.70	9.09	8.87	9.24	9.37
4	9.24	8.58	9.21	8.70	8.56
5	9.63	7.52	8.05	7.82	7.17
6	9.83	7.74	8.02	7.93	7.57
7	12.88	13.66	13.60	15.45	15.00
8	11.80	11.65	11.78	10.25	10.11
9	5.64	8.42	4.66	5.05	5.05
10	5.16	3.57	5.27	5.36	5.94
11	5.38	5.46	6.36	6.23	6.58
12	4.76	5.94	3.58	3.01	3.82

Tabla 5.4.6. Porcentaje de área de cada banda del densitograma correspondiente a los productos elaborados con la **formulación V**. CR: rebozado, PF: prefritura, RC: congelación, Ff: fritura final, Fc: fritura control.

	CR5	PF5	RC5	Ff5	Fc5
1	12.09	12.76	14.00	13.66	11.16
2	8.86	7.58	8.03	9.10	9.23
3	10.85	8.92	10.23	8.70	8.25
4	8.79	8.51	8.85	9.28	8.28
5	7.12	6.98	7.30	7.34	6.39
6	8.15	7.60	7.39	6.89	6.49
7	17.09	17.35	14.46	17.99	18.29
8	11.23	12.84	11.54	11.10	10.34
9	5.84	7.59	6.02	5.57	5.13
10	3.64	3.37	4.26	2.41	6.44
11	2.80	3.46	4.48	4.36	4.89
12	3.56	3.05	3.46	3.59	5.11

Se identifican las principales bandas que aparecen en las distintas etapas, cualquiera que sea la formulación empleada (figuras 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3 y 5.4.4). Los densitogramas correspondientes se presentan en las figuras 5.4.5, 5.4.6, 5.4.7 y 5.4.8; la interpretación de los picos correspondientes a cada una de las bandas permite obtener un valor que se corresponde con el contenido orientativo de cada una de las fracciones proteicas, por lo que se debe hablar de una semicuantificación. Los porcentajes de área obtenidos para cada uno de los electroforegramas se presentan en las tablas 5.4.3, 5.4.4, 5.4.5 y 5.4.6.

Se puede observar que aparece muy marcada la banda 1 (160kDa) que corresponde a la cadena pesada de la miosina (MHC) correspondiente al calamar. Rodger *et al.* (1984) y Nagashima *et al.* (1992) estudian que en el músculo del calamar hay una gran actividad proteolítica que conduce a la degradación de la miosina con la consiguiente aparición de la cadena pesada de la miosina de 160 kDa (MHC).

La banda 2 (137 kDa) se identifica con la M-proteína y la C-proteína (Claeys *et al.*, 2002) que se encuentran entre un intervalo de pesos moleculares de 160-140 kDa y que corresponden a un conjunto de proteínas de origen animal de tipo miofibrilar.

La banda 3 (111 kDa) corresponde a la paramiosina. Esta proteína ha sido relacionada por Sano *et al.* (1986) con cambios en la rigidez del manto del calamar.

La banda 4 (95 kDa) se visualiza en el calamar rebozado y también en la etapa pasta, puede corresponder a algún monómero de glutenina de alto peso molecular. Los monómeros más abundantes de esta fracción de gluten tienen pesos moleculares entre 67 y 88 kDa; sin embargo, los cálculos basados en su

movilidad electroforética en geles de poliacrilamida dan valores habitualmente más altos, entre 82-115 kDa, según describen Payne *et al.* (1981).

La banda 5 (66 kDa) aparece tenue en el calamar rebozado, sin embargo se puede observar siempre en las carreras correspondientes a las distintas pastas. Podría identificarse según Shewry (2003) como algún agregado de gliadinas de elevado peso molecular o algún monómero de glutenina de bajo peso molecular de la fracción proteica del trigo.

La banda 6 (55 kDa) se muestra bastante marcada en el calamar rebozado. Los autores que estudian modificaciones en la fracción proteica del calamar como Kolodziejska *et al.* (1992) o Nagashima *et al.* (1992) no identifican estas bandas. En cambio sí que aparece en las carreras referentes a las pastas, por tanto, debe corresponderse con alguna proteína procedente de los cereales. Podría identificarse como las gliadinas ω (50-60 kDa) pertenecientes a la fracción proteica del trigo (Shewry, 2003).

La banda 7 (42 kDa) se identifica con la actina y la banda 8 se corresponde con la tropomiosina (40 kDa) aportadas por el aparato contráctil del calamar.

La banda 9 corresponde con una proteína de peso molecular 37 kDa. Esta banda aparece siempre en las carreras correspondientes a las pastas de las distintas formulaciones, y podría identificarse como las gliadinas α , β y γ del trigo cuyos pesos moleculares oscilan entre 30-45 kDa (Cheftel *et al.*, 1989) o monómeros de glutenina de bajo peso molecular (Shewry, 2003).

Las bandas 10, 11 y 12 podrían corresponder a las cadenas ligeras de la miosina (13-20 kDa) también identificadas por Kolodziejska *et al.* (1992). Sin embargo, las bandas 10 y 12 también se observan en las carreras correspondientes a la pasta. Coincidiendo con el intervalo de pesos moleculares

de la banda 10 también podría solaparse con la proteína del maíz α -zeína, que es identificada a 19-22 kDa por Coleman y Lerkins (1999). Esta banda se observa en los densitogramas correspondientes a las **formulaciones II** (harina de trigo y maíz (3%)), **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), pero no en el correspondiente a la **formulación I** (sólo harina de trigo), que carece de harina de maíz. Por otro lado, en cuanto a la banda 12 (13 kDa) claramente diferenciada en la pasta y que también se identifica en la totalidad de las muestras del proceso, no hay suficiente información bibliográfica que permita asegurar con garantía a que tipo de proteína corresponde.

A continuación, se procede a la descripción de los cambios que se producen en las distintas proteínas identificadas anteriormente durante la elaboración de calamares rebozados congelados fabricados con las distintas formulaciones, para lo cual se hará referencia a los ya citados resultados de la semicuantificación (tablas 5.4.3, 5.4.4, 5.4.5 y 5.4.6).

El porcentaje de área correspondiente a la cadena pesada de la miosina MHC (banda 1) disminuye en la etapa de **prefritura** para las **formulaciones I y II** y se mantiene prácticamente constante para las **formulaciones IV y V**. Tras la etapa de **congelación**, el porcentaje de área aumenta en todas las formulaciones; la formación de enlaces cruzados entre distintos productos procedentes de la degradación proteica que debe de sufrir el producto durante la **prefritura** y la **congelación** puede hacer que se extraigan proteínas de elevado peso molecular en el método SDS-PAGE usado. Ueng y Chow (1998) describen agregaciones proteicas durante la etapa de **congelación** en calamar congelado. Tras la **fritura final**, esta proteína aumenta para las **formulaciones I y II** y disminuye para las **formulaciones IV y V**. Tras la fritura control, la banda 1 disminuye en las **formulaciones I y V** y aumenta en las **formulaciones II y IV**.

Las bandas 2 y 3 aumentan conforme transcurre el proceso, ambas se comportan de manera similar durante las distintas etapas.

En conjunto, las tres bandas anteriores (bandas 1, 2 y 3) sufren alteraciones a lo largo del proceso. Estas alteraciones se atribuyen principalmente al tratamiento térmico. Niwa *et al.* (1980) describen deterioros en la molécula de miosina al someter a distintas especies marinas a las temperaturas de calentamiento necesarias para la elaboración de surimi. Lee *et al.* (1990) también describen cambios en la MHC durante el tratamiento térmico de merluza y lo relacionan con la capacidad de entrecruzamiento de proteínas en la elaboración de geles.

La banda 4 no parece demasiado afectada por el proceso; prácticamente se mantiene constante tras las etapas de **fritura final** y de **fritura control**. Parece que se trata de una proteína especialmente resistente a los tratamientos de calor.

Las bandas 7, 8 y 9 presentan un porcentaje de área mayor tras la etapa de **prefritura**, aunque en la banda 8 no es tan marcado. Mientras que tras la etapa de **congelación** se produce un descenso en las **formulaciones I y V**, en las **formulaciones II y IV** se observa un incremento; la agregación de proteínas que se produce durante la congelación (Ueng y Chow, 1998) podría explicar estas alteraciones. En la **fritura final**, todas las formulaciones disminuyen ligeramente su contenido en dichas proteínas.

El efecto del calor parece degradar las proteínas identificadas como bandas 10, 11 y 12, sobre todo en la **formulación I** ya que se observa una disminución del área correspondiente a estos picos en los densitogramas.

A la vista de todos estos resultados, se puede concluir que no sólo las proteínas de la capa de rebozado, que están en contacto directo con el aceite de fritura, son las que se degradan durante el proceso de elaboración de rebozados congelados, sino que el calamar substrato también presenta alteraciones en su fracción proteica, sobre todo en lo que a las proteínas miofibrilares se refiere. Este

hecho indica que el aceite de fritura penetra hasta el alimento substrato, lo que concuerda con lo que ya se había evidenciado a nivel microscópico en el apartado 5.1.

5.4.3. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA FRACCIÓN PROTEICA (SDS-PAGE)

Lo más destacable al estudiar la influencia de los distintos ingredientes sobre la fracción proteica se atribuye a dos ingredientes: a la sal y al impulsor. Por un lado, en la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal), que contiene 5.5 g sal/ 100g producto, se puede apreciar que las bandas 3 y 4 están más atenuadas en todas las etapas del proceso que en las formulaciones que no incorporan este ingrediente (**formulaciones I y II**). Aunque la sal se incorpora a la capa de rebozado, podría difundir a lo largo del proceso de elaboración hasta el calamar substrato produciendo degradación de algunas proteínas miofibrilares como la paramiosina. El efecto de la solubilización de proteínas ha sido estudiado por Gómez-Guillén *et al.* (1997) en la elaboración de geles de surimi utilizando como materia prima calamar gigante; este fenómeno se traduce en una disminución de la rigidez del tejido muscular, lo que resulta interesante para mejorar la calidad del producto.

Por otro lado, la incorporación del impulsor (**formulación V**) supone la creación de alvéolos en la estructura de la capa de rebozado (véase apartado 5.1) que permitiría una mayor penetración del aceite de fritura hasta el calamar. Por este motivo, algunas proteínas de la fracción miofibrilar del calamar están más degradadas cuando se emplea esta formulación, por ejemplo, las bandas 1 (cadena pesada de la miosina, 160 kDa), 3 (paramiosina, 111 kDa). Otro hecho a destacar sería que coincidiendo con la disminución de bandas de alto peso molecular, aparecen aumentadas las bandas 10, 11 y 12 de menor peso

Resultados y discusión

molecular. En estas últimas podrían acumularse los productos de degradación de las proteínas de alto peso molecular.

5.5. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

Se lleva a cabo un estudio del contenido en humedad de los productos obtenidos en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados preparados con 5 formulaciones diferentes. Las etapas estudiadas en este apartado son las siguientes: **pasta (P)**, **rebozado (CR)**, **prefritura (PF)**, **congelación (RC)**, **fritura final (Ff)** y **fritura control (Fc)**. Las formulaciones empleadas son: **formulación I** (sólo harina de trigo), **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **formulación III** (harina de trigo y de maíz (6%)), **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). Se incluye también la humedad del **calamar (C)** utilizado como sustrato para rebozar.

5.5.1. INFLUENCIA DEL PROCESO EN LA HUMEDAD.

Los resultados de humedad de la anilla de **calamar (C)**, antes de ser sometida a los procesos de rebozado y fritura, presentan un elevado contenido en agua (83.49 g agua/ 100 g calamar), porcentaje similar al obtenido por Sikorski y Kolodziejska (1986) para calamar fresco.

Las figuras 5.5.1, 5.5.2, 5.5.3, 5.5.4 y 5.5.5 muestran que independientemente de la formulación utilizada para la elaboración, se produce una disminución en el contenido de humedad tras la etapa de **prefritura (PF)**. Sin embargo, no existen diferencias significativas (95%) en el contenido en agua entre la **prefritura (PF)** y la **congelación (RC)**.

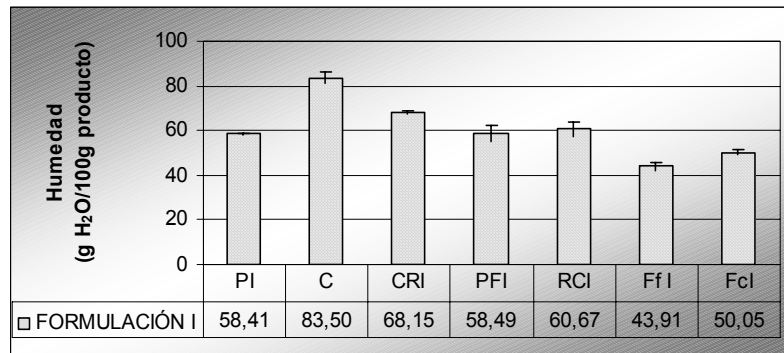


Figura 5.5.1. Evolución de la humedad de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

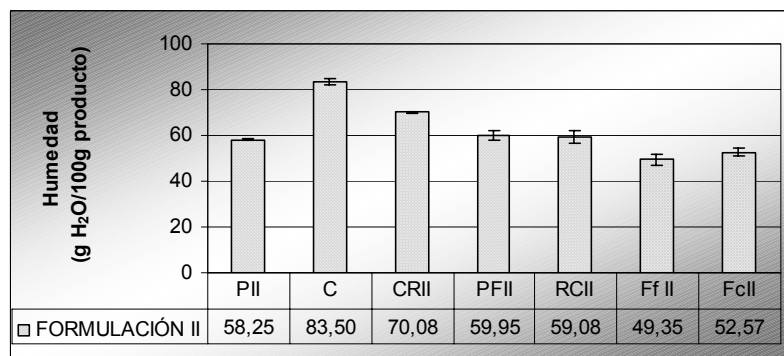


Figura 5.5.2. Evolución de la humedad de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

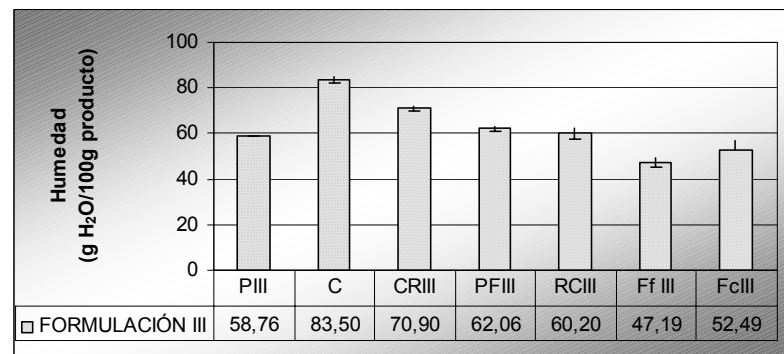


Figura 5.5.3. Evolución de la humedad de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

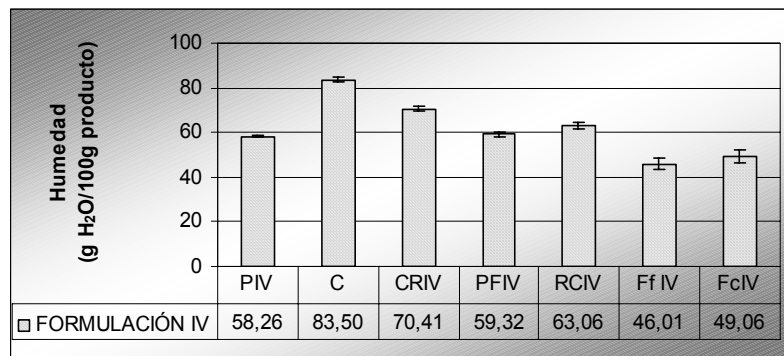


Figura 5.5.4. Evolución de la humedad de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

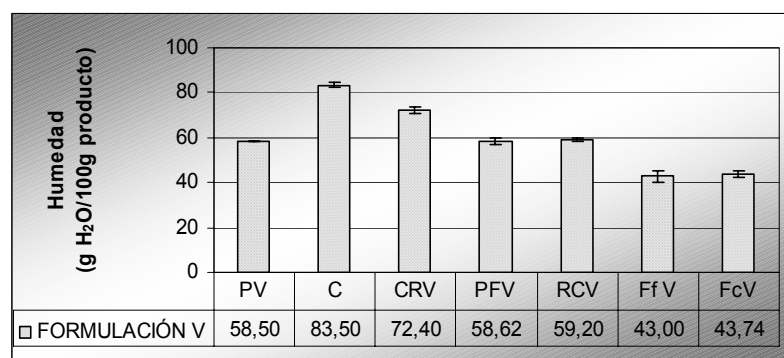


Figura 5.5.5. Evolución de la humedad de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Cuando el calamar rebozado **congelado (RC)** se fríe durante 3 min a 180°C y se obtiene el **frito final (Ff)**, el contenido en agua disminuye con respecto al producto rebozado **prefrito (PF)** y al producto rebozado **congelado (RC)** en todas las formulaciones. Esto indica que, como era de suponer, durante la etapa de fritura se produce una importante evaporación de agua que hace que la humedad en el producto **frito final (Ff)** descienda.

Para las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y de maíz(3%)), **III** (harina de trigo y maíz (6%)) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal), el

mayor contenido en humedad del **frito control (Fc)** que del **frito final (Ff)** podría ser debido a que este último ha sido sometido a congelación, proceso que puede generar grietas y poros que hacen que el agua se evapore más rápidamente durante la fritura. La generación de grietas durante la congelación de productos rebozados congelados ha sido confirmado mediante microscopía electrónica por Llorca *et al.* (2001).

Esta evaporación es todavía mayor en la fritura doméstica final antes de su consumo. Y así, al comparar el contenido en humedad del producto **frito final (Ff)** con el producto **frito control (Fc)** se encuentran contenidos superiores en el primero, con diferencias significativas para todas las formulaciones excepto para la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). Este hecho sería debido a que esta formulación lleva impulsor, que genera muchos alvéolos (véase apartado 5.1.3), y puede ser el responsable de una evaporación de agua muy drástica tanto en la etapa de fritura final como en la de fritura control, lo cual igualaría los contenidos en humedad en ambos casos.

De este modo el **Ff** pierde más humedad que el **Fc** respecto del **CR** inicial de partida para cada una de las formulaciones, lo cual puede observarse cuantificado en la tabla 5.5.1 donde en la 1ª columna se observan las mayores pérdidas de humedad de **Ff** y en la 2ª columna la pérdida de humedad de **Fc**.

Tabla 5.5.1. Pérdidas de humedad del **Ff** y del **Fc** con respecto al **CR** inicial para cada una de las formulaciones (g H₂O/ 100g de **CR** inicial en cada formulación).

Formulación i	$\frac{CR_i - Ff_i}{CR_i} \times 100$	$\frac{CR_i - Fc_i}{CR_i} \times 100$
Formulación I	35.57	26.56
Formulación II	29.58	24.99
Formulación III	33.44	25.97
Formulación IV	34.65	30.32
Formulación V	40.6	39.59

5.5.2. INFLUENCIA DE LAS DISTINTAS FORMULACIONES EN LA HUMEDAD.

En este apartado, se estudia el efecto de las 5 formulaciones empleadas sobre la humedad de cada uno de los productos obtenidos en las distintas etapas del proceso.

La humedad de las pastas elaboradas con las distintas formulaciones se presenta en la figura 5.5.6. Como es lógico, no hay diferencias significativas entre ellas, ya que todas han sido elaboradas con la misma proporción agua/ resto de ingredientes.

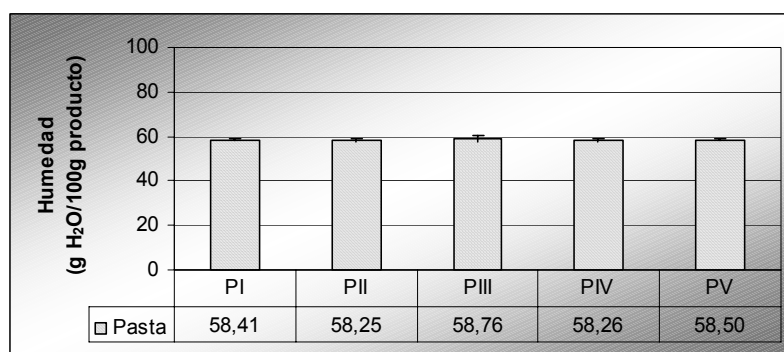


Figura 5.5.6. Humedad de la **pasta (P)** elaborada con las distintas formulaciones

Tampoco aparecen diferencias significativas tras la etapa de **rebozado (CR)** y de **prefritura (PF)** tal y como muestran las figuras 5.5.7 y 5.5.8, respectivamente.

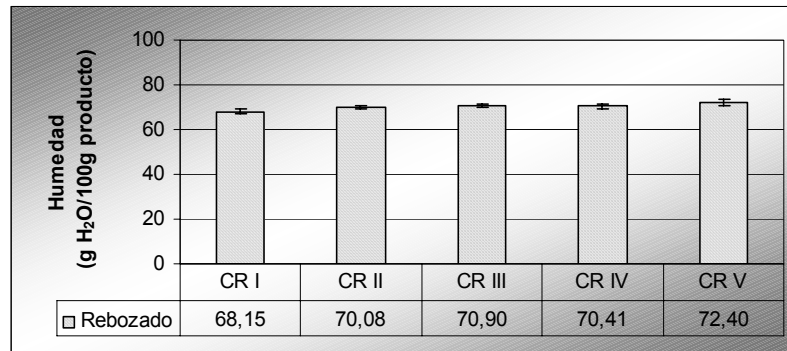


Figura 5.5.7. Humedad de los productos elaborados con las distintas formulaciones obtenidos tras la etapa de **rebozado (CR)**.

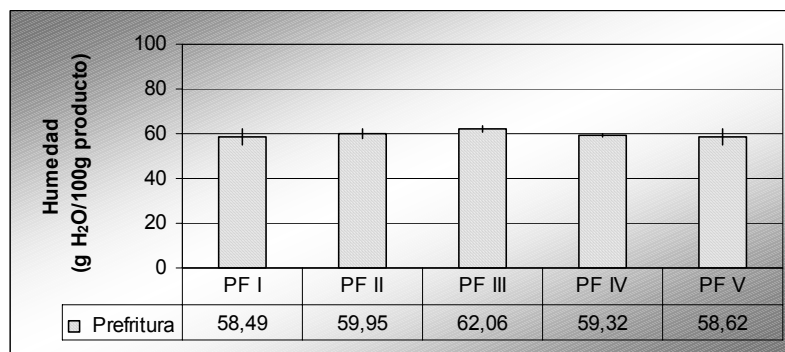


Figura 5.5.8. Humedad de los productos elaborados con las distintas formulaciones obtenidos tras la etapa de **prefritura (PF)**.

Sin embargo, la disminución de humedad que se aprecia durante la etapa de prefritura, no es de la misma intensidad para las 5 formulaciones, aunque los valores son muy cercanos.

A la vista de los resultados, destaca que la formulación que más agua pierde durante la **prefritura** es la **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) lo que se relaciona con la presencia de impulsor que genera alvéolos que facilitan la salida de agua durante esta etapa de impacto térmico, tal como ha quedado mostrado en el estudio de la microestructura (apartado 5.1.3).

No existen diferencias significativas tras la etapa de congelación para los productos rebozados congelados (**RC**) preparados con las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y de maíz (3%)) y **III** (harina de trigo y de maíz (6%)) (figura 5.5.9). En cambio, el RC elaborado con la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) presenta mayor contenido en agua; esto podría ser debido al efecto solubilizador de la sal sobre las proteínas que hace que esta masa retenga más agua.

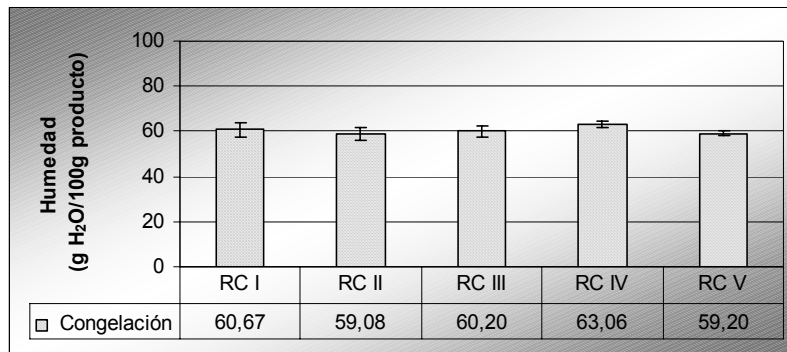


Figura 5.5.9. Humedad de los productos elaborados con las distintas formulaciones obtenidos tras la etapa de **congelación (RC)**.

Las figuras 5.5.10 y 5.5.11 presentan los resultados correspondientes al producto **frito final (Ff)** y el producto **frito control (Fc)**, respectivamente. La figura 5.5.10 muestra que el contenido en humedad depende de los componentes de las formulaciones; así cuando se añade maíz (formulaciones II y III) aumenta el contenido de agua tanto en **Fc** como en **Ff**. Precisamente el empleo de este ingrediente en las formulaciones hace que la capacidad de retención sea mayor; Burge (1990) describen mayor capacidad de retención de agua para los gránulos de almidón de maíz que para los del trigo. Esto también se traduce en un aumento del área de los gránulos de almidón, que se ha observado a nivel microestructural (ver apartado 5.1.4.3). Otro hecho a destacar es la existencia de diferencias significativas entre la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) y el

resto de las formulaciones. La disminución de la humedad en la **formulación V** es debido a la presencia de impulsor, como ya se ha explicado anteriormente.

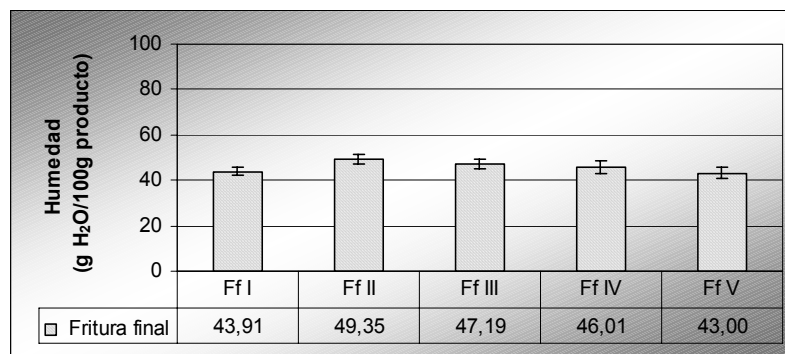


Figura 5.5.10. Humedad de los productos elaborados con las distintas formulaciones obtenidos tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

Los resultados correspondientes al producto **frito control (Fc)** muestran que sólo existen diferencias significativas en la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor).

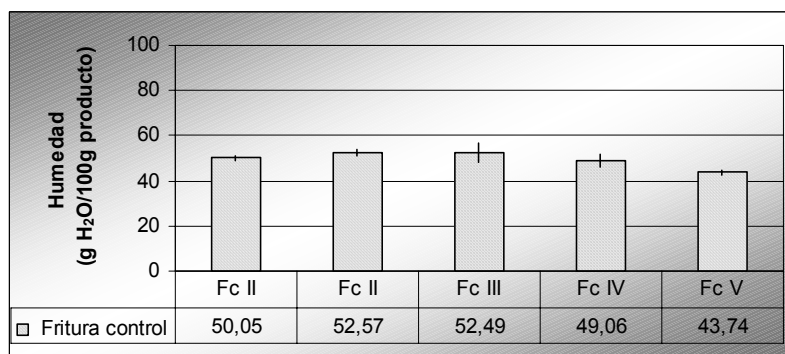


Figura 5.5.11. Humedad de los productos elaborados con las distintas formulaciones obtenidos tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

5.5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE EL FACTOR “FORMULACIÓN” Y EL FACTOR “ETAPA” SOBRE LA HUMEDAD.

En la figura 5.5.12 se presentan los intervalos LSD de la humedad correspondientes a los distintos niveles del factor **formulación** (para cualquier etapa del proceso) y correspondientes a los distintos niveles del factor **etapa** (para cualquier formulación). También se representan los diagramas de interacción entre ambos factores para el parámetro humedad.

En el estudio de la humedad según la formulación empleada, destaca que los valores de la humedad de los productos elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), son menores que para el resto de las formulaciones. Este hecho parece lógico, ya que esta formulación contiene impulsor que genera alvéolos que facilita la deshidratación en todo el proceso de elaboración de productos rebozados congelados. La **formulación V** presenta diferencias significativas con el resto de formulaciones excepto con la **formulación I** (sólo harina de trigo). Las **formulaciones II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **III** (harina de trigo y de maíz (6%)) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) no presentan diferencias significativas entre ellas.

En el estudio de la humedad según el proceso, destacan la etapa de **rebozado** con los valores más altos, ya que el producto substrato posee un 83 % de agua; y también la etapa de **fritura final** con los valores menores de todo el proceso. La etapa de **fritura control** presenta valores un poco mayores que los correspondientes a la etapa de **fritura final**. Las etapas de **prefritura** y de **congelación** no presentan diferencias significativas entre ellas.

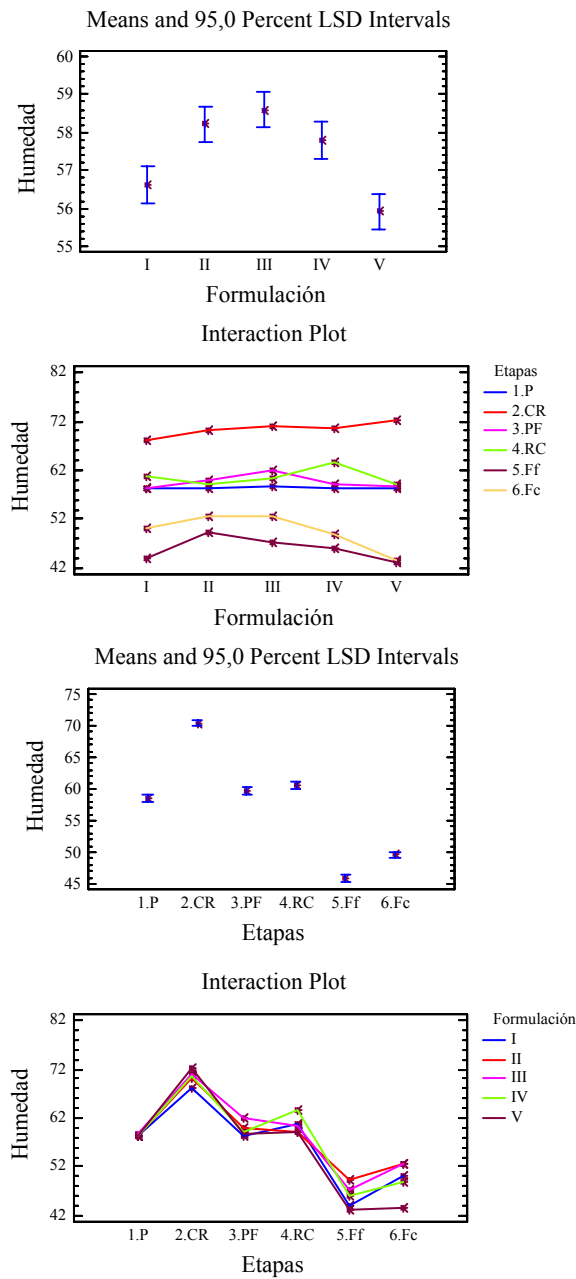


Figura 5.5.12. Humedad e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de productos rebozados congelados

5.6. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

5.6.1. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN GRASA.

Se lleva a cabo un estudio del contenido en grasa de los distintos productos obtenidos en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados preparados con las 5 formulaciones diferentes. Las etapas y las formulaciones estudiadas son las mismas que en el apartado 5.5.

5.6.1.1. Influencia del proceso en el contenido en grasa.

Se estudia la variación del contenido en grasa en las distintas etapas del proceso para cada una de las formulaciones.

Las figuras 5.6.1, 5.6.2, 5.6.3, 5.6.4 y 5.6.5 presentan la evolución del contenido en grasa de los productos obtenidos al elaborar los calamares rebozados congelados con las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **III** (harina de trigo y de maíz (6%)), **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), respectivamente.

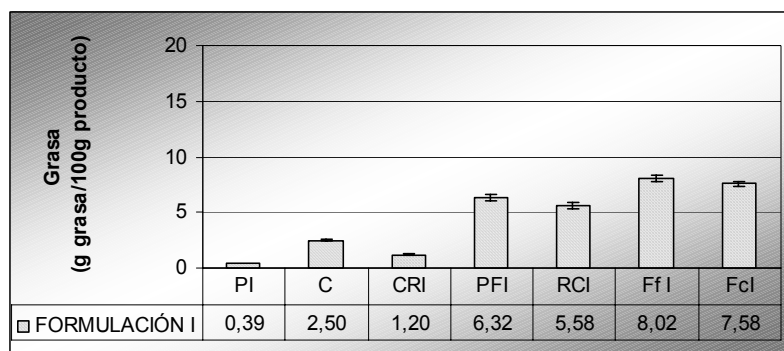


Figura 5.6.1. Evolución del contenido en grasa de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

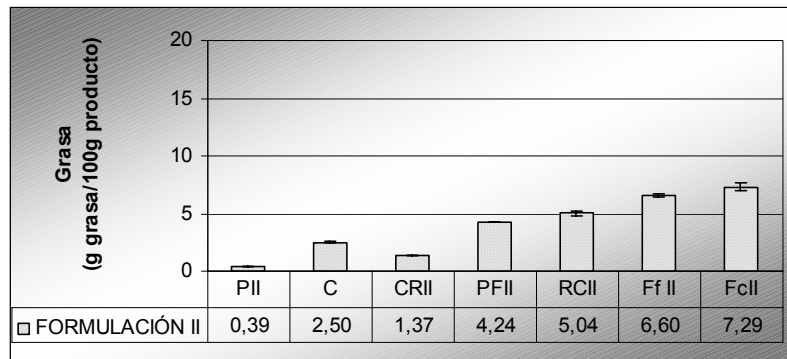


Figura 5.6.2. Evolución del contenido en grasa de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

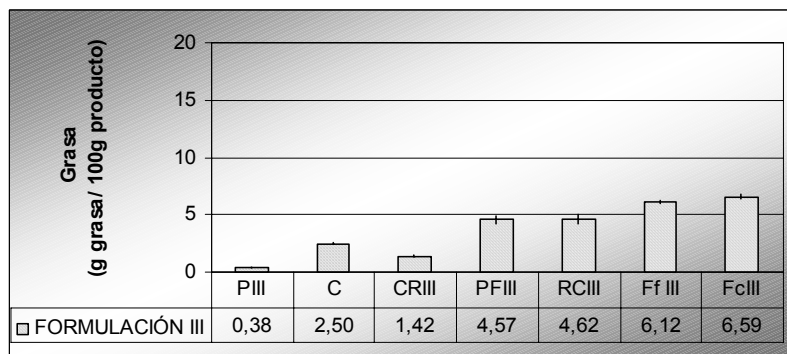


Figura 5.6.3. Evolución del contenido en grasa de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

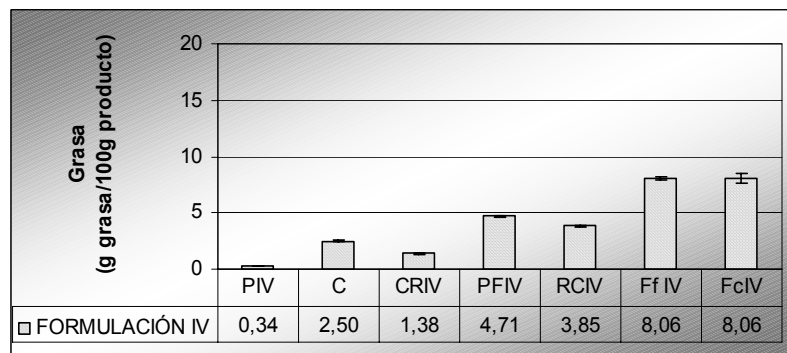


Figura 5.6.4. Evolución del contenido en grasa de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

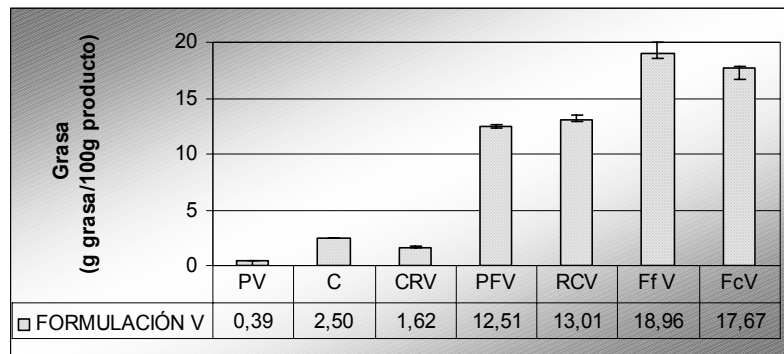


Figura 5.6.5. Evolución del contenido en grasa de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Se observa que las **pastas (P)** contienen una cantidad muy pequeña de grasa (0,39 g grasa /100 g pasta); la **anilla de calamar fresca (C)** presenta también un bajo contenido lipídico (2.5 g grasa/ 100 g calamar fresco).

El contenido en materia grasa se eleva considerablemente durante el proceso de prefritura para todas las formulaciones empleadas. Lógicamente, la fritura incrementa aún más el contenido en grasa. Si se compara el contenido lipídico del producto **frito final (Ff)** con el producto **frito control (Fc)**, se observa que el Ff tiene un contenido en grasa significativamente más elevado que el Fc sólo para la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). Esta diferencia, que se atribuye al procesado industrial, puede ser en parte debida a que el producto elaborado con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) ya haya absorbido gran cantidad de grasa durante la prefritura. Además, durante la congelación se producen grietas, tanto en el producto substrato como en la capa de rebozado (Llorca *et al.* 2003); estas grietas o huecos que ya se han descrito en el apartado 5.1, se producirían como consecuencia del crecimiento de cristales de hielo durante la congelación y favorecerían la consecuente salida de agua y penetración de grasa durante la fritura.

5.6.1.2. Influencia de la formulación en el contenido en grasa.

En este apartado se estudia el efecto que tiene la formulación sobre el contenido en grasa a lo largo del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Como se observa en la figura 5.6.6, el contenido en grasa de las pastas elaboradas con las distintas formulaciones es muy bajo y no presenta diferencias significativas entre ellas. Tampoco se aprecian diferencias significativas en los resultados obtenidos en la etapa de rebozado para las diferentes formulaciones (figura 5.6.7).

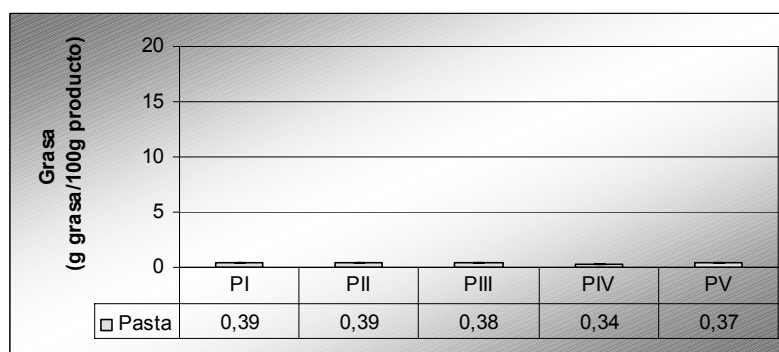


Figura 5.6.6. Contenido en grasa de la **pasta (P)** elaborada con las distintas formulaciones.

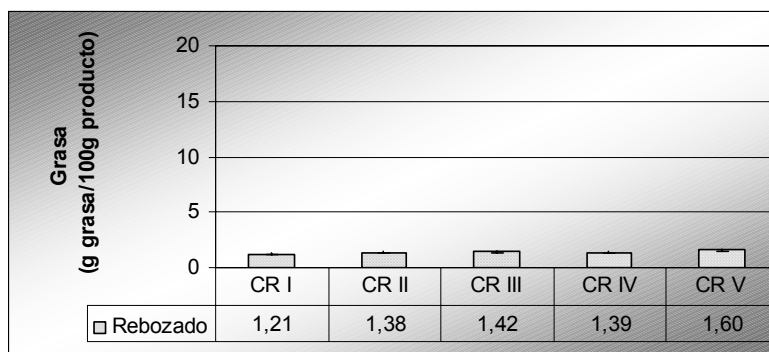


Figura 5.6.7. Contenido en grasa de los productos elaborados con las distintas formulaciones tras la etapa de **rebozado (CR)**.

En las figuras 5.6.8 y 5.6.9 se presentan los datos correspondientes al contenido graso tras la **prefritura (PF)** y la **congelación (RC)** en las distintas formulaciones.

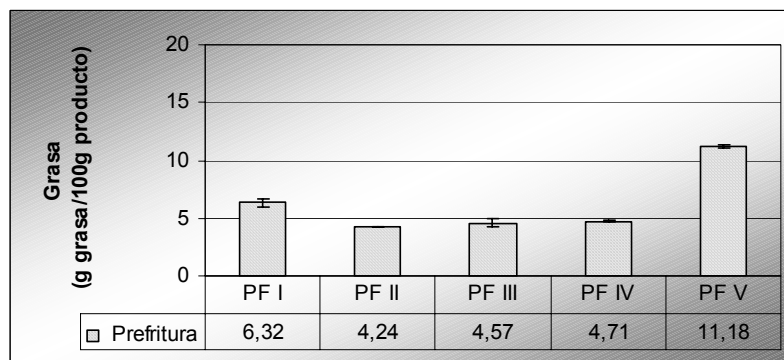


Figura 5.6.8. Contenido en grasa de los productos elaborados con las distintas formulaciones tras la etapa de **prefritura (PF)**.

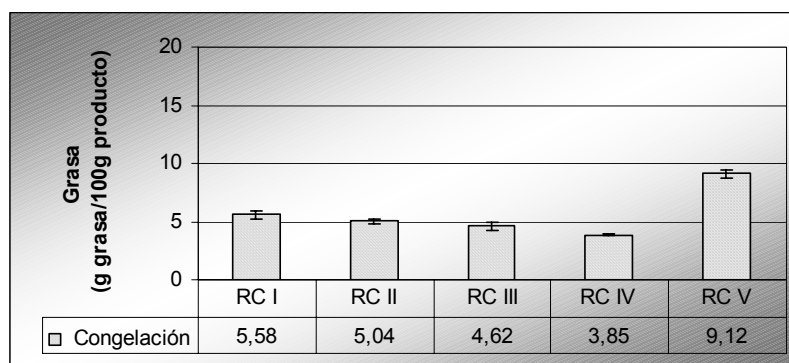


Figura 5.6.9. Contenido en grasa de los productos elaborados con las distintas formulaciones tras la etapa de **congelación (RC)**.

Tras la etapa de prefritura, el contenido graso de los productos elaborados con las **formulaciones III** (harina de trigo y de maíz (3%)) y **IV** (harina de trigo, de maíz y sal) no presentan diferencias significativas (figura 5.6.8). Sin embargo, la sustitución parcial de la harina de trigo por harina de maíz (**formulación II**) disminuye la cantidad de grasa absorbida lo que podría estar relacionado con la disminución en el contenido de gluten de dicha formulación. Burge (1990)

encuentra una relación inversa entre la absorción de grasa y el nivel de maíz añadido en la formulación de rebozado para “fish and chips” y lo relaciona con la mayor capacidad de retención de agua del almidón de maíz durante su gelatinización en la etapa de prefritura. Los productos prefritos elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) son, lógicamente, los que sufren un mayor aumento del contenido lipídico debido a la presencia de impulsor en dicha formulación que facilitaría la penetración de grasa. Se puede observar los incrementos en grasa que se produce entre el producto **prefrito (PF)** y el producto **rebozado (CR)**, elaborados con las distintas formulaciones. Nótese el enorme incremento producido en la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor).

La observación de los resultados correspondientes a las etapas de fritura final y control (figuras 5.6.10 y 5.6.11) muestra que la sustitución de parte de harina de trigo por harina de maíz (**formulación II y III**) disminuye la absorción de grasa tanto en la **fritura final (Ff)** como en la **fritura control (Fc)**, tal y como se ha observado también en la etapa de prefritura. La adición de sal (**formulación IV**) contrarresta esta reducción en el contenido graso tanto en el **Ff** como en el **Fc**. Por un lado, la reducción en la cantidad de gluten en la **formulación II** (harina de trigo y de maíz (3%)) y por otro la disolución de las proteínas funcionales por efecto de la sal (**formulación IV**) podrían explicar este fenómeno contradictorio. Como es de suponer el contenido en grasa de la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) es notablemente elevado ya que esta formulación es la que contiene impulsor, que genera alvéolos y canales por donde fácilmente penetra el aceite de fritura.

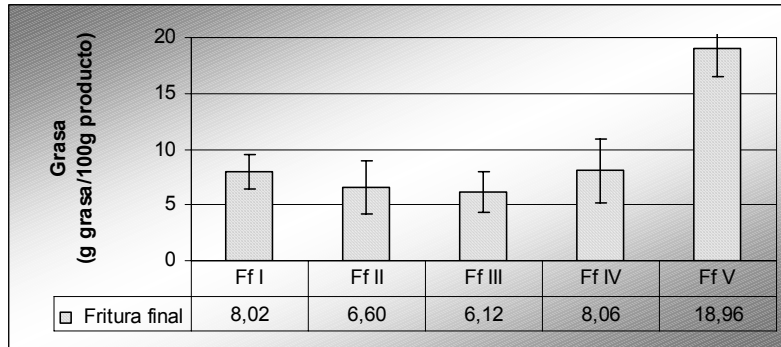


Figura 5.6.10. Contenido en grasa de los productos elaborados con las distintas formulaciones tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

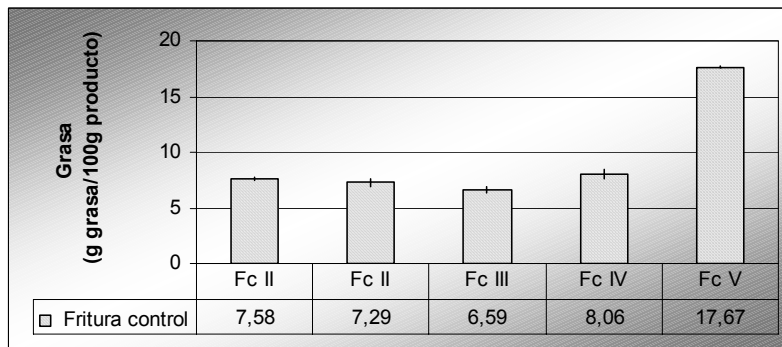


Figura 5.6.11. Contenido en grasa de los productos elaborados con las distintas formulaciones tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

Las formulaciones que llevan maíz, en conjunto tienen al final mayor contenido en agua y menor contenido en grasa. Desde el punto de vista del consumidor, esto es interesante porque significa menor ingesta de grasa. Desde el punto de vista del productor, también es interesante porque supone un menor consumo de aceite durante el proceso. Tradicionalmente se ha considerado la adición de maíz para colorear el rebozado, si bien esta finalidad es trivial puesto que masivamente el color se desarrolla durante las etapas de prefrutura y de fritura presumiblemente por reacciones de Maillard. Así pues, aunque la adición de maíz puede ser suprimida para generar el color, es importante mantener esta adición por sus aspectos beneficiosos ya comentados referentes al menor contenido en grasa.

5.6.1.3. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre el contenido en grasa.

En la figura 5.6.12 se presentan los intervalos LSD del contenido graso correspondientes a los distintos niveles del factor **formulación** (para cualquier etapa del proceso) y los correspondientes a los distintos niveles del factor **etapa** (para cualquier formulación). También se representan los diagramas de interacción entre ambos factores para el parámetro contenido en grasa.

En el estudio del contenido en grasa según las distintas formulaciones empleadas, la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) presenta diferencias significativas con el resto de formulaciones; dicha formulación posee los valores mayores de todas las formulaciones estudiadas, como ya se ha explicado anteriormente, el impulsor sería el causante de dicho aumento. El contenido en grasa presenta una evolución inversa a la de humedad.

En el estudio del contenido en grasa según el proceso, destacan lógicamente los valores presentados por las etapas de **fritura**; las etapas de **congelación** y **prefritura** presentan valores intermedios y por último las etapas de **rebozado** y de **pasta** tienen valores menores que el resto de las etapas.

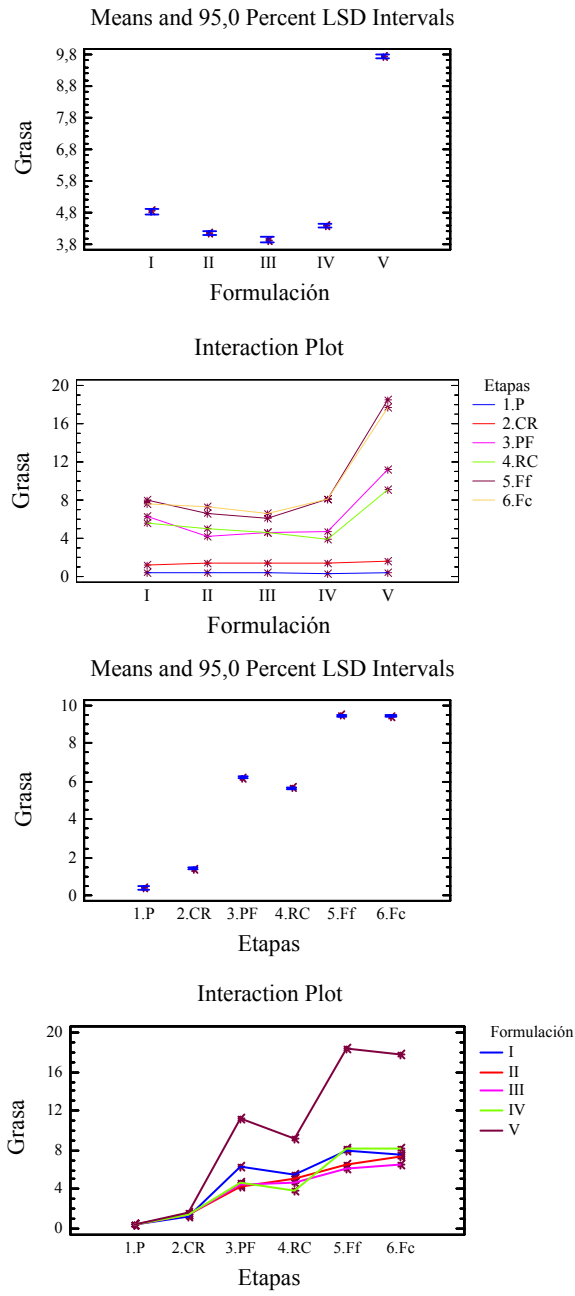


Figura 5.6.12. Contenido en grasa e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

5.6.2. EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA.

Se lleva a cabo un estudio de la calidad de la fracción lipídica de los distintos productos obtenidos en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados preparados con las 5 formulaciones diferentes. Se analizan los parámetros índice de acidez, índice de iodo y absorción específica en la zona del ultravioleta visible (K_{232} y K_{270}). Las etapas estudiadas en este apartado son las siguientes: **prefritura (PF)**, **congelación (RC)**, **fritura final (Ff)** y **fritura control (Fc)**. Las formulaciones empleadas son las descritas en los apartados anteriores 5.5.1 y 5.5.2.

5.6.2.1. Influencia del proceso en la calidad de la fracción lipídica.

5.6.2.1.1. Índice de acidez

El índice de acidez (IA) mide la hidrólisis de los enlaces éster de los acilglicéridos de la grasa, con la consecuente liberación de ácidos grasos. Los resultados obtenidos para las 5 formulaciones distintas se presentan en las figuras 5.6.13, 5.6.14, 5.6.15, 5.6.16 y 5.6.17.

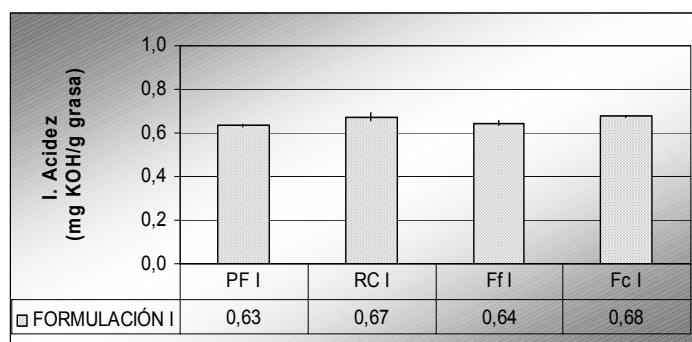


Figura 5.6.13. Evolución del índice de acidez de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

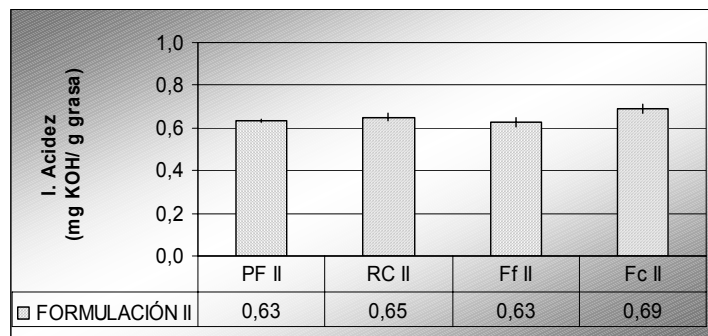


Figura 5.6.14. Evolución del índice de acidez de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

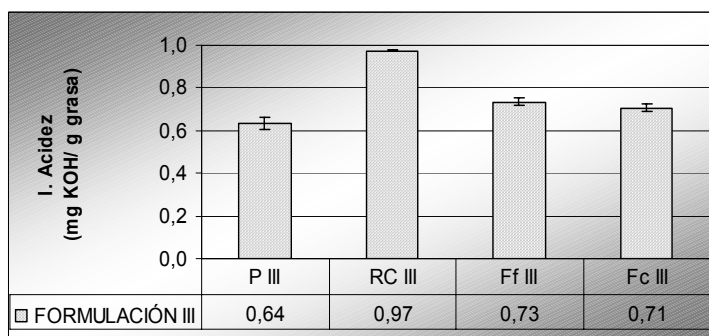


Figura 5.6.15. Evolución del índice de acidez de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

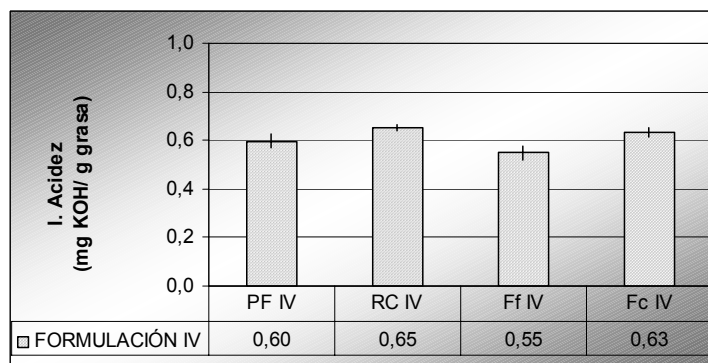


Figura 5.6.16. Evolución del índice de acidez de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

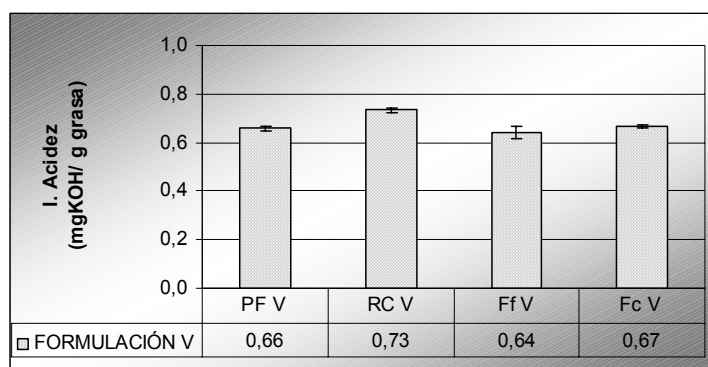


Figura 5.6.17. Evolución del índice de acidez de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Cuando el calamar **prefrito (PF)** se somete a congelación durante una semana (**RC**) se observa un aumento del IA para todas las formulaciones empleadas en su elaboración. Este resultado podría ser debido a que durante la etapa de congelación tienen lugar reacciones de lipólisis que dan lugar a la formación de ácidos grasos libres.

Sin embargo, en general cuando el calamar rebozado congelado (**RC**) se fríe durante 3 min se produce una disminución del IA (comparar los valores de **RC** con los de **Ff** y **Fc** para todas las formulaciones). Aunque la lipólisis produce durante la congelación ácidos grasos libres, éstos pueden reaccionar con productos derivados de la desnaturalización de proteínas, causando la neutralización de los grupos carboxilo de los ácidos grasos libres. Además, algunos de los ácidos grasos generados durante la congelación podrían volatilizarse durante la fritura final (Llorca *et al.* 2003).

Por otro lado, es sabido que la grasa absorbida por parte de los productos fritos puede proceder hasta más de un 90% del aceite de fritura (Pérez-Camino *et al.* 1991), que tendría un menor porcentaje de ácidos grasos libres que el alimento que ha sido previamente prefrito y congelado.

Si se compara el producto **frito final (Ff)** y el producto **frito control (Fc)**, este último presenta valores mayores de IA. Los procesos de pre fritura y congelación parecen amortiguar el aumento de ácidos grasos libres producidos por el efecto térmico de la fritura final. Como se ha explicado anteriormente, la desnaturalización de proteínas que se produce durante el procesado industrial puede disminuir la concentración de ácidos grasos libres.

Pero en general, los valores del índice de acidez obtenidos indican un grado de hidrólisis relativamente bajo que no contribuiría a disminuir la calidad del producto y está en concordancia con los resultados obtenidos por Masson *et al.* (2001).

5.6.2.1.2. Índice de iodo

El índice de iodo ofrece información sobre el grado de saturación de la fracción lipídica del producto ya que es una medida de sus enlaces insaturados. La disminución del índice de yodo es por tanto, indicativo de la reducción de contenido en ácidos grasos olefínicos a lo largo de la autooxidación (Fennema, 2000).

Las figuras 5.6.18, 5.6.19, 5.6.20, 5.6.21 y 5.6.22 presentan la evolución del índice de iodo en las distintas etapas de elaboración de los calamares rebozados congelados con las **formulaciones I, II, III, IV y V** respectivamente.

No se producen grandes modificaciones en el índice de iodo a lo largo del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados para todas las formulaciones empleadas. Lo más destacable es que, en general, los valores del producto **frito final (Ff)** son menores que los del producto **frito control (Fc)**, lo cual puede ser un resultado del proceso industrial: la desnaturalización de proteínas que tiene lugar durante la congelación podría generar productos que reaccionarían con los dobles enlaces de la fracción lipídica, reduciéndose el índice

de iodo; además, los propios componentes insaturados de la fracción lipídica tendrían mayores oportunidades de reaccionar entre sí durante la congelación, todo lo cual redundaría en una pérdida de dobles enlaces y por tanto, en una disminución del índice de iodo.

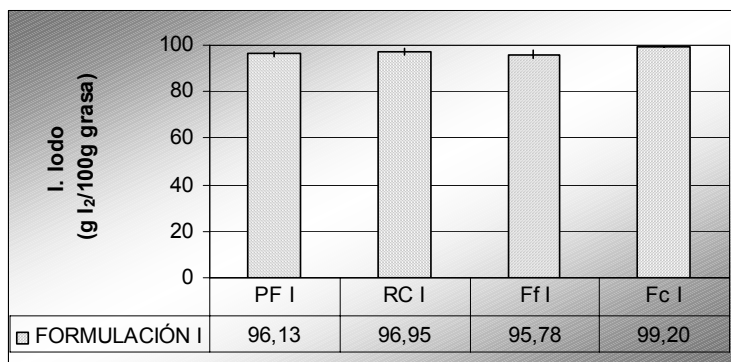


Figura 5.6.18. Evolución del índice de iodo de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

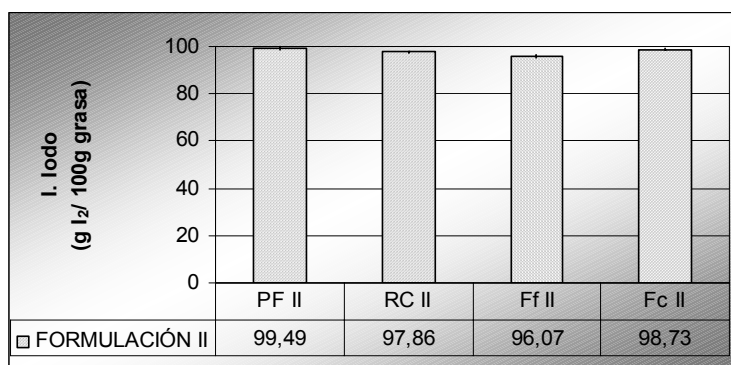


Figura 5.6.19. Evolución del índice de iodo de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

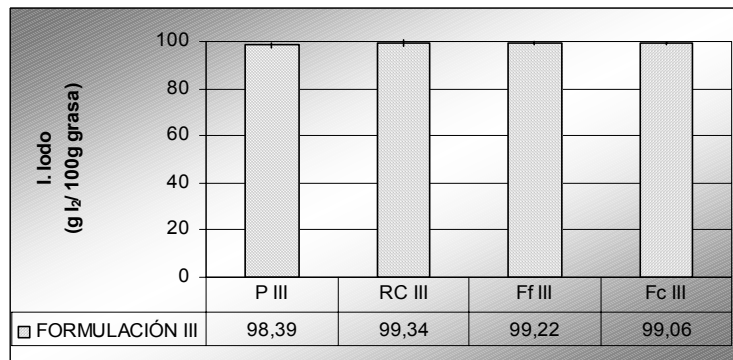


Figura 5.6.20. Evolución del índice de iodo de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

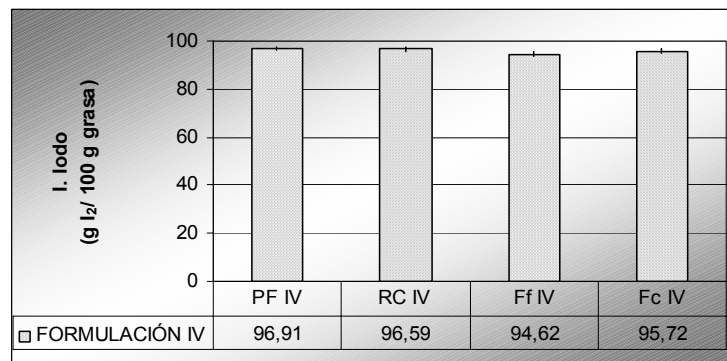


Figura 5.6.21. Evolución del índice de iodo de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

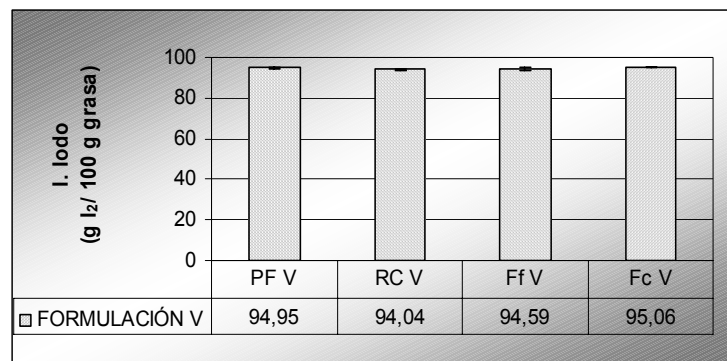


Figura 5.6.22. Evolución del índice de iodo de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

5.6.2.1.3. K_{232} , K_{270}

La medida de la absorbancia en la zona del ultravioleta (índices K_{232} y K_{270}) refleja la presencia en general de dobles enlaces conjugados en la estructura de la molécula. Según Gere (1982), la absorbancia a 232 nm indica la presencia de dienos conjugados y de hidroperóxidos linoleicos. Sanelli (1979) indica durante la oxidación de la materia grasa se forman hidroperóxidos que absorben en la zona próxima a 232 nm. En su oxidación posterior se originan una serie de productos secundarios que absorben a 270 nm aproximadamente.

Las figuras 5.6.23, 5.6.24, 5.6.25, 5.6.26 y 5.6.27 presentan la evolución del índice de absorción K_{232} de los productos obtenidos al elaborar los calamares rebozados congelados con las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y de maíz (3%)), **III** (harina de trigo y de maíz (6%)), **IV** (harina de trigo, de maíz, y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) respectivamente.

Se observa que en todas las formulaciones, se produce un aumento significativo del índice K_{232} durante la congelación (comparar los valores correspondientes a PF con RC), lo que indicaría la aparición de compuestos de oxidación primarios durante esta etapa. El valor de K_{232} aumenta aún más durante la etapa de fritura final para todas las formulaciones (comparar los valores de **RC** con **Ff**); este aumento se debería al incremento de compuestos de degradación primaria durante la fritura final.

Los valores de K_{232} correspondientes a los productos **fritos final (Ff)** y **fritos control (Fc)** tienen un comportamiento similar para todas las formulaciones estudiadas. Los valores de este índice para **Ff** son en todos los casos mayores que para **Fc**, lo que podría ser debido a que el control no ha sido sometido a las etapas de prefritura ni de congelación y por tanto, mantiene menores niveles de deterioro. Estos resultados coinciden con el estudio de Pérez-Camino *et al.* (1991)

sobre diferencias entre alimentos prefritos y posteriormente fritos, y alimentos frescos fritos (patatas fritas y merluza rebozada); estos autores afirman que la grasa de los productos prefritos contiene compuestos polares que pueden tener influencia en la calidad final del producto y en el aceite de fritura. Según Pokorny (1980) los productos de oxidación tales como hidroperóxidos, aldehídos y cetonas no sólo se unen al sustrato prefrito por enlaces débiles, como interacciones hidrofóbicas o puentes de hidrógeno, sino que también pueden formar enlaces covalentes. Estos productos de oxidación reaccionan fácilmente con los grupos NH_2 libres de las proteínas del sustrato. Por tanto, en el producto **frito final (Ff)**, que ha sido sometido a prefritura, se detectan una mayor cantidad de compuestos polares o productos de oxidación que en el producto **frito control (Fc)**, que no se ha sometido a dicha etapa.

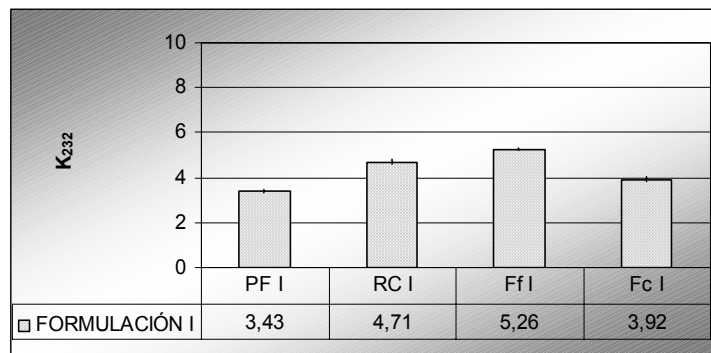


Figura 5.6.23. Evolución del índice de absorción K_{232} de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

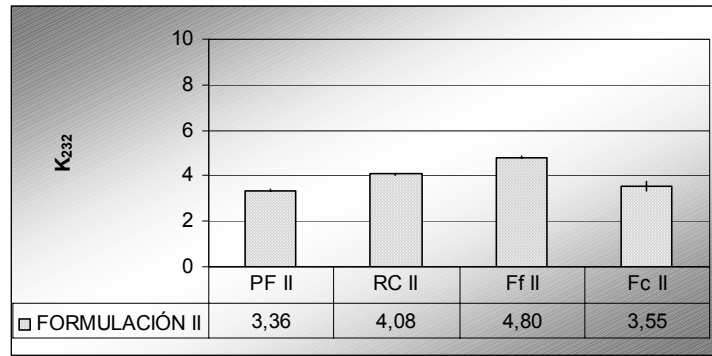


Figura 5.6.24. Evolución del índice de absorción K_{232} de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

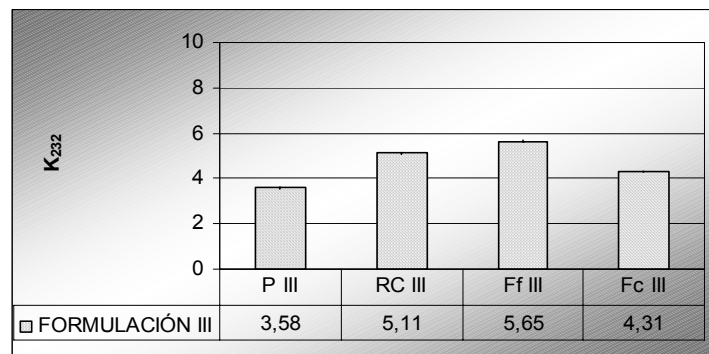


Figura 5.6.25. Evolución del índice de absorción K_{232} de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

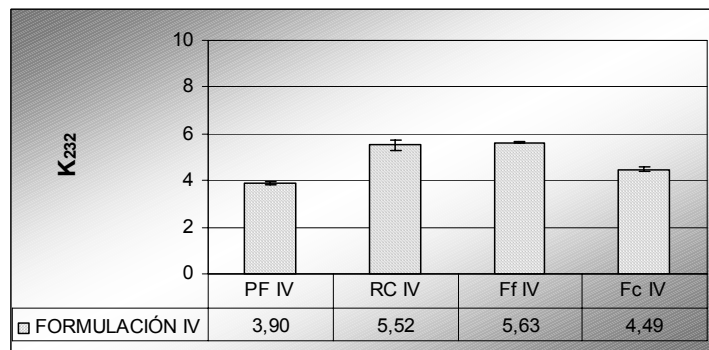


Figura 5.6.26. Evolución del índice de absorción K_{232} de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

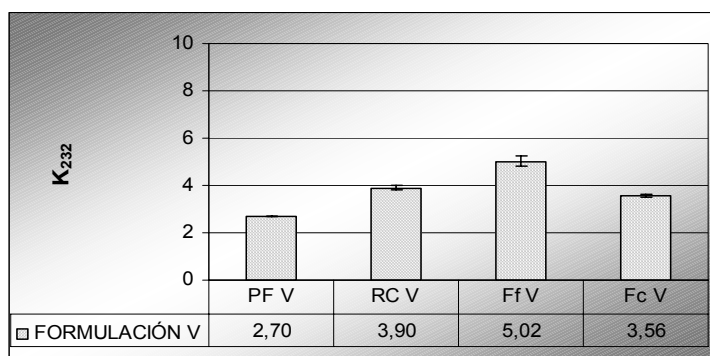


Figura 5.6.27. Evolución del índice de absorción K_{232} de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Las figuras 5.6.28, 5.6.29, 5.6.30, 5.6.31 y 5.6.32 presentan la evolución del índice de absorción K_{270} .

El índice K_{270} mide los productos de oxidación secundarios que absorben a 270 nm (principalmente α , β -dicetonas y α -cetonas insaturadas). Los índices K_{270} de los calamares sometidos a **fritura final (Ff)** y a **fritura control (Fc)** presentan diferencias significativas para todas las formulaciones estudiadas. Los valores para **Ff** son mayores en todos los casos, que los presentados en las demás etapas del proceso (incluida la **fritura final**). Como ya se ha mencionado anteriormente, podría ser debido a que el **Ff** se ha sometido a la etapa de pre-fritura y a la de congelación, y su fracción lipídica ha sido susceptible de ser degradada a productos secundarios de oxidación en ambas etapas.

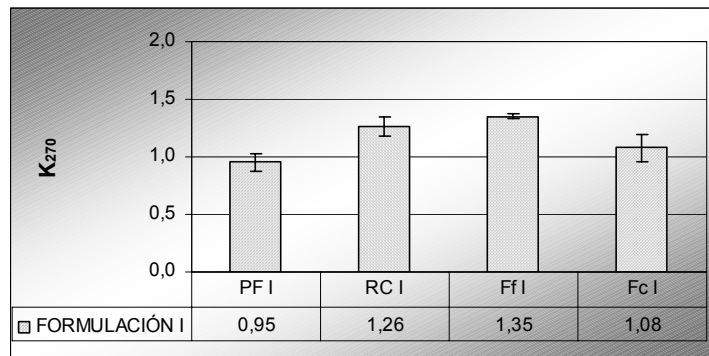


Figura 5.6.28. Evolución del índice de absorción K_{270} de los productos elaborados con la **formulación I** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

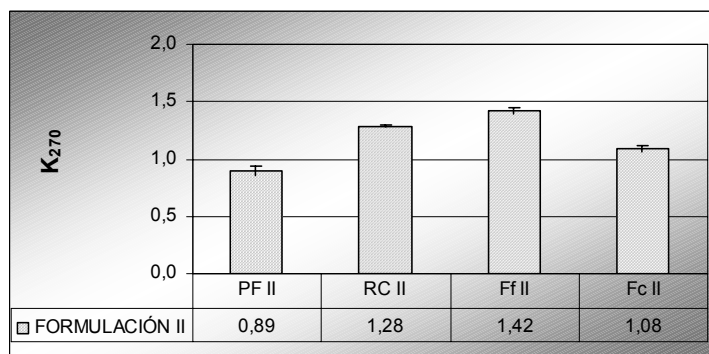


Figura 5.6.29. Evolución del índice de absorción K_{270} de los productos elaborados con la **formulación II** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

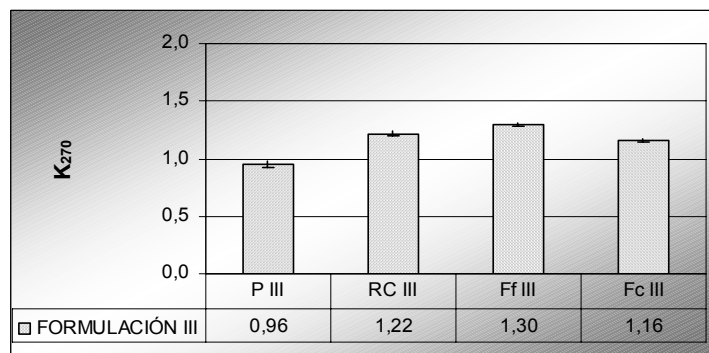


Figura 5.6.30. Evolución del índice de absorción K_{270} de los productos elaborados con la **formulación III** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

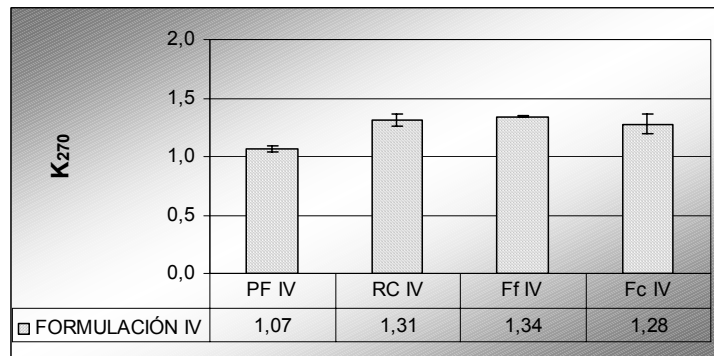


Figura 5.6.31. Evolución del índice de absorción K_{270} de los productos elaborados con la **formulación IV** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

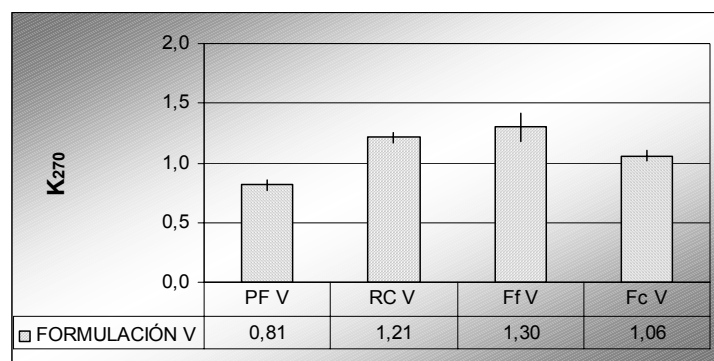


Figura 5.6.32. Evolución del índice de absorción K_{270} de los productos elaborados con la **formulación V** en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

Por último, se puede señalar que los valores de K_{232} y K_{270} obtenidos para todas las etapas del proceso y para todas las formulaciones estudiadas son inferiores a los obtenidos por otros autores (Sánchez-Muniz *et al.*, 1994) para otros productos fritos, como las patatas fritas, y además están dentro de los límites aceptados por la normativa aprobada en el B.O.E. (21 de febrero de 1983).

5.6.2.2. Influencia de las distintas formulaciones en la calidad de la fracción lipídica.

5.6.2.2.1. Índice de acidez

La figura 5.6.33 muestra que no existen diferencias significativas entre los diferentes tipos de formulaciones para el producto **prefrito (PF)**.

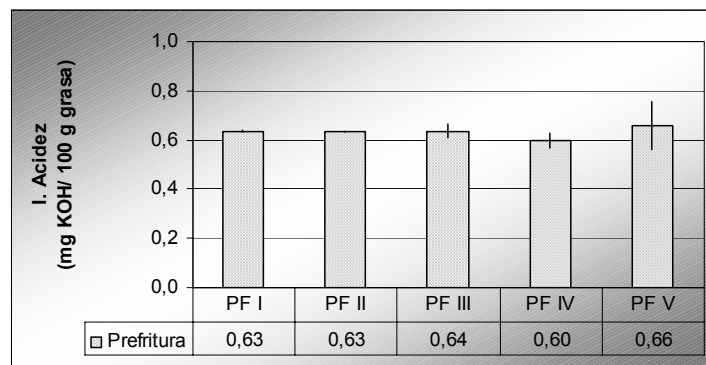


Figura 5.6.33. Índice de acidez de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **prefritura (PF)**.

En cuanto a la etapa de congelación (figura 5.6.34), solamente presentan diferencias significativas los calamares elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). Este resultado se puede explicar ya que la **formulación V** es, precisamente, la que absorbe mayor porcentaje de grasa susceptible de sufrir lipólisis durante esta etapa (ver apartado 5.6.1.2).

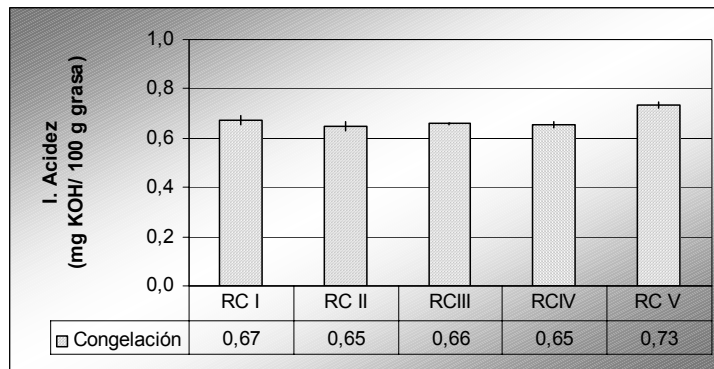


Figura 5.6.34. Índice de acidez de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **congelación (RC)**.

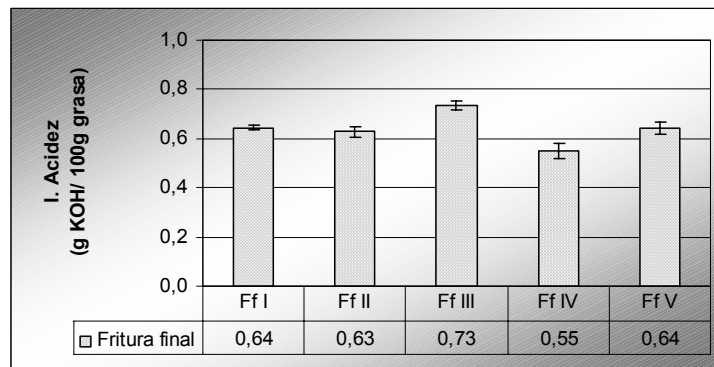


Figura 5.6.35. Índice de acidez de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

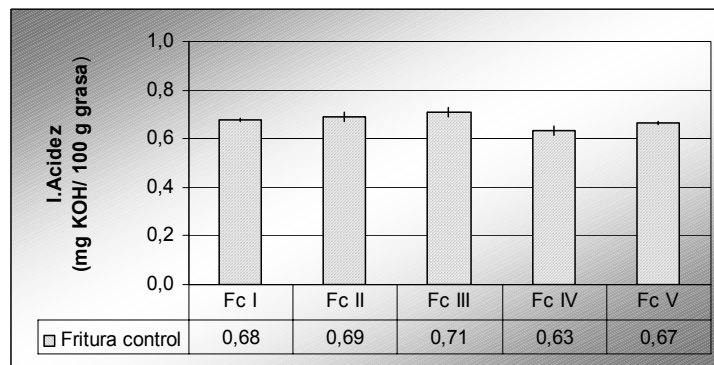


Figura 5.6.36. Índice de acidez de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

Lo más destacable en la etapa de fritura, tanto **final (Ff)** como **control (Fc)** (figura 5.6.35 y 5.6.36) es que el índice de acidez de la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) es significativamente menor que en las otras formulaciones. La sal podría causar una desnaturalización de proteínas que conduciría a la aparición de nuevos puntos de unión para la formación de enlaces con los grupos carboxilo libre de los ácidos grasos, reduciéndose así el índice de acidez.

5.6.2.2.2. Índice de yodo

Las figuras 5.6.37, 5.6.38, 5.6.39 y 5.6.40 presentan los valores de índice de yodo tras las etapas de **prefritura (PF)**, **congelación (RC)**, **fritura final (Ff)** y **fritura control (Fc)** para las distintas formulaciones estudiadas.

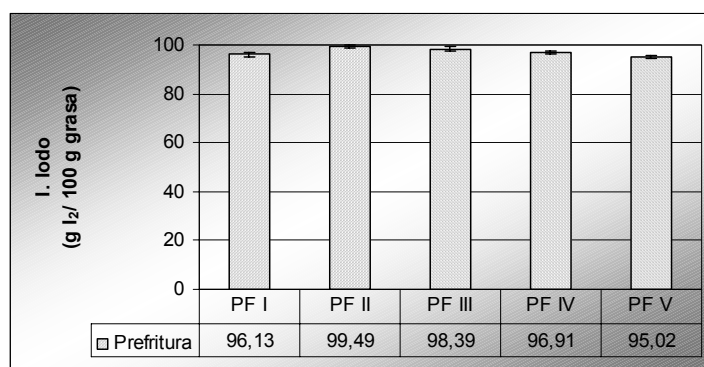


Figura 5.6.37. Índice de yodo de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **prefritura (PF)**.

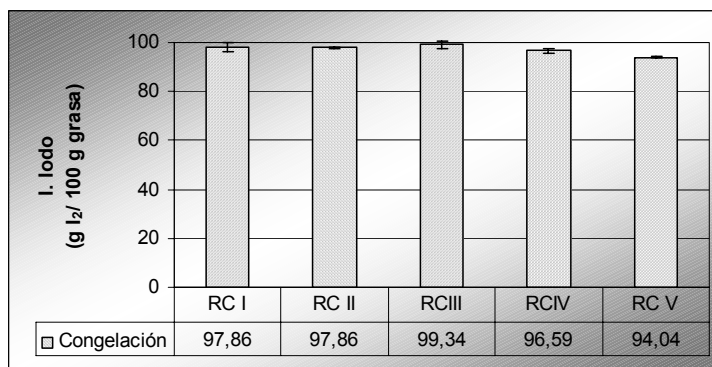


Figura 5.6.38. Índice de yodo de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **congelación (RC)**.

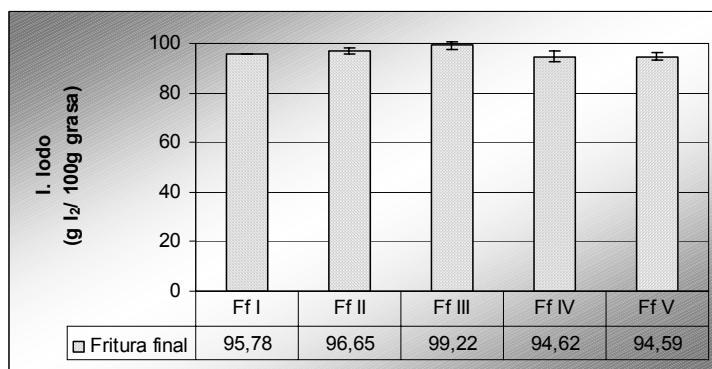


Figura 5.6.39. Índice de yodo de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

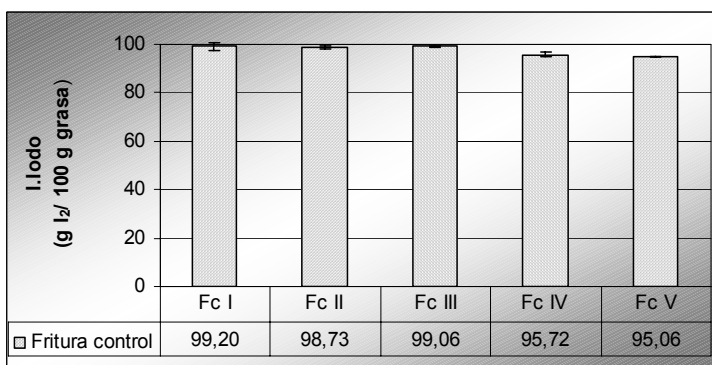


Figura 5.6.40. Índice de yodo de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

La adición de sal en la **formulación IV** (harina de trigo, de maíz y sal) con la consiguiente solubilización de proteínas, causa una disminución del índice de iodo si se compara con los productos elaborados con las **formulaciones I** (sólo harina de trigo), **II** (harina de trigo y de maíz (3%)) y **III** (harina de trigo y de maíz (6%)). Este resultado se puede observar en todas las etapas del proceso. Los productos elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) presentan incluso menor índice de iodo; al efecto de la sal se le añade el efecto del agente impulsor, que desde la prefritura ya genera alvéolos que favorecen la penetración del aceite vegetal usado para freír (cuyo índice de iodo es igual a 75 g I₂/100 g grasa).

Es interesante resaltar que el índice de iodo disminuye desde 132.2 g I₂/ 100 g grasa del calamar fresco hasta 94.6 g I₂/ 100 g grasa del producto frito final elaborado con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), lo que indica una importante absorción del aceite de fritura. De hecho, más del 90% de la grasa extraída en alimentos fritos del alimento procede del aceite de fritura (Pérez-Camino *et al.* 1991).

5.6.2.2.3. K_{232} , K_{270}

Las figuras 5.6.41, 5.6.42, 5.6.43 y 5.6.44 presentan la comparación del índice de absorción K_{232} tras la **prefritura (PF)**, **congelación (RC)**, **fritura final (Ff)** y **fritura control (Fc)** según las distintas formulaciones empleadas.

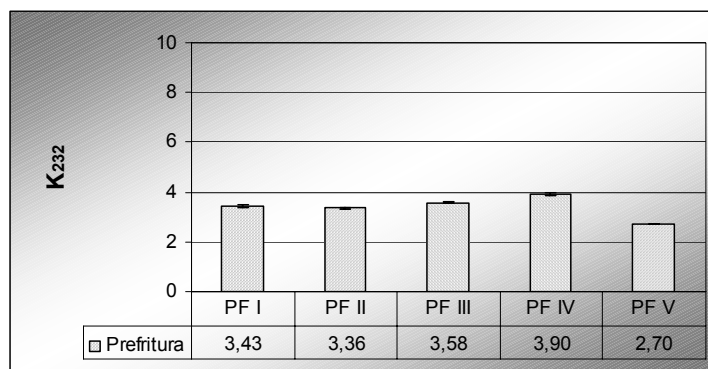


Figura 5.6.41. Índice de K_{232} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **prefritura (PF)**.

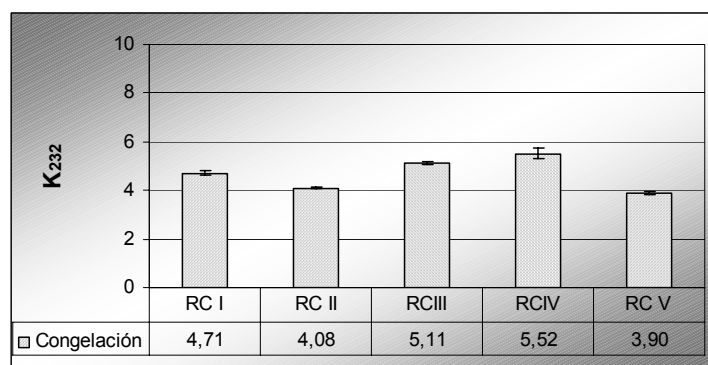


Figura 5.6.42. Índice de K_{232} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **congelación (RC)**.

En general para todas las etapas, la formulación con la que se producen más productos de oxidación detectados a través de la K_{232} es la que incorpora sal (**formulación IV**). El efecto solubilizador de proteínas que produce la sal,

generaría puntos de unión donde se intercambiarían químicamente los productos de oxidación que se van generando.

Los productos elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) poseen valores menores de K_{232} ; aunque también llevan sal en su formulación, parece que el efecto de la sal está contrarrestado por el del impulsor al que se atribuye una gran absorción de aceite de fritura. El aceite de fritura está menos degradado que la propia grasa del producto frito, por lo que un gran intercambio de grasa entre el producto a freír y el baño durante la fritura puede ayudar a que la calidad del producto final mejore con respecto a la degradación de lípidos (Pokorny, 1980). Además, los tratamientos de prefritura y de congelación enmascaran los efectos de los ingredientes en cada una de las formulaciones.

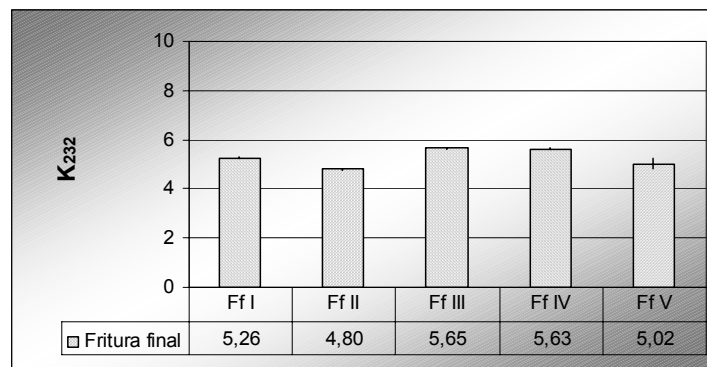


Figura 5.6.43. Índice de K_{232} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

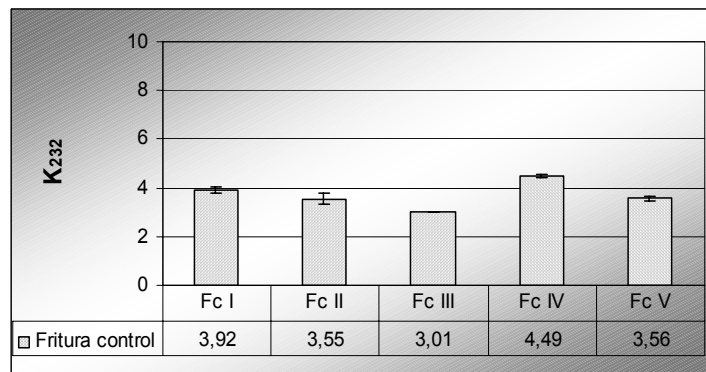


Figura 5.6.44. Índice de K_{232} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

Las figuras 5.6.45, 5.6.46, 5.6.47 y 5.6.48 presentan los valores correspondientes al índice de absorción K_{270} .

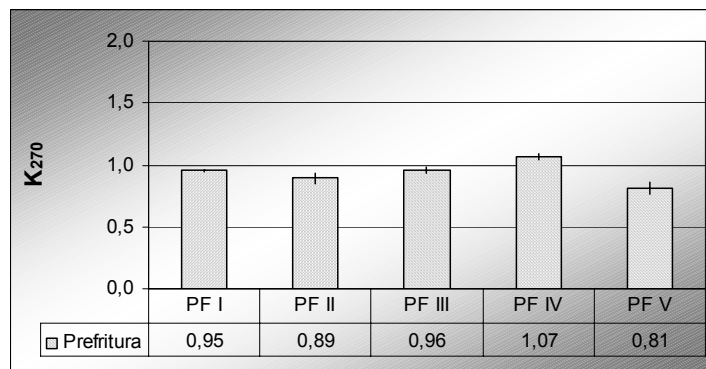


Figura 5.6.45. Índice de K_{270} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **prefritura (PF)**.

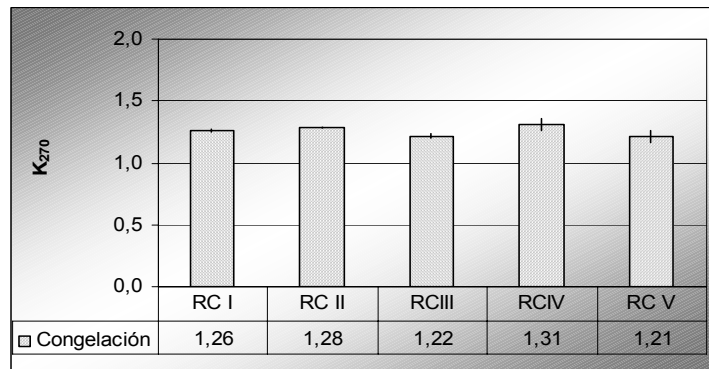


Figura 5.6.46. Índice de K_{270} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **congelación (RC)**.

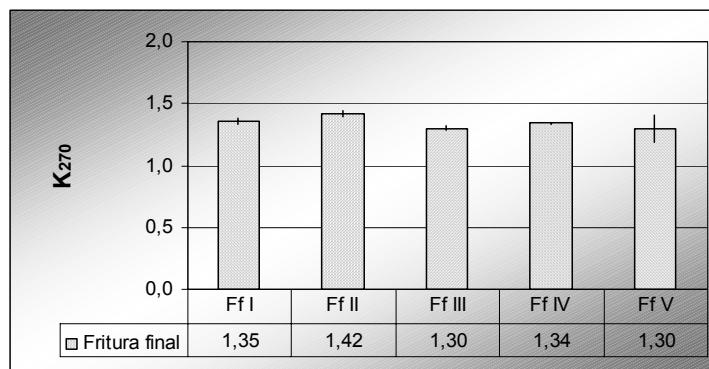


Figura 5.6.47. Índice de K_{270} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura final (Ff)**.

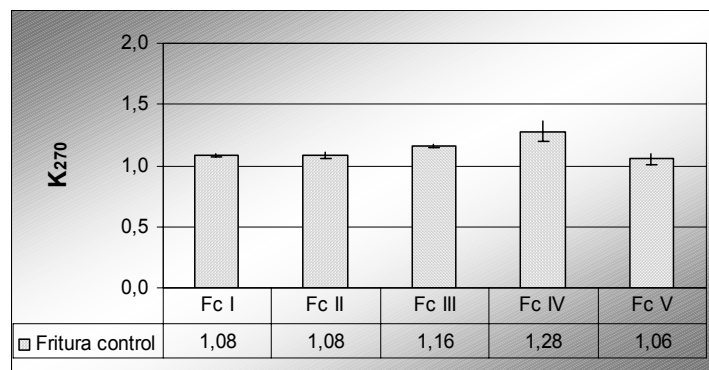


Figura 5.6.48. Índice de K_{270} de los productos elaborados con las distintas formulaciones, tras la etapa de **fritura control (Fc)**.

Lo más destacable es que para todas las etapas, la **formulación V** (harina de trigo, harina de maíz, sal e impulsor) es la que menos valores de K_{270} presenta, lo que estaría relacionado con el intercambio de aceite entre el alimento y el medio de fritura. Además, los valores de K_{270} correspondientes a la **fritura final** (figura 5.6.47) prácticamente no varían entre las distintas formulaciones, mientras que para la fritura control sí se observan diferencias significativas entre las formulaciones; el procesado industrial -prefritura y congelación- enmascara las diferencias atribuibles a las distintas formulaciones. En resumen, el producto elaborado con la **formulación V**, que lleva impulsor, muestra significativamente una menor oxidación de su fracción lipídica, lo que debe estar en relación con la mayor absorción del aceite de fritura y por tanto, del intercambio que se produce con el uso de esta formulación para rebozados. De este modo, la **formulación V** parece ser la adecuada para su utilización en calamares rebozados congelados. Todo esto siempre y cuando el aceite de fritura se renueve las suficientes veces en la caldera para garantizar una calidad adecuada. De ahí que en el apartado 5.6.3 se aborde el estudio de la calidad del aceite de fritura sometido a estrés térmico.

5.6.2.3. Análisis estadístico de la interacción entre el factor “formulación” y el factor “etapa” sobre la calidad de la fracción lipídica.

En las figuras 5.6.49, 5.6.50, 5.6.51 y 5.6.52 se presentan los intervalos LSD de los índices de acidez, de iodo, K_{232} y K_{270} correspondientes a los distintos niveles del factor **formulación** (para cualquier etapa del proceso) y correspondientes a los distintos niveles del factor **etapa** (para cualquier formulación). También se representan los diagramas de interacción entre ambos factores para los parámetros estudiados.

En el estudio estadístico del índice de acidez, destaca la **formulación IV** que presenta diferencias significativas con el resto de formulaciones (menor índice). Por otro lado, las etapas de congelación y de fritura control tienen los índices de acidez más elevados y por tanto mayor lipólisis que libera ácidos grasos libres como ya se ha comentado en el apartado 5.6.2.1. En el estudio estadístico del índice de iodo, tienen importancia los valores menores de las **formulaciones IV y V** (efecto desnaturalizante de proteínas por parte de la sal, ya comentado anteriormente) y la etapa de fritura final que también destaca por este menor índice. En el estudio de los índices K_{232} y K_{270} (ambos presentan comportamientos similares) destacarían las **formulaciones IV** (harina de trigo, de maíz y sal) y **V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), con efectos contrapuestos, como ya se ha explicado en el apartado 5.6.2.2, y la etapa de **fritura final (Ff)** con índices indicativos de oxidación superiores a las otras etapas, debido al procesado industrial al que se somete el producto.

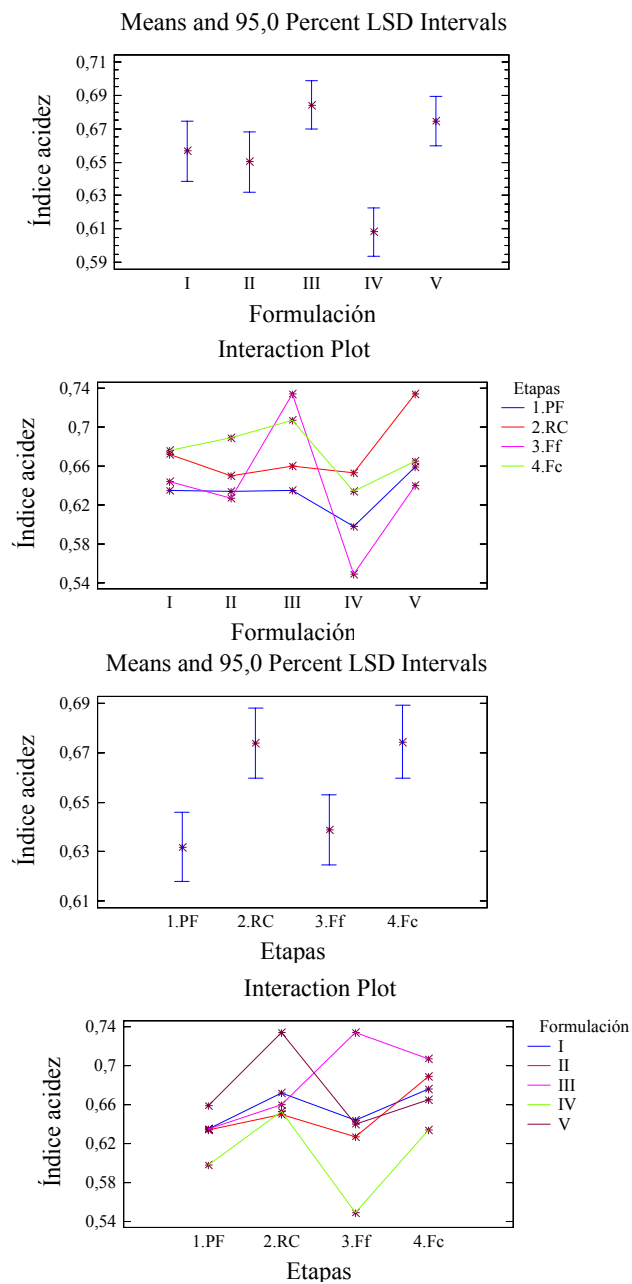


Figura 5.6.49. Índice de acidez e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

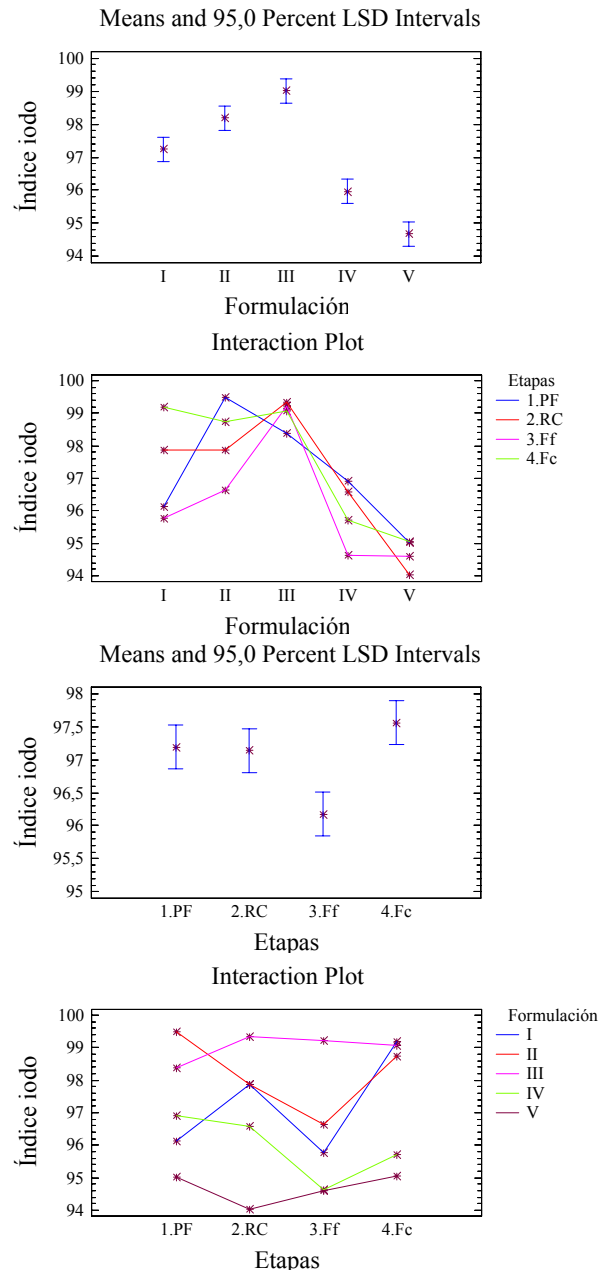


Figura 5.6.50. Índice de iodo e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados.

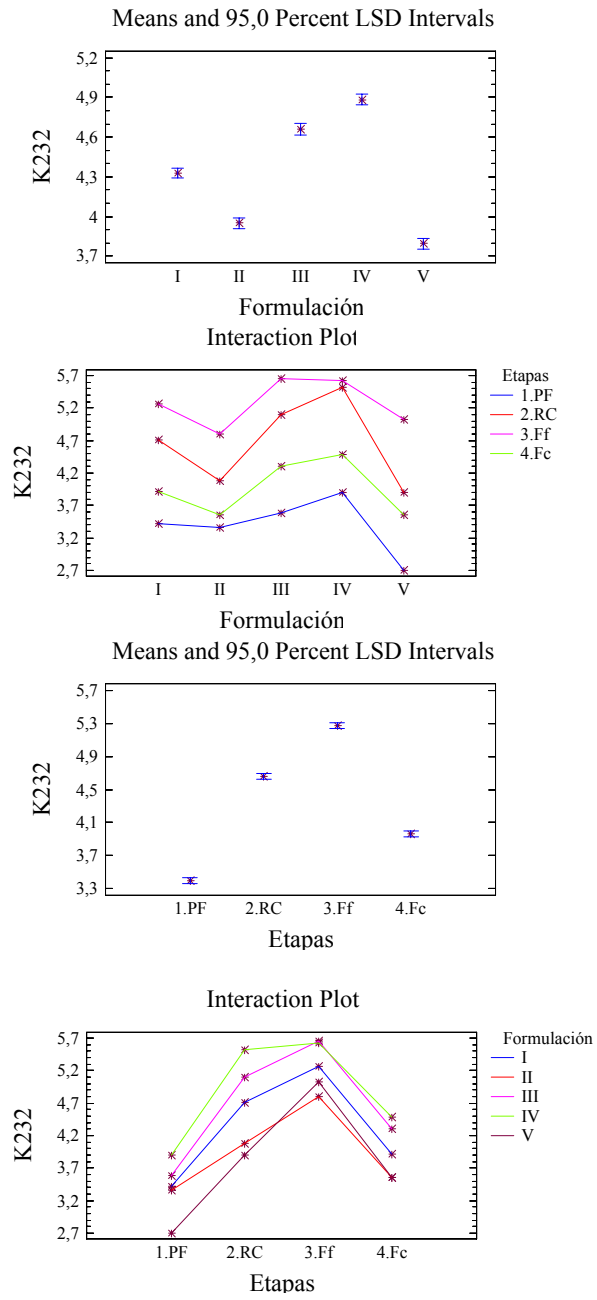


Figura 5.6.51. K_{232} e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

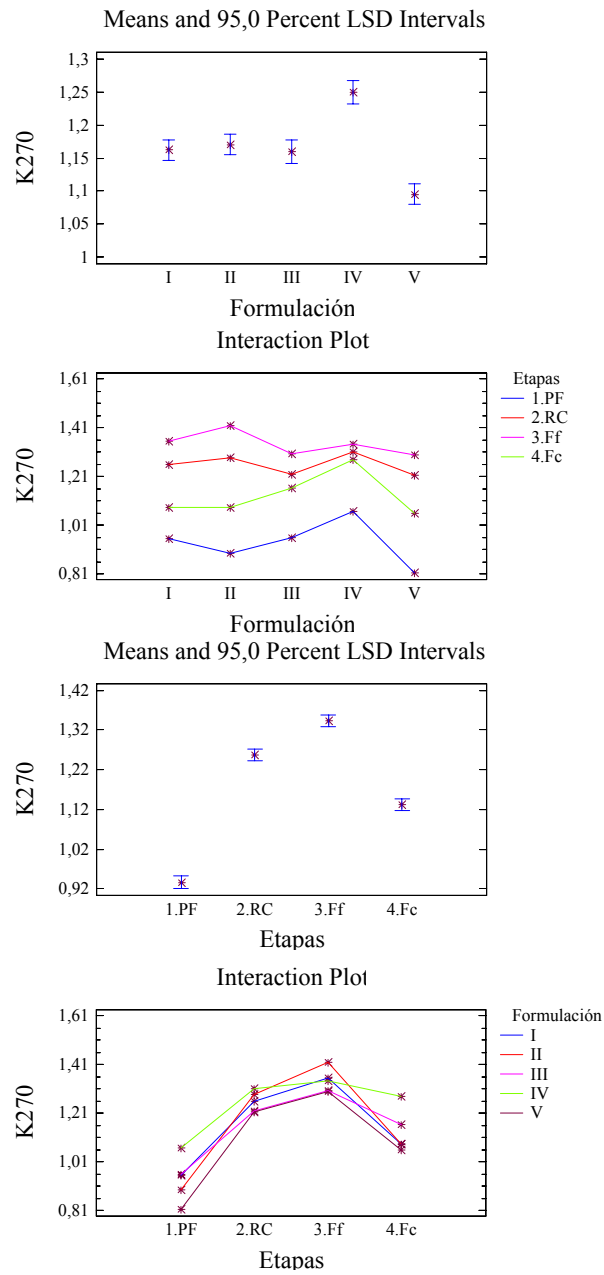


Figura 5.6.52. K_{270} e intervalos LSD en las distintas formulaciones y en las distintas etapas del proceso de elaboración de calamares rebozados congelados

5.6.3. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LOS ACEITES SOMETIDOS A ESTRÉS TÉRMICO DURANTE LA FRITURA DE CALAMARES REBOZADOS CONGELADOS.

Los datos correspondientes al análisis del aceite de fritura tras distintos tiempos de calentamiento son de especial importancia para comprender los cambios químicos que se producen en la fracción lipídica de los productos obtenidos a lo largo del proceso industrial de elaboración de rebozados congelados (ver apartado 5.6.2); la importancia reside en el enorme intercambio de aceite entre el alimento y el medio de fritura que se produce durante esta etapa. Además, ya que los componentes químicos del producto a freír pueden migrar al aceite de fritura y acelerar su degradación química, parece razonable estudiar el estrés térmico que sufre un aceite calentado sin alimento (aceite control) durante los mismos períodos que el aceite utilizado para la elaboración de productos rebozados congelados (aceite con alimento).

5.6.3.1. Integral térmica del proceso de fritura

La fritura en aceite se lleva a cabo a una temperatura constante de 180°C. Al inicio del proceso, el aceite se encuentra a temperatura ambiente (20°C) y tarda 15 min en alcanzar la temperatura de fritura 180°C; al acabar ésta, el tiempo necesario para que el aceite descienda de nuevo a temperatura ambiente es de 3 h y 30 min. Las tomas de muestras, tanto del aceite sometido a fritura con alimento como del aceite sometido a fritura sin muestra (aceite control), se realizan tal y como se indica en la figura 5.6.53. Durante los tiempos de subida y bajada de la temperatura no se fríe.

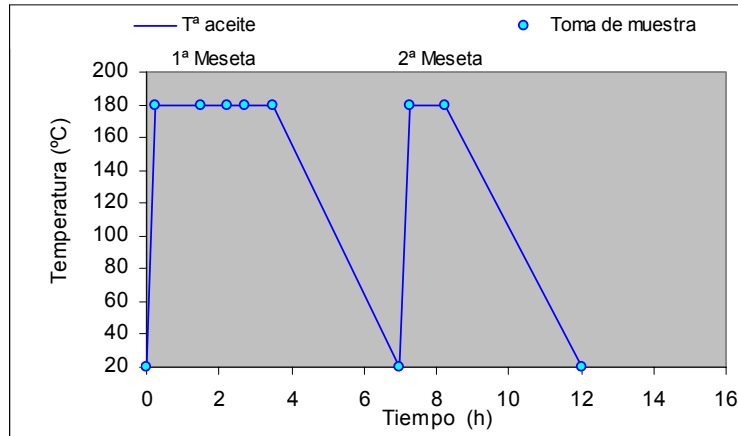


Figura 5.6.53. Diagrama temperatura/ tiempo del aceite del baño de fritura.

En la figura 5.6.53 se observa que el proceso se ha llevado a cabo de modo discontinuo para asemejarlo lo máximo posible al procesado industrial, aunque adaptándolo a las necesidades de la realización del proceso en el laboratorio. Por otro lado, hay que tener en cuenta que posiblemente no se alcanzarán los niveles de estrés térmico que se alcanzan en la industria, ya que se parte de aceite nuevo y se calienta durante un período de tiempo relativamente corto.

Como se trata de un proceso discontinuo, habrá que tener en cuenta que las muestras que se han extraído del baño de fritura durante la 2ª meseta (figura 5.6.53.), no sólo han estado sometidas a 180°C durante toda la primera etapa de fritura (1ª meseta), sino que también han estado sometidos a estrés térmico durante las 3 h y 30 min que tarda el aceite en alcanzar la temperatura ambiente, y durante los 15 min que tarda el aceite en alcanzar de nuevo los 180°C para la segunda etapa de fritura (2ª meseta). Así, la última toma de muestra de aceite caliente se hace aproximadamente a las 9 h de calentamiento (figura 5.6.53), pero este tiempo no corresponde al período durante el cual está sometido a 180°C, ya que incluye todos los períodos de calentamiento y enfriamiento durante los cuales el aceite está sometido a menor temperatura. Por este motivo, es interesante

calcular el tiempo de estrés térmico del aceite; es decir, el tiempo en que el aceite ha estado sometido a temperatura mayor a la ambiente. Cuando se para el proceso, al tiempo que lleva el aceite habría que añadirle las 3 h y 30 min (tiempo que tarda el aceite en llegar a la temperatura ambiente de 20°C) y los 15 min (tiempo que tarda el aceite en alcanzar la temperatura constante del baño de fritura de 180°C).

Así, se determina la integral térmica (tabla 5.6.2) teniendo en cuenta los períodos de calentamiento (15 min) y de enfriamiento (3 h y 30 min) del aceite del baño de fritura, como se observa en la figura 5.6.54.

Tabla 5.6.2. Integral térmica (°C.h) del aceite control y del aceite con alimento.

Temperatura baño fritura (°C)	Tiempo de estrés térmico (h:min)	Integral térmica (°C.h)
20	0:00	0
180	0:15	20
180	1:30	220
180	2:15	340
180	2:40	412
180	3:30	540
20	7:00	820
180	7:15	840
180	8:15	1000
20	12:00	1300

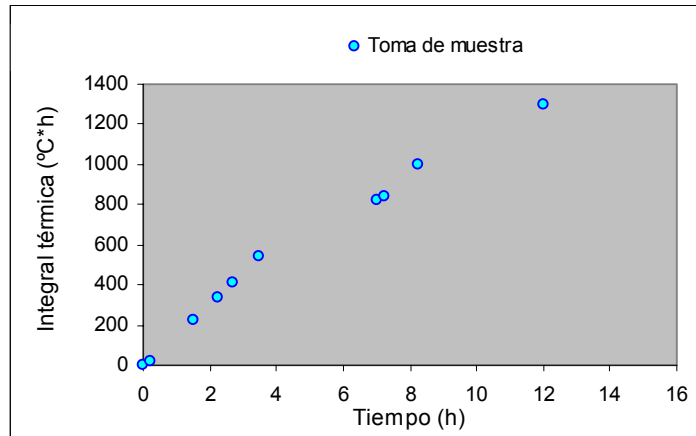


Figura 5.6.54. Integral térmica (°C*h) del aceite del baño de fritura de calamares rebozados congelados frente al tiempo de estrés térmico (h) del aceite.

5.6.3.2. Índice de acidez

Como ya se ha explicado en el apartado 5.6.2.1.1, el índice de acidez mide la hidrólisis del enlace éster de los acilglicéridos de una grasa. En un aceite de fritura, los acilglicéridos se ponen en contacto con el agua procedente del producto a freír y sufren la hidrólisis de los enlaces éster. Como consecuencia se produce la descomposición de los triglicéridos (que son los acilglicéridos mayoritarios en los alimentos) en diglicéridos y monoglicéridos y liberación de ácidos grasos. Esto último provoca un aumento de la acidez libre del aceite y facilita la posterior autooxidación que conduce a la formación de cetonas, aldehídos y lactonas que producen aromas desagradables (Monferrer y Villalta, 1993a). Además del sabor que pueden impartir estos productos, desde el punto de vista tecnológico, esta degradación química provoca una disminución notable de la calidad del aceite de fritura, mayor disposición a que los alimentos presenten su superficie agrietada, mayor tendencia al pardeamiento y aumento en su contenido graso debido a la absorción de aceite por parte del alimento (Cambero et al., 1998).

La figura 5.6.55 representa la evolución del índice de acidez con el diagrama temperatura/ tiempo del aceite de fritura con y sin alimento (aceite control). Se observa que el índice de acidez del aceite aumenta a medida que lo hace el tiempo de fritura. El índice de acidez del aceite control no presenta diferencias significativas a lo largo del proceso de fritura. El índice de acidez del aceite con alimento sólo presenta diferencias significativas para tiempo 7 h, justo tras el enfriamiento, al comienzo de la 2ª meseta. Este aumento de la hidrólisis podría explicarse por la presencia de residuos de alimento en el medio de fritura. Por tanto, la discontinuidad del proceso no parece muy recomendable, ya el aceite continúa degradándose conforme transcurren los tiempos de calentamiento y enfriamiento, ayudado por las partículas de alimento que liberan sus componentes al medio de fritura.

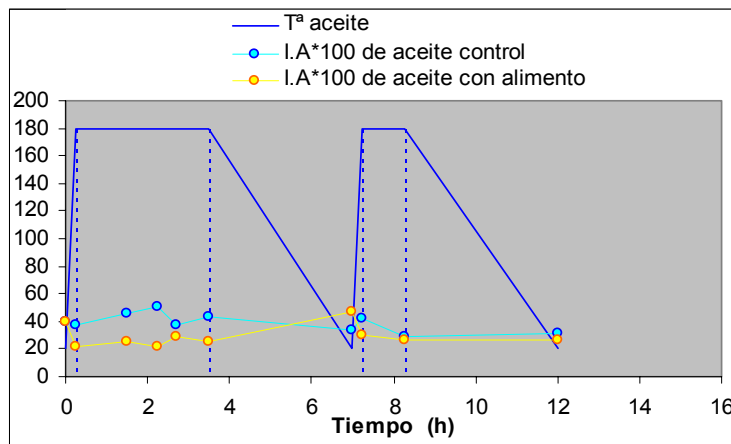


Figura 5.6.55. Evolución del índice de acidez del aceite del baño de fritura con y sin alimento en el diagrama temperatura/ tiempo (Fig.5.6.53.)

Grado de acidez

El grado de acidez mide el porcentaje de ácidos grasos libres expresados en oleico (% ácido oleico). El grado de acidez que presenta al inicio el aceite sin muestra control, antes de ser sometido a estrés térmico, presenta un valor de 0.20°; a partir de 2 h y 30 min a 180°C este valor aumenta hasta 0.25° y cuando

alcanza el final del proceso, tras 6 h a 180°C, alcanza 0.16°. El aceite sometido a fritura con muestra sigue una pauta similar al aceite sin muestra pero con valores de grado de acidez menores (figura 5.6.56).

En general, es recomendable descartar los aceites cuando alcanzan un grado de acidez de 1° (Monferrer y Villalta, 1993b). En el presente trabajo, el valor máximo que alcanza el grado de acidez es de 0.23°, el cual está por debajo del límite marcado (1°). Según Blumenthal (1991) un aceite ligeramente degradado, es mejor aceite de fritura que un aceite nuevo, ya que al estar más polimerizado penetra peor en el alimento. Así, el grado de acidez del aceite objeto de estudio no llega hasta 1° que correspondería a un aceite degradado, pero se encuentra en condiciones óptimas para la fritura.

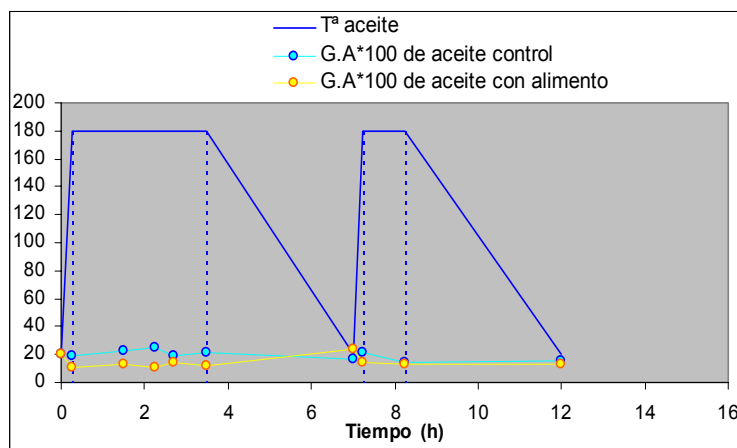


Figura 5.6.56. Evolución del grado de acidez del aceite del baño de fritura con y sin alimento en el diagrama temperatura/ tiempo (Fig.5.6.53.)

5.6.3.3. Índice de iodo

La figura 5.6.57 representa la evolución del índice de iodo del aceite con y sin alimento junto con el diagrama temperatura/ tiempo del aceite. Se observa que

el índice de iodo del aceite con alimento no presenta diferencias significativas entre las distintas muestras tomadas a los distintos tiempos, excepto en el período inicial, en el que se produce un aumento de este índice, por lo que parece decisivo el primer calentamiento. El índice de iodo del aceite control no presenta diferencias significativas entre distintos tiempos de fritura.

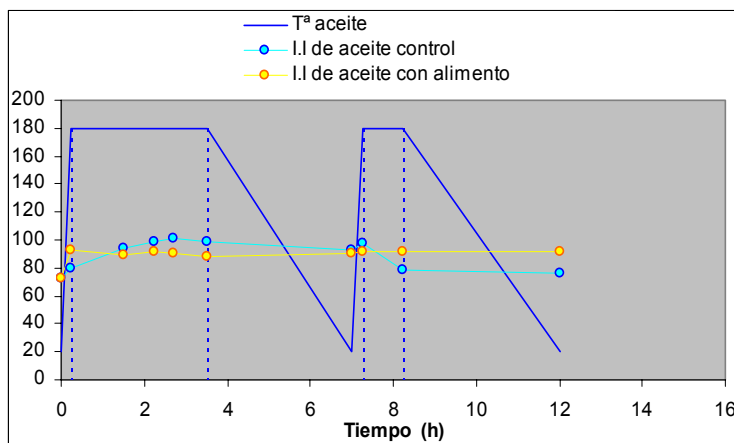


Figura 5.6.57. Evolución del índice de iodo del aceite del baño de fritura con y sin alimento en el diagrama temperatura/ tiempo (Fig. 5.6.53).

5.6.3.4. Absorción específica en el ultravioleta: índices K232 y K270

Se lleva a cabo la medida de la absorbancia en la zona del ultravioleta a las longitudes de onda de 232 y 270 nm respectivamente; a partir de éstas se calculan los coeficientes K232 y K270. Estos coeficientes se emplean como criterio de calidad de los aceites, para estudiar posibles alteraciones químicas durante los procesos industriales que implican tratamiento térmico.

Como ya se ha explicado en el apartado 5.6.2.1.3, la aplicación de este parámetro se basa en la absorción en el ultravioleta de los dobles enlaces conjugados y productos de oxidación primaria que van apareciendo en la estructura de la molécula, como consecuencia del calentamiento.

Se observa que los valores de K232 para el aceite control no presentan diferencias significativas entre los distintos tiempos de fritura, excepto para el tiempo 12 h, donde este valor alcanza los mismos valores que el índice K232 del aceite con alimento (valores mayores del proceso). También se puede observar que el aceite en el que ha sido frito el alimento está más degradado que el aceite control. Este aceite frito con alimento no presenta diferencias significativas si se comparan los valores tomados antes y después del período de enfriamiento/calentamiento (comparar valores para 3.5h y 7.25h). Así como el índice de acidez en dicho período aumentaba debido a la presencia de H₂O en el seno del aceite, en el índice K232 (medida de los productos de oxidación primarios) no parece tan determinante.

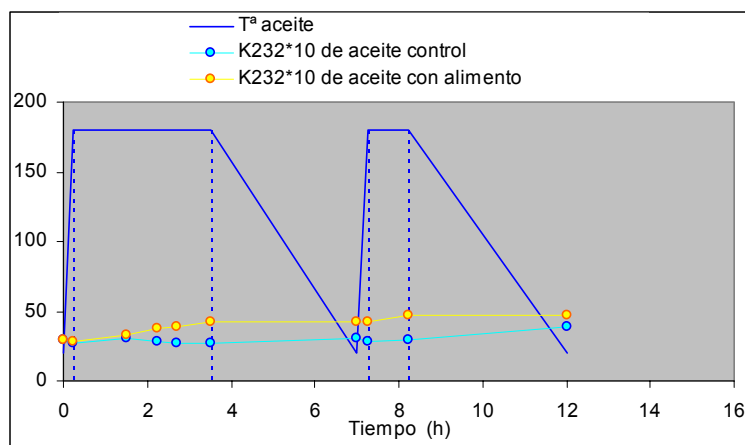


Figura 5.6.58. Evolución de K232 del aceite del baño de fritura con y sin alimento en el diagrama temperatura/ tiempo.

El coeficiente de absorción a 270nm (K270) refleja la aparición de productos secundarios de oxidación, tales como α , β -dicetonas y α -cetonas insaturadas, típicas de los aceites en proceso de enranciamiento.

La figura 5.6.59 presenta el coeficiente K270 frente al tiempo de fritura. Se observa que K270 del aceite control experimenta un incremento notable durante la primera hora. Se observan diferencias significativas entre los primeros estadios del

proceso y el final de éste. El valor de K270 para el aceite con alimento desciende inicialmente (pasa de 1.43 a 0.99) cuando alcanza 1 h y 30 min de fritura y conforme avanza la fritura va aumentando hasta un valor final de 1.70. Esto indica la aparición de productos secundarios de oxidación a lo largo de la fritura.

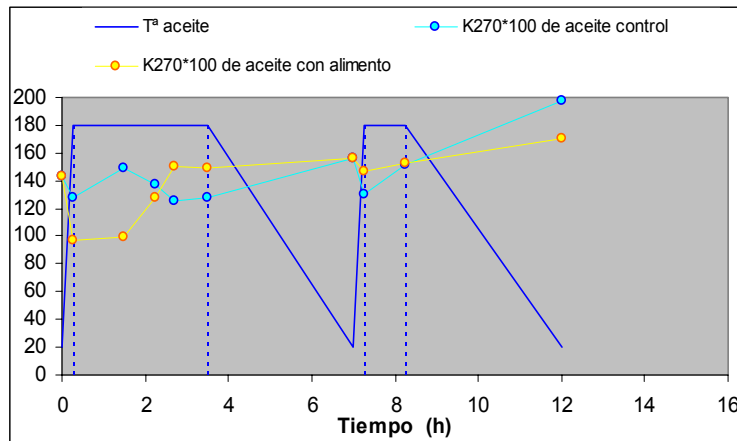


Figura 5.6.59. Evolución de K270 del aceite del baño de fritura con y sin alimento en el diagrama temperatura/ tiempo (Fig. 5.6.53).

5.7. ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNAS MARCAS COMERCIALES

Se realiza un estudio de la calidad de tres marcas comerciales de calamares rebozados congelados adquiridas en distintos supermercados locales. Como factores de calidad se toman: contenido en humedad, contenido en grasa e índices de calidad de la fracción lipídica. Además, se observa la microestructura de las muestras por la técnica de Cryo-SEM. Las etapas analizadas son: **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**.

5.7.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD

La figura 5.7.1 presenta los resultados de humedad obtenidos tras la etapa de **congelación (RC)** y la etapa de **fritura final (Ff)** para las tres marcas comerciales. Se observa que la marca M2 es la que menor humedad tiene tanto en la etapa de congelación como en la de fritura final y presenta diferencias significativas con las otras dos marcas. En todas las marcas, como era de esperar, la humedad disminuye durante la etapa de fritura, como consecuencia de la evaporación de agua que se produce. La marca que más agua pierde durante la fritura es la M3.

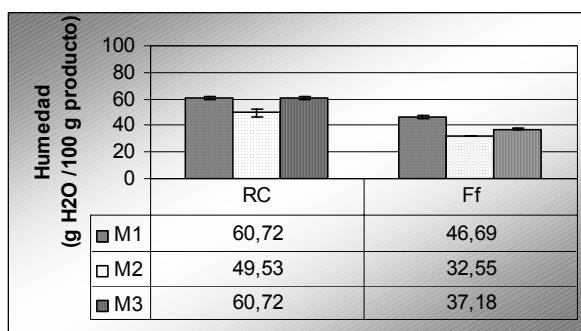


Figura 5.7.1. Humedad de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

La presencia de hidrocoloides, metilcelulosa y goma xantana, en la formulación de las masas para rebozar las marcas M1 y M3 hace que éstas sean las que más cantidad de agua retengan, tanto en los estados congelado como frito. Si se comparan los valores obtenidos de humedad en el proceso desarrollado en el laboratorio empleando la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor), 59.20 g H₂O/100 g producto tras la etapa de **congelación** y 43.00 g H₂O/100 g producto tras la etapa de **fritura final** (véase apartado 5.5.1) coinciden con valores de la marca M1.

5.7.2. EVOLUCIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA

5.7.2.1. Contenido en grasa

La figura 5.7.2 presenta los resultados correspondientes al contenido en grasa tras la etapa de **congelación (RC)** y la etapa de **fritura final (Ff)** para las tres marcas comerciales. Existen diferencias significativas entre las tres marcas tanto tras la etapa de congelación como tras fritura final.

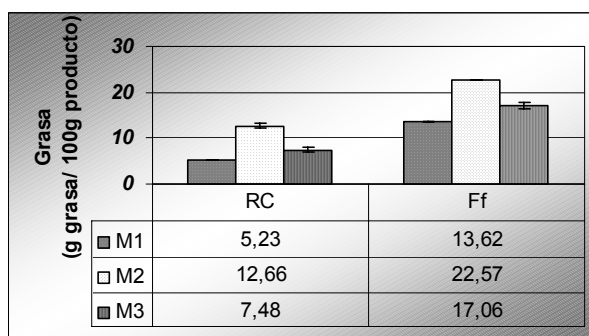


Figura 5.7.2. Contenido en grasa de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

Tanto para **RC** como para **Ff**, cuanto más humedad presenta un producto, menos contenido graso tiene y viceversa; esto se cumple para las tres marcas evaluadas.

El hecho de que la cantidad de grasa sea menor en **RC** y **Ff** de las marcas M1 y M3, se encuentra en la formulación que presentan. Ambas marcas comerciales, como ya se ha comentado, presentan metilcelulosa y goma xantana, que ejercen un efecto mecánico de barrera que impediría la salida de agua y la penetración de grasa. Este efecto se produciría tanto en las etapas de prefritura y congelación que se llevan a cabo en la industria, antes de la comercialización de los calamares rebozados congelados (obsérvense los resultados de humedad y grasa para **RC**), como en la fritura doméstica final (obsérvense los resultados de humedad y grasa en **Ff**). En el caso de los calamares elaborados con la **formulación V** (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) se obtiene un contenido en grasa de 13.01 g de grasa/ 100 g producto tras la etapa de congelación y de 18.96 g de grasa/ 100 g producto tras la etapa de fritura final (véase apartado 5.6.1.1).

5.7.2.2. Evolución de la calidad de la fracción lipídica

5.7.2.2.1. Índice de acidez

Los índices de acidez tras la etapa de **congelación (RC)** (figura 5.7.3) muestran diferencias significativas entre las tres marcas comerciales. El índice de acidez inferior corresponde a la marca M1 y es del orden de los resultados obtenidos en el apartado 5.6.2.1.1, en un proceso semejante al industrial a escala de laboratorio, con óptimas condiciones de prefritura y congelación. De estos

resultados se deduce que la marca M1 ha sido manipulada a nivel industrial en mejores condiciones de prefrutura y congelación que las otras dos marcas, por lo cual su fracción lipídica presenta una menor hidrólisis.

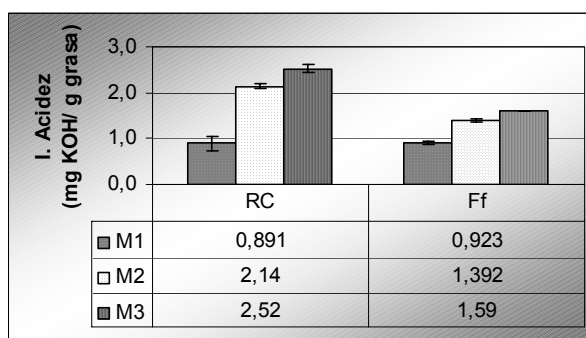


Figura 5.7.3. Índice de acidez de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

Los resultados correspondientes a los productos obtenidos tras la **fritura final (Ff)** muestran que durante el proceso de fritura doméstica se produce una disminución del índice de acidez en las marcas M2 y M3 al igual que sucede con con la **formulación V** (apartado 5.6.2.1.1) . Esto puede ser debido a la absorción de aceite de fritura de buena calidad por parte del producto.

5.7.2.2.2. Índice de iodo.

Los valores de índice de iodo obtenidos tras la etapa de **congelación (RC)** (figura 5.7.4) presentan diferencias significativas entre todas las marcas; el que mayor índice de iodo presenta es la M1. Este elevado índice de iodo sería indicativo de una mejor manipulación a nivel industrial y lo que ya se apuntaba con los resultados de índice de acidez (apartado 5.7.3).

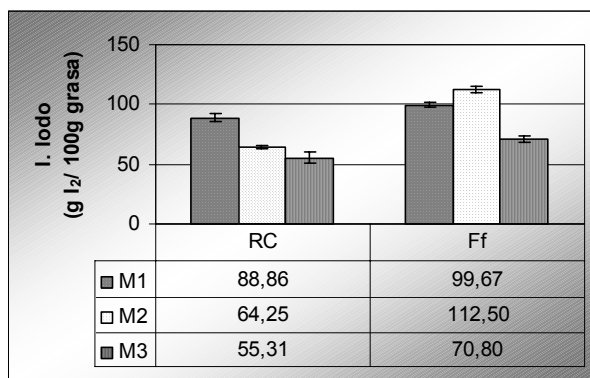


Figura 5.7.4. Índice de iodo de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

Como ya se ha explicado anteriormente, la reducción del índice de iodo durante la **congelación** se debe principalmente a la desnaturalización de proteínas que tiene lugar durante esta etapa, que podría generar productos que reaccionan con dobles enlaces de la fracción lipídica. A este efecto, podría añadirse el posible empleo de aceite de baja calidad durante la prefritura industrial, que tendría un bajo índice de iodo, como consecuencia de las polimerizaciones sufridas durante las sucesivas frituras, y que sería absorbido por el producto. Si se comparan estos resultados de las marcas comerciales con los obtenidos en el apartado 5.6.2.1.2, la marca M1 es la que presenta valores más semejantes, al igual que ocurría con el índice de acidez.

Tras la **fritura final**, se produce un aumento del índice de iodo para las tres marcas. El aumento mayor se produce en la marca M2, ya que es la que más aceite vegetal absorbe durante la fritura, debido a que no lleva hidrocoloides en su formulación.

5.7.2.2.3. Absorbancia en la zona del ultravioleta: índices K_{232} y K_{270} .

Los resultados obtenidos muestran que al freír, excepto para la M1, se produce una disminución en la cantidad de hidroperóxidos y productos secundarios de oxidación como consecuencia de absorción de aceite de fritura de buena calidad y poco degradado (comparar resultados de **RC** y **Ff**). En el caso de la M1, se produce un aumento de K_{232} , esta marca es precisamente la que más aceite absorbe durante la etapa de fritura pasa de 5.23 a 13.62 g grasa /100g producto (apartado 5.7.2). El comportamiento de K_{232} de las muestras elaboradas con la formulación V a escala de laboratorio es similar al de la marca 1; pasa de 3.90 a 5.02 tras la etapa de **fritura final**.

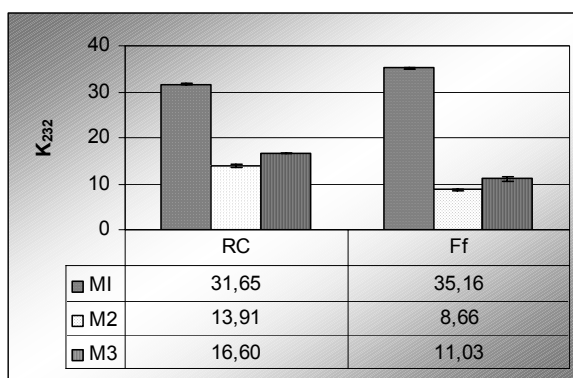


Figura 5.7.5. K_{232} de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

En el caso de la K_{270} se produce una disminución de este valor durante la etapa de fritura, excepto para la marca 3 lo que coincide con los datos obtenidos para la **formulación V** (véase apartado 5.6.2.1.3).

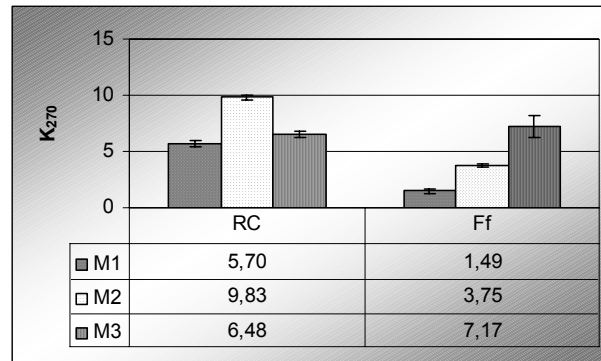


Figura 5.7.6. K_{270} de los productos tras la etapa de **congelación (RC)** y **fritura final (Ff)**. M1, M2, M3 corresponde a las tres marcas comerciales distintas.

5.7.3. MICROESTRUCTURA.

La figura 5.7.7 muestra la microestructura tras la etapa de congelación, para las tres marcas estudiadas obtenida por Cryo-SEM. Se puede apreciar la zona de la interfase entre el calamar-substrato y la capa de rebozado.

Se observa que en las imágenes correspondientes a las marcas M1 y M3, la zona de la capa de rebozado presenta mayor cantidad de artefacto eutéctico, lo que sería indicativo de una mayor cantidad de agua en la muestra. Las marcas M1 y M3 son las que presentan metilcelulosa y goma xantana en su formulación, hidrocoloides que además de ejercer un efecto barrera a la penetración de grasa, retienen una mayor cantidad de agua en el producto congelado. De hecho, estas marcas son las que mayor humedad presentan tras esta etapa. A pesar del deterioro estructural sufrido por los calamares rebozados durante la congelación, que supondría una exudación de gran cantidad de agua, y que ha sido estudiado en el apartado 5.1.1, la presencia de los hidrocoloides hace que en las marcas que los contienen esté fenómeno se vea minimizado.

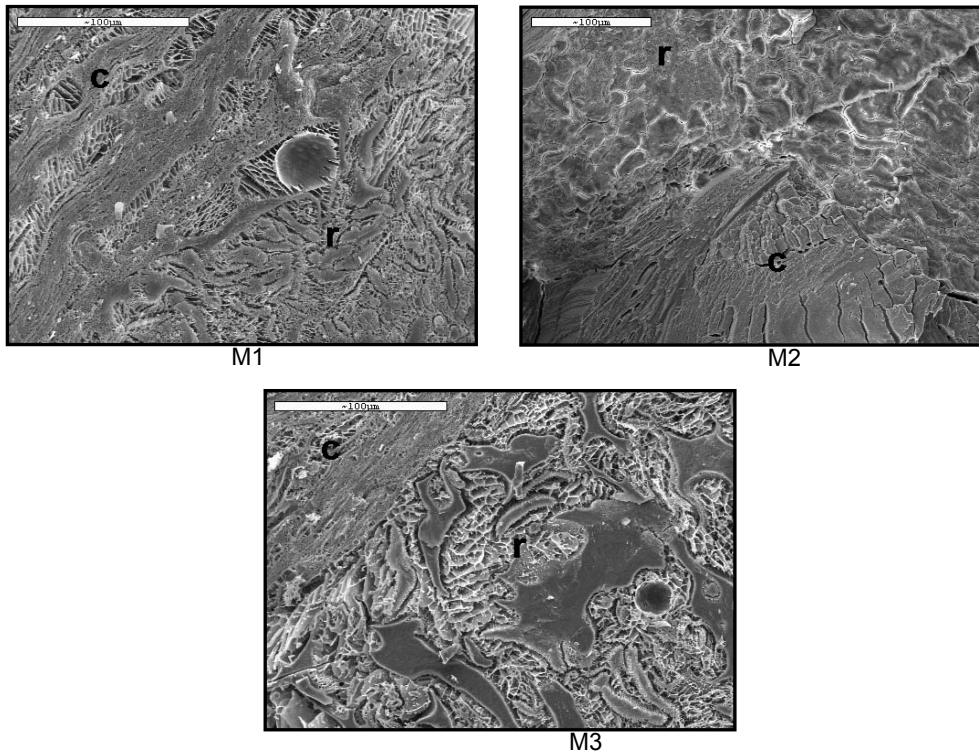


Figura 5.7.7. Cryo-SEM. Microestructura tras la etapa de **congelación** para las tres marcas comerciales. C: calamar, r: capa de rebozado.

La figura 5.7.8 muestra la microestructura de los productos tras la etapa de fritura. Esta imagen se presenta a modo de ejemplo, ya que no existen diferencias importantes a nivel microestructural entre las tres marcas estudiadas. Lo más destacable al comparar la figura 5.7.8 (tras **fritura final**) con la 5.7.7 M2 (tras **congelación**), para la M2, es la ligera separación que se produce entre el calamar substrato y la capa de rebozado como consecuencia de la evaporación de agua que se produce durante la fritura.

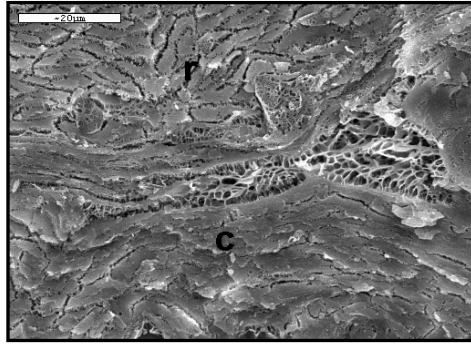


Figura 5.7.8. Microestructura de la marca M2 tras la **fritura final**. C: calamar, r: capa de rebozado.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. El estudio microestructural permite observar que en el proceso de fritura de calamares rebozados congelados se produce una importante absorción de aceite, sobre todo cuando se emplea la formulación V (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor). El impulsor genera alvéolos por los que se canaliza el intercambio de vapor de agua y aceite entre el alimento y el medio de fritura. El estudio microscópico de los diferentes productos obtenidos a lo largo del proceso de elaboración permite apreciar que la absorción de grasa se produce no sólo por parte de la capa de rebozado, sino que el aceite de fritura también penetra hasta el alimento substrato. Además durante la penetración arrastra con él otros componentes de la masa, como el almidón.

2. La disposición característica de las fibras del calamar substrato se mantiene a lo largo de todo el proceso de elaboración. Sin embargo, en la etapa de congelación se producen los cambios más importantes en su microestructura: por un lado, la deshidratación parcial de los espacios intermiofibrilares hace que los filamentos se compacten y por otro lado, se observa la degradación del tejido conjuntivo existente entre las fibras. Además, a nivel ultraestructural se observa un deterioro más visible en el producto que ha sido sometido a pre fritura y congelación (frito final) que en los productos de referencia o frito control.

3. A nivel microestructural, se observa un buen grado de adherencia entre el alimento substrato y la capa de rebozado con las cinco formulaciones ensayadas, lo que facilita la manipulación y posterior comercialización del producto final.

4. El procesado influye decisivamente en la deformación y en el tamaño de los gránulos de almidón. Los gránulos de almidón del producto frito final se deforman más que los del producto frito control que presentan un nivel menor de

deformación y también un menor tamaño estimado a través de su área, lo que concuerda con las observaciones obtenidas por microscopía óptica que muestran la mayor salida de los componentes del almidón al exterior del gránulo cuando el producto es sometido a procesamiento industrial.

5. Los productos frito final mantienen las características texturales durante más tiempo tras la fritura. Además, la inclusión de impulsor en la formulación parece ser determinante para el mantenimiento de la textura transcurrido determinado tiempo tras la fritura.

6. Las pastas de las formulaciones que contienen sal presentan menor viscosidad aparente, que se refleja en una aplicación más fácil sobre el alimento, aunque con un índice de recubrimiento menor. Sin embargo, todas las pastas se pueden aplicar al sustrato sin dificultades, y en todos los casos la calidad de la capa de rebozado es buena y no presenta defectos visibles. En el estudio del comportamiento viscoelástico a 65°C, se observa que la adición de sal produce una disminución en las funciones viscoelásticas estudiadas lo que se podría interpretar como consecuencia de la interferencia de la sal en el proceso de gelatinización del almidón. El impulsor no modifica las propiedades reológicas de la pasta a esta temperatura.

7. No sólo las proteínas de la capa de rebozado, que son las que están en contacto directo con el aceite de fritura, se degradan durante el proceso de elaboración de calamares rebozados congelados. El alimento sustrato también presenta alteraciones en su fracción proteica, sobre todo en lo que a las proteínas miofibrilares se refiere.

8. Los productos elaborados con la formulación V (harina de trigo, de maíz, sal e impulsor) son los que muestran un deterioro menor de la fracción lipídica, lo que está en relación con el enorme intercambio de aceite alimento-medio de fritura que se produce.

9. Los índices de la calidad de la fracción lipídica son en general peores para el calamar sometido a fritura final que el sometido a fritura control. Esto indica que hay que controlar al máximo todos los factores que en la industria influyen en la degradación de la fracción lipídica (aceite de prefritura, temperatura y tiempo de congelación). El aceite empleado en la fritura doméstica también es determinante para la calidad del producto final.

10. Se constata en el estudio comparativo de calamares comerciales que el uso de espesantes, como metil-celulosa o goma xantana ejerce un efecto barrera, que disminuye la absorción de aceite tanto en la prefritura industrial como en la fritura final.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

Aguilera, J.M.; Gloria, H. 1997. Determination of oil in fried potato products by differential scanning calorimetry. *Journal Agricultural of Food Chemistry*. 45: 781-785.

Aguilera, J.M.; Stanley, D.W. 1999. Microstructural principles of food processing and engineering. 2nd edition. Aspen Publishing Co. Gaithersburg, Maryland, USA.

Aguilera, J.M.; Stanley, D.W.; Baker, K.W. 2000. New dimensions in microstructure of food products. *Trends in Food Science and Technology*. 11: 3-9.

Aleixandre, J.L.; Garcia, M.J. 1999. Productos de fritura y tostado. En: Industrias agroalimentarias. Ed: Universidad Politécnica de Valencia. España.

Ando, M.; Ando, M.; Tsukamasa, Y.; Makinodan, Y.; Miyoshi, M. 1999. Muscle firmness and structure of raw and cooked arrow squid mantle as affected by freshness. *Journal of Food Science*. 64 (4): 659-662.

An, H.; Wei, C.I.; Zhao, J.; Marshall, M.R.; Lee, C.M. 1989. Electrophoretic identification of fish species used in surimi products. *Journal of Food Science*. 54: 253-257.

Augustin, E.; Monroe, K.; Augustin, J.; Tassinari, P. 1989. Total dietary fiber in fried cereal products. *Cereal Foods World*. 34 (7): 545-546.

- Aust, R.; Thompson, L.U.** 1981. Lipid composition of finished fried potatoes in relation to partially fried potatoes and frying oils. *Nutrition Reports International*. 24 (5): 957-961.
- Autio, K.; Laurikainen, T.** 1997. Relationships between flour/dough handling and baking. *Trends in Food Science and Technology*. 8: 181-85.
- Autio, K; Salmenkallio-Marttila, M.** 2001. Light microscopic investigations of cereal grains, doughs and breads. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 34: 18-22.
- Baixauli, R.; Sanz, T.; Salvador, A.; Fiszman, S.M.** 2003. Effect of the addition of dextrin or dried egg on the rheological and textural properties of batters for fried foods. *Food Hydrocolloids*. 17 (3): 305-310.
- Balasubramaniam, V.M.; Chinnan, M.S.; Mallikarjunan, P.; Phillips, R.D.** 1997. The effect of edible film on oil uptake and moisture retention of a deep-fat fried poultry product. *Journal of Food Process Engineering*. 20: 17-29.
- Belitz, H.D.; Grosch, W.** 1997. Lípidos. Química de los alimentos. Ed: Acribia. Zaragoza. España.
- Betchel, D.T.; Pomeranz, Y.; De Francisco, A.** 1978. The making of bread. A light transmission electron microscopic study. *Cereal Chemistry*. 55 (3): 392-401.
- Blumenthal, M.M.** 1991. A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying. *Food Technology*. 45: 68-94.

BOE. Boletín Oficial del Estado. 21 de febrero de 1983. Reglamentación técnica-sanitaria de los aceites vegetales comestibles.

Bouchon, P.; Aguilera, J.M. 2001. Microstructural analysis of frying potatoes. *International Journal of Food Science and Technology*. 36: 669-676.

Burge, R.M. 1990. Functionality of corn in food coatings. En: Kulp, K.; Loewe, R. (eds). *Batters and breadings in foods processing*. Ed: American Association of Cereal Chemists. San Pablo, Minnesota, USA.

Camero, M.A.; Fernández, L.; García, M.L.; García de Fernando, G.; De la Hoz, L.; Selgas, M.D. 1998. Componentes de los alimentos y procesos. *Tecnología de los Alimentos. Volumen I*. En: Ordóñez (ed). Ed: Síntesis. Madrid. España.

Changala-Reddy, G.; Susheelamma, N.S.; Tharanathan, R.N. 1989. Viscosity pattern of native and fermented Black Gram flour and starch dispersions. *Starch/Stärke*. 41 (3): 84-88.

Cheftel, J.C.; Cuq, J.L.; Lorient, D. 1989. Los principales sistemas proteicos alimenticios. *Proteínas Alimentarias*. Ed: Acribia. 246-250.

Cheow, C.S.; Yu, S.Y. 1997. Effect of fish protein, salt, sugar, monosodium glutamate on the gelatinization of starch in fish-starch mixtures. *Journal of Food Processing and Preservation*. 21: 161-177.

Cheow, C.S.; Yu, S.Y.; Howell, N.K.; Che Man, Y.; Muhammad, K. 1999. Effect of fish, starch and salt contents on the microstructure and expansion of fish crackers (keropok). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79: 879-885.

- Chinnan, M.S.; Balasubramaniam, V.M.; Mallikarjunan, P.; Phillips, R.D.** 1995. Edible film coatings for deep-fat frying of foods. IFT Annual Meeting Conference Proceedings. 136.
- Claeys, E.; De Vos, E.; De Smet, S.** 2002. Protein solubility of *Longissimus* from stress sensitive and stress resistant pigs. 48th International Congress of Meat Science and Technology. 616-617.
- Coleman, C.E.; Lerkins, B.A.** 1999. The prolamins of maize. En: Shewry, P.R.; Casey, R. (eds). Seed proteins. Ed: Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Coll, L.; Rueda, M.** 1991a. Fracción lipídica de calamares a la romana I: Frituras experimentales en laboratorio. *Anales de Bromatología*. XLIII-2/3: 185-203.
- Coll, L.; Rueda, M.** 1991b. Fracción lipídica de calamares a la romana II: Muestras comerciales. *Anales de Bromatología*. XLIII-2/3: 205-214.
- Cuesta, C.; Sánchez-Muniz, F.J.** 1991. Tecnología de la fritura. *Alimentaria, equipos y tecnología*. Abril: 101-108.
- Cunningham, F.E.; Tiede, L.M.** 1981. Influence of batter viscosity on breading of chicken drumsticks. *Journal of Food Science*. 57 (1): 1950-1952.
- Davis, A.** 1983. Batter and breading ingredients. En: Suderman, D.R.; Cunningham, F.E. Batter and Breading Technology. AVI Publishing Company. Inc., Westport, Connecticut. 15-23.
- Dobarganes, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Velasco, J.** 2000. Interactions between fat and food during deep-frying. *European Journal of Lipids Science and Technology*. 102: 521-528.

- El-Dashlouty, A.A.; El-Gedaily, A.; El-Bahay, A.M.; Zahran, N.A.** 1984. Fatty acid composition and lipid changes of squid as influenced by storage and processing. *Egyptian Journal of Food Science*. 12 (1-2): 51-59.
- Etienne, M.; Jérôme, M.; Fleurence, J.; Rehbein, H.; Kündiger, R.; Mendes, R.; Costa, H.; Pérez-Martín, R.; Piñeiro-González, C.; Craig, A.; Mackie, I.; Yman, I.M.; Ferm, M.; Martínez, I.; Jessen, F.; Smelt, A.; Luten, J.** 2000. Identification of fish species after cooking by SDS-PAGE and urea IEF: a collaborative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2653-2658.
- Etienne, M.; Jérôme, M.; Fleurence, J.; Rehbein, H.; Kündiger, R.; Mendes, R.; Costa, H.; Martínez, I.** 2001. Species identification of formed fishery products and high pressure-treated fish by electrophoresis: a collaborative study. *Food Chemistry*. 72: 105-112.
- Evans, I.D.; Haisman, D.R.** 1982. The effect of solutes on the gelatinization temperature range of potato starch. *Starch/Stärke*. 34 (7): 224-231.
- FAO. Anuario de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.** 2001. Estadísticas de pesca. Productos. 93.
- Fennema, O.R.** 2000. Lípidos. Química de los alimentos. Ed: Acribia. Zaragoza. España.
- Fizman, S.M.; Salvador, A.** 2003. Recent developments in coating batters. *Trends in Food Science and Technology*. 14 (10): 399-407.
- Flick, G.J.; Gwo, Y.Y.; Ory, R.L.; Baran, W.L.; Sasiela, R.J.; Boling, J.; Vinnet, C.H.; Martin, R.E.; Arganosa, G.C.** 1989. Effects of cooking conditions and

Bibliografía

- post-preparation procedures on the quality of battered fish portions. *Journal of Food Quality*. 12: 227-242.
- Ganz, A.J.** 1965. Effect of sodium chloride on the pasting of wheat starch granules. *Cereal Chemistry*. 42: 429-431.
- Gennadios, A.; Hanna, M.A.; Ling, D.** 1997. Effect of frozen storage on deep-fat fried breaded onion rings. *International Journal of Food Science and Technology*. 32: 121-125.
- Gere, A.** 1982. Decrease in essential fatty acid content of edible fats during the frying process. *Zeitschrift-fuer-Ernaehrungswissenschaft*. 21 (3): 191-201.
- Gómez-Guilén, A.; Borderías, A.J.; Montero, P.** 1997. Salt, nonmuscle proteins, and hydrocolloids affecting rigidity changes during gelation of Giant Squid (*Dosidicus gigas*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 45: 616-621.
- González, R.** 1991. Microscopía electrónica. Ed: Eudema Universidad. 71-85.
- Hansen, S.L.** 1999. Influence of oil temperature on the quality of deep-fat fried onion slices. *Irish Journal of Agricultural and Food Science*. 37 (1): 61-67.
- Hsia, H.Y.; Smith, D.M.; Steffe, J.F.** 1992. Rheological properties and adhesion characteristics of flour-based batters for chicken nuggets as affected by 3 hydrocolloids. *Journal of Food Science*. 57 (1): 16-18, 24.
- Ho, T.P.; Chow, C.J.; Chu, Y.J.** 1991. Comparison between the mantle muscle toughness of *Ommastrephes bartrami* and *Illex argentinus* after frozen storage. A thesis collection of the 6th R.O.C. Technology & vocation Education Seminar. 400087-400093.

- Hug-Iten, S.; Handschin, S.; Conde-Petit, B.; Escher, F.** 1999. Changes in starch microstructure on baking and staling of wheat bread. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 32: 255-260.
- INE. Instituto Nacional de Estadística.** 1998. Anuario Estadístico 1997. Ed: I.N.E, Madrid. España.
- Kolodziejska, I.; Sikorski, Z.E.; Sadowska, M.** 1987. Texture of cooked mantle of squid *Illex argentinus* as influenced by specimen characteristics and treatments. *Journal of Food Science*. 52: 932-935.
- Kolodziejska, I.; Pacana, J.; Sikorski, Z.E.** 1992. Effect of squid liver extract on proteins and on the texture of coked squid mantle. *Journal of Food Biochemistry*. 16: 141-150.
- Kugino, M.; Kugino, K.** 1994. Microstructural and rheological properties of cooked squid mantle. *Journal of Food Science*. 59 (4): 792-796.
- Lee, N.H.; Seki, N.; Kato, N.; Nakagawa, N.; Terui, S.; Arai, K.** 1990. Changes of myosin heavy chain and gel forming ability of salt-ground meta from hoki. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 56 (12): 2093-2101.
- Ling, D.; Gennadios, A.; Hanna, M.A.; Cuppett, S.L.** 1998. Quality evaluation of deep-fat fried onion rings. *Journal of Food Quality*. 21 (2): 95-101.
- Loewe, R.** 1990. Ingredient selection for batter systems. En: Kulp, K., Loewe, R. (eds) *Batters and breadings in food processing*. Ed: American Association of Cereal Chemist. San Pablo, Minnesota, USA. 11-28.
- Loewe, R.** 1993. Role of ingredients in batter systems. *Cereal Foods World*. 38 (9): 673-677.

- Luján-Acosta, J.; Moreira, R.G.** 1997. Effects of different drying processes on oil absorption and microstructure of tortilla chips. *Cereal Chemistry*. 74 (3): 216-223.
- Llorca, E.; Hernando, I.; Pérez-Munuera, I.; Fiszman, S.M.; Lluch, M.A.** 2001. Effect of frying on the microstructure of frozen battered squid rings. *European Food Research and Technology*. 213 (6): 448-455.
- Llorca, E.; Hernando, I.; Pérez-Munuera, I.; Quiles, A.; Fiszman, S.M.; Lluch, M.A.** 2003. Effect of batter formulation on lipid fraction of frozen battered squid. *European Food Research and Technology*. 216 (4): 297-302.
- Lluch, M.A.; Pérez-Munuera, I.; Hernando, I.** 2001. Proteins in food structures. En: Sikorski, Z.E. (ed). *The chemical and functional properties of food proteins*. Technomic Publishing Co., Inc., Pennsylvania. 13-33.
- Makinson, J.H.; Greenfield, H.; Wong, M.L.; Wills, R.B.H.** 1987. Fat Uptake During deep-fat frying of coated and uncoated foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1 (1): 93-101.
- Mallikarjunan, P.; Chinnan, M.S.; Balasubramanian, V.M.; Phillips, R.D.** 1997. Edible coatings for deep-fat frying of starchy products. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 30 (7): 709-714.
- Márquez-Ruiz, G.; Dobarganes, C.** 1996. Short chain fatty acid formation during thermooxidation and frying. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 70 (1): 120-126.

- Masson, L.; Urra, C.; Izaurieta, M.; Ortiz, J.; Robert, P.; Romero, N.; Wittig, E.** 2001. Estabilidad de papas chips sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento. *Grasas y aceites*. 52 (3-4): 175-183.
- Monferrer, A.; Villalta, J.** 1993a. La fritura desde un punto de vista práctico (I). *Alimentación, equipos y tecnología*. Abril: 87-92.
- Monferrer, A.; Villalta, J.** 1993b. La fritura desde un punto de vista práctico (II). *Alimentación, equipos y tecnología*. Mayo: 85-90.
- Moon, T.W.; Hulbert, C.** 1975. The ultrastructure of the mantle musculature of the squid. *Symplectoteuthis Oualaniensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 52B: 145-149.
- Nagashima, Y.; Ebina, H.; Nagai, T.; Tanaka, M.; Taguchi, T.** 1992. Proteolysis affects thermal gelation of squid mantle muscle. *Journal of Food Science*. 57: 916-917.
- Niwa, E.; Koshiba, K.; Matsuzaki, M.; Nakayama, T.; Hamada, I.** 1980. Species-specificities of myosin heavy chain in setting and returning. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 46: 1497-1500.
- Olewnick, M.; Kulp, K.** 1993. Factors influencing wheat flour performance in batter systems. *Cereals Foods World*. 38 (9): 679-684.
- Otwell, W.S.; Hamann D.D.** 1979. Textural characterization of squid (*Loligo pealei lesuer*): Scanning electron microscopy of cooked mantle. *Journal of Food Science*. 44: 1629-1635.
- Otwell, W.S.; Giddings, G.G.** 1980. Scanning electron microscopy of squid, *Loligo pealei*: raw, cooked, and frozen mantle. *Marine Fisheries Review*. 42: 67-73.

- Payne, P.I.; Holt, L.M.; Law, C.N.** 1981. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. *Theoretical and Applied Genetics*. 60: 229-236.
- Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Ruiz-Méndez, M.V.; Dobarganes, M.C.** 1991. Lipid changes during frying of frozen prefried foods. *Journal of Food Science*. 56 (6): 1644-1650.
- Pérez-Mateos, M.; Montero, P.; Gómez-Guillen, M.C.** 2002. Addition of microbial transglutaminase and protease inhibitors to improve gel properties of frozen squid muscle. *European Food Research and Technology*. 214: 377-381.
- Pérez-Munuera, I.; Sotelo, I.; Hernando, I.; Lluch, M.A.** 1999. Degradación post-mortem en músculo de conejo; evolución de la microestructura. *Alimentaria*. Diciembre: 19-44.
- Pokorny, J.** 1980. Effect of substrates on changes of fats and oils during frying. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 57: 222-225.
- Pokorny, J.; Reblova, Z.** 1999. Effect of food components on changes in frying oil. *Food Technology and Biotechnology*. 37 (2): 139-143.
- Prats, L.; Díaz, A.L.** 1996. Optimización y control del proceso de fritura. *Alimentación, equipos y tecnología*. Abril: 59-64.
- Rayner, M.; Ciolfi, V.; Maves, B.; Stedman, P.; Mittal, G.S.** 2000. Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (6): 777-782.

- Rodger, G.; Weddle, R.D.; Craig, P.; Hastings, R.** 1984. Effects of alkaline protease activity on some properties of comminute squid. *Journal of Food Science*. 49: 117-123.
- Rojas, J.A.; Rosell, C.M.; Benedito de Barber, C.; Pérez-Munuera, I.; Lluch, M.A.** 2000. The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy. *European Food Research and Technology*. 49: 117-123.
- Sabatini, D.D.; Bensch, K.; Barnett, R.J.** 1963. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *Journal of Cell Biology*. 17: 19-58.
- Sánchez-Muniz, F.J.; Cuesta, C.; Garrido-Polonio, M.C.; Arroyo, R.** 1994. Fritura de patatas en aceite de girasol. Estudio comparativo del grado de alteración del aceite de la freidora y del extraído de las patatas. *Grasas y aceites*. 45 (5): 300-305.
- Sanelli, B.** 1979. Variazioni di alcune caratteristiche chimiche e chimiofisiche nell'olio extra vergine di oliva col riscaldamento. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 56: 223-234.
- Sano, T.; Noguchi, S.F.; Tsuchiya, T.; Matsumoto, J.J.** 1986. Contribution of paramyosin to marine meta gel characteristics. *Journal of Food Science*. 51 (4): 946-950.
- Sanz, T.; Salvador, A.; Fiszman, S.M.** 2004a. Effect of concentration and temperature on properties of methylcellulose-added batters. Application to battered, fried seafood. *Food Hydrocolloids*. 18 (1): 127-131.

- Sanz, T.; Salvador, A.; Fiszman, S.M.** 2004b. Innovative method for preparing a frozen, battered food without a prefrying step. *Food Hydrocolloids*. 18: 227-231.
- Schramm, G.** 1994. A practical approach to rheology and rheometry. Karlsruhe: Haake.
- Segnini, S.; Dejmek, P.; Öste, R.** 1999. Reproducible texture analysis of potato chips. *Journal of Food Science*. 64 (2): 309-312.
- Shih, F.; Daigle, K.** 1999. Oil uptake properties of fried batters from rice flour. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47: 1611-1615.
- Shewry, P.R.** 2003. Wheat gluten proteins. Shewry, P.R.; Lookhart, L. (eds). Wheat gluten protein analysis. Ed: American Association of Cereal Chemists. San Pablo, Minnesota, USA.
- Sikorski, Z.E.; Kolodziejska, I.** 1986. The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*. 20: 213-224.
- Sotelo, I.; Pérez-Munuera, I.; Quiles, A.; Hernando, I.; Larrea, V.; Lluch, M.A.** 2004. Microstructural changes in rabbit meta wrapped with *Pteridium aquilinum* fern during postmortem storage. *Meat Science*. 66: 823-829.
- Stanley, D.W.; Hultin, H.O.** 1982. Quality factors in cooked North Atlantic squid. *Canadian Institute of Food Science and Tecnology*. 15: 277.
- Stanley, D.W.; Smith, A.K.** 1984. Microstructure of squid muscle and its influence on texture. *Canadian Institute of Food Science and Technology*. 17 (4): 209-213.

Bibliografía

Suderman, R.D. 1990. Application of batters and breadings to poultry, seafood red meat, and vegetables. Kulp, K.; Loewe, R. Batters and breadings in foods processing. Ed: American Association of Cereal Chemists. San Pablo, Minnesota, USA.

Toma, R.B.; Leung, H.K.; Agustin, J.; Iritani, W.M. 1986. Quality of french potatoes as affected by surface freezing and specific gravity of raw potatoes. *Journal of Food Science*. 51 (5): 1213-1214.

Ueng, Y.E.; Chow, C.J. 1998. Textural and histological changes of different squid mantle muscle during frozen storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 46: 4728-4733.

UNE 55-011. 1964. Cuerpos grasos. Determinación de la acidez libre.

UNE 55-013. 1964. Cuerpos grasos. Determinación del índice de yodo.

UNE 55-047-73. 1973. Materias grasas. Medida espectrofotométrica de la absorción en la región ultravioleta.

8. ABREVIATURAS

8. ABREVIATURAS

C: Anilla de calamar

P: Pasta

CR: Rebozado

PF: Prefritura

RC: Congelación

Ff: Fritura final

Fc: Fritura control

Formulación I: 100% harina de trigo

Formulación II: 97% harina de trigo, 3% harina de maíz

Formulación III: 94% harina de trigo, 6% harina de maíz

Formulación IV: 88.5% harina de trigo, 6% harina de maíz, 5.5% sal

Formulación V: 84.8% harina de trigo, 6% harina de maíz, 5.5% sal, 3.1% impulsor, 0.6% saborizante

ANOVA: Análisis de la varianza

LSD: diferencias mínimas significativas

Cryo-SEM: Microscopía Electrónica de Barrido a bajas temperaturas

SEM: Microscopía Electrónica de Barrido

LM: Microscopía Óptica

TEM: Microscopía Electrónica de Transmisión

ULV: Ultra Low Viscosity

e: Excentricidad

k: Índice de consistencia

n: Índice de flujo

G': Módulo de almacenamiento

G'': Módulo de pérdidas

C: % polímeros entrecruzadores

T: % polímeros totales

SDS: Dodecil sulfato sódico

Abreviaturas

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS

DTT: Ditioneitol

BSA: Seroalbúmina bovina

EDTA: Ácido etilendiamino tetra acético

Pm: Peso molecular

bh: base húmeda

bs: base seca

AI: Índice de acidez

II: Índice de iodo

K₂₃₂, K₂₇₀: Absorción específica en la zona del ultravioleta a 232 y 270 nm respectivamente.

UV: Ultravioleta visible