

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL  
MEDI NATURAL



Escuela Técnica Superior  
de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

## **OBTENCIÓN DE CARNE DE CEFALÓPODO (*DOSIDICUS GIGAS*) TEXTURALMENTE MODIFICADA MEDIANTE SU TENDERIZACIÓN CON PAPAÍNA**

TRABAJO DE FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**AUTORA:** ANNA FERRANDIS ROSELL

**TUTOR:** RAÚL GRAU MELÓ

**TUTOR EXPERIMENTAL:** SAMUEL VERDÚ AMAT

**CURSO ACADÉMICO:** 2020-2021

**VALÈNCIA, JUNIO 2021**

# OBTENCIÓN DE CARNE DE CEFALÓPODO (*DOSIDICUS GIGAS*) TEXTURALMENTE MODIFICADA MEDIANTE SU TENDERIZACIÓN CON PAPAÍNA

Ferrandis Rosell, A., Verdú Amat, S<sup>1</sup>., Grau Meló, R<sup>1</sup>.

## RESUMEN

El deterioro de las funciones masticatorias o de deglución es común en algunos grupos de personas, como en los ancianos, y afecta sus percepciones y elecciones de alimentos y su capacidad para comer. Pero este problema también está presente en segmentos poblacionales, que, por ser más minoritarios, no dejan de ser importantes como aquellos que presentan ciertos trastornos neurológicos o del sistema nervioso provocados por distintas enfermedades (esclerosis múltiple, párkinson, cáncer, accidentes cerebrovasculares, etc.).

Es por ello que en el presente trabajo se ha evaluado la tenderización de la carne del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) mediante la aplicación del enzima proteolítico (Papaína). Esta carne es una buena fuente de nutrientes y contiene compuestos como proteínas, ácidos grasos insaturados, vitaminas A, B y D, aminoácidos esenciales y otras biomoléculas importantes. Sin embargo, tiene una consistencia dura y pegajosa y es difícil ablandarlo, incluso después del almacenamiento y el calentamiento.

Para llevarlo a cabo, se utilizaron porciones congeladas comerciales de pota (*Dosidicus gigas*) dado que estas presentan formas más o menos regulares que, posteriormente, se cortaron en porciones de aproximadamente 1.5 x 1.5 x 3 cm. Las muestras fueron inoculadas con una solución (5% p / v) de enzima papaína (30 000 U / mg) (Biocon, Les Franqueses del Vallés, España) mediante una secuencia de inyecciones de 0.1 mL cada 0.5 cm. Se evaluaron dos temperaturas diferentes de cocción en agua (65 y 85 °C) a 0, 1, 3, 7, 10, 12, 15 y 20 minutos, así como el efecto de un masajeado. El efecto de la aplicación del enzima, el binomio tiempo - temperatura, así como del masajeado se realizó mediante análisis instrumentales (textura (TPA), imagen (color) y sensoriales (textura y apreciación visual)).

Los resultados obtenidos mostraron como el pretratamiento con enzima de la carne de pota (*Dosidicus gigas*) durante 24 horas en refrigeración, previo a su cocción, con la finalidad de reblandecer esta, no es un método eficaz. En cambio, evidenciaron como la actividad del enzima durante la etapa de cocción es la suficiente como para reblandecer la pota hasta tal punto que llega a perder su integridad, siendo el binomio tiempo – temperatura influyente. A tal efecto, tanto las muestras tratadas a 65 como a 85 °C alcanzaron el mínimo valor de dureza a los 15 minutos de cocción, si bien los catadores evaluaron las cocinadas a 65 °C como las más blandas, y las cocinadas a 85 °C como las más parecidas en aspecto a muestras control.

Estos resultados han sentado bases para nuevos estudios con la finalidad de desarrollar productos con textura modificada a partir de alimentos sólidos, apropiados para individuos con trastornos alimenticios o dificultades relacionadas con la masticación y deglución de los alimentos.

**PALABRAS CLAVE:** Carne de pota, papaína, cocción, deglución, textura

---

<sup>1</sup> Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València, España

## **OBTENCIÓ DE CARN DE CEFALÒPODE (*DOSIDICUS GIGAS*) AMB TEXTURA MODIFICADA TENDERITZADA AMB PAPAÍNA**

### **RESUM**

La deterioració de les funcions masticatòries o de deglució és comuna en alguns grups de persones, com en els ancians, i afecta les seues percepcions i eleccions d'aliments i la seua capacitat per a menjar. Però aquest problema també és present en segments poblacionals, que, per ser més minoritaris, no deixen de ser importants com aquells que presenten uns certs trastorns neurològics o del sistema nerviós provocats per diferents malalties (esclerosi múltiple, \*párkinson, càncer, accidents cerebrovasculars, etc.).

És per això que en el present treball s'ha avaluat la tenderització de la carn del calamar gegant (*Dosidicus gigas*) mitjançant l'aplicació de l'enzim proteolític (Papaína). Aquesta carn és una bona font de nutrients i conté compostos com a proteïnes, àcids grassos insaturats, vitamines A, B i D, aminoàcids essencials i altres biomolècules importants. No obstant això, té una consistència dura i enganxosa i és difícil ablanir-ho, fins i tot després de l'emmagatzematge i el calfament.

Per a dur-ho a terme, es van utilitzar porcions congelades comercials de pota (*Dosidicus gigas*) atés que aquestes presenten formes més o menys regulars que, posteriorment, es van tallar en porcions d'aproximadament 1.5 x 1.5 x 3 cm. Les mostres van ser inoculades amb una solució (5% p / v) d'enzim papaína (30 000 U / mg) (Biocon, Les Franqueses del Vallés, Espanya) mitjançant una seqüència d'injeccions de 0.1 mL cada 0.5 cm. Es van avaluar dues temperatures diferents de cocció en aigua (65 i 85°C) a 0, 1, 3, 7, 10, 12, 15 i 20 minuts, així com l'efecte d'un massatge. L'efecte de l'aplicació de l'enzim, el binomi temps - temperatura, així com del massatge es va realitzar mitjançant anàlisis instrumentals (textura (TPA), imatge (color) i sensorials (textura i apreciació visual)).

Els resultats obtinguts van mostrar com el pretractament amb enzim de la carn de pota (*Dosidicus gigas*) durant 24 hores en refrigeració, previ a la seua cocció, amb la finalitat d'ablanir aquesta, no és un mètode eficaç. En canvi, van evidenciar com l'activitat de l'enzim durant l'etapa de cocció és la suficient com per a ablanir la pota (*Dosidicus gigas*) fins a tal punt que arriba a perdre la seua integritat, sent el binomi temps – temperatura influent. A aquest efecte, tant les mostres tractades a 65 com a 85 °C van aconseguir el mínim valor de duresa als 15 minuts de cocció, si bé els tastadors van avaluar les cuinades a 65 °C com les més blanques, i les cuinades a 85°C com les més semblants en aspecte a mostres control.

Aquests resultats han establert bases per a nous estudis amb la finalitat de desenvolupar productes amb textura modificada a partir d'aliments sòlids, apropiats per a individus amb trastorns alimentosos o dificultats relacionades amb la masticació i deglució dels aliments.

**PARAULES CLAU:** Carn de pota, papaína, cocció, deglució, textura

## DEVELOPMENT OF CEPHALOPOD MEAT (*DOSIDICUS GIGAS*) WITH MODIFIED TEXTURE EMPLOYING PAPAIN PRE-TREATMENT

### ABSTRACT

Impaired masticatory or swallowing functions are common in some groups of people, such as the elderly, and affect their perceptions and choices of food and their ability to eat. But this problem is also present in segments of the population which, although they are in the minority, are nonetheless important, such as those with certain neurological or nervous system disorders caused by various diseases (multiple sclerosis, Parkinson's disease, cancer, stroke, etc.).

This is why in the present work it has been evaluated the tenderisation of giant squid (*Dosidicus gigas*) meat by the application of the proteolytic enzyme (papain). This meat is a good source of nutrients and contains compounds such as proteins, unsaturated fatty acids, vitamins A, B and D, essential amino acids and other important biomolecules. However, it has a hard and sticky consistency and is difficult to tenderise, even after storage and heating.

To do this, commercial frozen portions of squid (*Dosidicus gigas*) were used, as they have more or less regular shapes, which were then cut into portions of approximately 1.5 x 1.5 x 3 cm. The samples were inoculated with a solution (5% w / v) of papain enzyme (30 000 U/mg) (Biocon, Les Franqueses del Vallés, Spain) by a sequence of 0.1 mL injections every 0.5 cm. Two different water cooking temperatures (65 and 85 °C) were evaluated at 0, 1, 3, 7, 10, 12, 15 and 20 minutes, as well as the effect of massaging. The effect of the enzyme application, the time-temperature binomial, as well as the effect of massaging were analysed by instrumental (texture (TPA), image (colour) and sensory (texture and visual appreciation) analyses.)

The results obtained showed that pre-treatment of Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) meat with enzyme for 24 hours under refrigeration, prior to boiling, in order to soften it, is not an effective method. On the other hand, the results showed that the enzyme activity during the boiling stage is sufficient to soften the squid to such an extent that it loses its integrity, with the time-temperature combination being influential. To this effect, both 65 and 85 °C samples reached the minimum hardness value after 15 minutes of cooking, although the tasters evaluated those cooked at 65 °C as the softest, and those cooked at 85 °C as the most similar in appearance to control samples.

These results have laid the groundwork for further studies to develop texture-modified products from solid foods, suitable for individuals with eating disorders or difficulties related to chewing and swallowing food.

**KEYWORDS:** Jumbo Squid meat, papain, boiling, swallowing, texture

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer al “Ministerio Español de Ciencia e Innovación” por el apoyo financiero brindado a través del Proyecto RTI2018-098842-BI00.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	4
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	4
<b>3.1. Materia prima</b> .....	4
3.1.1. TIRAS DE POTA.....	4
3.1.2. ENZIMA PAPAÍNA.....	4
<b>3.2. Procedimiento experimental</b> .....	5
<b>3.3. Análisis de textura</b> .....	7
<b>3.4. Análisis de imagen</b> .....	7
<b>3.5. Análisis sensorial</b> .....	8
<b>3.6. Análisis estadístico</b> .....	10
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	10
<b>4.1. Efecto permanencia en refrigeración 24 horas</b> .....	10
<b>4.2. Evaluar el efecto del binomio temperatura – tiempo de cocción</b> .....	12
4.2.1. CURVAS DE TEMPERATURA.....	12
4.2.2. EFECTO DEL BINOMIO TEMPERATURA – TIEMPO DE COCCIÓN..	14
4.2.3. EFECTO DEL MASAJEADO.....	21
4.2.4. CATA FINAL.....	26
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	28
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	29

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ficha del análisis visual y de textura.....	9
<b>Tabla 2.</b> Valores promedio y valor estándar para los parámetros de textura: elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia. ....	12
<b>Tabla 3.</b> Resto de parámetros de TPA del estudio de agitación.....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Patrón de inyección.....	5
<b>Figura 2.</b> Esquema del procedimiento experimental del efecto del enzima a temperatura de refrigeración.....	5
<b>Figura 3.</b> Esquema del procedimiento experimental del efecto binomio tiempo – temperatura tiempo de cocción.....	7
<b>Figura 4.</b> Evaluación de la dureza de las muestras mediante una espátula (A) y la inspección visual de las muestras en un plato con caldo (B) .....	8

<b>Figura 5.</b> Valores promedio de dureza (N) para muestras control, inyectadas con agua o con enzima a tiempo 0 (C', A' y E') y almacenadas durante 24 horas en refrigeración (C, A y E).....	11
<b>Figura 6.</b> Evolución de la temperatura interna de las muestras control (C') cocidas a las temperaturas 65 y 85°C .....	13
<b>Figura 7.</b> Valores de PC1 para el análisis PCA realizado a los parámetros del análisis de textura TPA.....	14
<b>Figura 8.</b> Peso de las variables (loadings) para el análisis PCA realizado a los parámetros del análisis de textura TPA.....	15
<b>Figura 9.</b> Media y error estándar (barras) del análisis de dureza (A), gomosidad (B) y masticabilidad (C).....	17
<b>Figura 10.</b> Media y error estándar (barras) del análisis de elasticidad (A), cohesividad (B) y resiliencia (C).....	18
<b>Figura 11.</b> Área de las muestras durante la cocción .....	18
<b>Figura 12.</b> Evolución de cocción de las muestras control (C_65, C_65-3', C_65-7', C_65_20' y C_85, C_85-3'; C_85-7' y C_85-20') y las muestras inyectadas con enzima (E_65, E_65-3', E_65-7', E_65_20' y E_85, E_85-3'; E_85-7' y E_85-20') a 65 y 85°C para los tiempos 0, 3, 7 y 20 minutos con la degradación del tejido de las muestras (flecha a).....	20
<b>Figura 13.</b> Índice de blancura de las muestras tratadas a 65°C (A) y a 85°C (B) .....	21
<b>Figura 14.</b> Media y error estándar (barras) del análisis de dureza del estudio de agitación .....	22
<b>Figura 15.</b> Índice de blancura de las muestras con tratamiento enzimático (E_65, E_65-15', E_65-30', E_85, E_85-15' y E_85-30') tras el efecto agitación..	23
<b>Figura 16.</b> Intensidad de color de las muestras con tratamiento enzimático (E_65, E_65-15', E_65-30', E_85, E_85-15' y E_85-30') según los catadores.....	24
<b>Figura 17.</b> Apariencia global de las muestras (E_65, E_65-15', E_65-30', E_85, E_85-15' y E_85-30') según los catadores.....	24
<b>Figura 18.</b> Dureza de las muestras (E_65, E_65-15', E_65-30', E_85, E_85-15' y E_85-30') según los catadores .....	25
<b>Figura 19.</b> Muestras con inyección del enzima, agitadas durante 15 y 30 minutos y cocidas durante 7 minutos (E_65, E_65-15', E_65-30'; E_85; E_85-15'; E_85-30').....	25
<b>Figura 20.</b> A: Relación entre el índice de blancura y la intensidad de color (Cata) y el índice de blancura. B: Relación de la dureza del análisis de TPA y la generada por los catadores.....	26
<b>Figura 21.</b> Valoración de la dureza, la intensidad de blancura y la apariencia global para las muestras control (C_65 y C_85) y para las muestras inyectadas con enzima (E_65 y E_85) sin efecto agitación.....	27
<b>Figura 22.</b> Imágenes de los platos con las muestras control a 65 (A) y 85°C (B) (C_65 y C_85), y de las muestras con inyección de papaína sin agitación a 65 (C) y 85°C (D) (E_65 y E_85) .....	27
<b>Figura 23.</b> Valores de PC1 y PC2 para el análisis PCA realizado para los parámetros de los análisis de textura y sensorial.....	28

# 1. INTRODUCCIÓN

Alimentos con textura modificada (ATM), es un término que se refiere a alimentos con texturas suaves y/o tamaño de partícula reducido, así como líquidos espesados destinados al segmento de mercado de personas de edad avanzada, con disfunciones alimentarias (Cichero, 2015). Actualmente, este sector poblacional exhibe la mayor tasa de crecimiento entre todos los segmentos de poblaciones, y se estima que en el año 2050 habrá más de 400 millones de personas mayores de 80 años (Naciones Unidas, 2015). Proporcionar alimentos suaves, blandos, sabrosos, apetecibles y saludables para las personas mayores, particularmente aquellos con disfunciones masticatorias y problemas de deglución y/o con necesidades nutricionales especiales, se ha convertido en un desafío importante para el sector académico y para la industria alimentaria (Aguilera y Park, 2016). Pero estos avances, no solo son importantes para este amplio sector poblacional, también lo son para otros sectores más minoritarios pero importantes por su dependencia como son aquellos que presentan ciertos trastornos neurológicos o del sistema nervioso provocados por distintas enfermedades (esclerosis múltiple, párkinson, cáncer, accidentes cerebrovasculares, etc) que da lugar a problemas de deglución. Dentro de los ATM se incluyen alimentos que se suavizan por procesamiento, alimentos picados, purés o licuados, así como líquidos que han sido espesados a diferentes consistencias (IDDSI, 2016).

Se debe tener en cuenta que cuando una persona no logra tragar y/o masticar de manera eficaz alimentos líquidos o sólidos, no alcanza la ingesta calórica necesaria que aportan los nutrientes esenciales (proteínas, grasas, carbohidratos, etc.), derivando así en un estado de desnutrición, y en el caso de la disfagia a líquidos, de deshidratación. Además, se puede producir una aspiración de trozos de alimentos que puede causar una neumonía (neumonía por aspiración), esto es, cuando pasa el contenido alimenticio a las vías respiratorias y a los pulmones. Todo ello conlleva al aumento de la morbilidad y la mortalidad en los pacientes que la sufren (Teramoto *et al.*, 2008; Andersen *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2014).

En base a su estado físico, los alimentos pueden clasificarse en alimentos líquidos o fluidos, alimentos semisólidos, alimentos sólidos blandos y alimentos sólidos duros (Koç *et al.*, 2013). Ante la dificultad para tragar un alimento en estado líquido, la principal estrategia a seguir es modificar su viscosidad, evitando así la consistencia líquida. Ante la dificultad para tragar y/o masticar alimentos sólidos, la estrategia a seguir se centra en adaptar la consistencia de los sólidos evitando en todo momento el consumo de alimentos de riesgo los cuales dificultan la formación del bolo. La forma más rápida y sencilla de conseguir una consistencia adecuada y segura para este tipo de productos es a través de la obtención de cremas o purés, pero estos alimentos triturados tienen diversos inconvenientes, entre los que destacan el menor aporte nutricional e hídrico frente a los alimentos que incluyen todas sus texturas y consistencias, así como el efecto negativo que genera desde el punto de vista psicosocial una dieta basada en cremas o purés. Hay que tener en cuenta que el comer y beber son actividades sociales y experiencias placenteras que forman parte de la vida humana, y por tanto en el diseño de los ATM se debe trabajar para paliar los problemas de insatisfacción o aquellos que resten el placer social de la alimentación.



De entre los diferentes métodos utilizados para ablandar alimentos sólidos se encuentra el uso de enzimas con actividad sobre tejidos vegetales o animales. Los tratamientos enzimáticos, combinados con técnicas de inyección e impregnación que permitan la inclusión de los enzimas hacia los tejidos más profundos, presentan las ventajas de poder ser utilizados para ablandar alimentos hasta hacerlos tan suaves que pueden ser consumidos sin ningún esfuerzo, pero conservando la forma original (Sakamoto *et al.*, 2006). En el ablandamiento de productos de origen animal, los enzimas derivados de las plantas tropicales se utilizan para ablandar la carne enzimáticamente como, por ejemplo, la papaína de la papaya, la ficina de la higuera, la bromelina de la piña, entre otras (Collignan y Montet, 1998). Estos enzimas tienen un papel importante en la degradación de las proteínas estructurales de los tejidos conectivos, que se componen por colágeno, elastina, entre otras (Arshad *et al.*, 2016; Astruc, 2014). El colágeno es el principal constituyente de los tejidos conectivos y tiene una estrecha relación con la textura (Valencia-Pérez *et al.*, 2008). Los enzimas proteolíticos tienen una amplia especificidad de sustrato, lo que provoca la descomposición indiscriminada de las principales proteínas musculares, que da como resultado la reducción de la dureza y un producto con mayor utilidad, aceptabilidad y rentabilidad (Janz *et al.*, 2005).

La papaína es un enzima proteolítico de origen vegetal, muy estable y activo en una amplia variedad de condiciones, como, por ejemplo, a elevadas temperaturas (Amri y Mamboya, 2012). Su pH óptimo se encuentra entre 5-7.5 y su temperatura óptima se encuentra entre los 70-90°C (Babu, 2019), ya que, a partir de los 90°C, su actividad enzimática es menor (Omeje *et al.*, 2014). Al ser un enzima proteolítico, los efectos que produce en el ablandamiento de la textura son buenos ya que la hidrólisis enzimática da lugar a un aumento de la solubilización de los grupos aminos libres y la hidroxiprolina, lo que resulta una pérdida de la integridad del músculo y la disminución de la dureza. En un estudio realizado sobre el efecto de la inyección de papaína en filetes y asado de ternera, se observó un ablandamiento mayor de la textura cuando se inyectaba el enzima en el músculo en lugar de sumergir la carne en una disolución del enzima (Gokoglu *et al.*, 2017).

El uso de la papaína, así como el de otros enzimas, está permitido en los alimentos, aunque bajo un procedimiento común para evaluar y autorizar a los productores de alimentos su uso en sus productos. Este procedimiento se recoge en el Reglamento (CE) N° 1331/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, por el que se establece un procedimiento de autorización común para los aditivos, los enzimas y los aromas alimentarios.

Uno de los alimentos de origen animal en el que el uso de enzimas podría facilitar en gran medida su consumo es el de los cefalópodos. El calamar gigante, o pota, (*Dosidicus gigas*) es un cefalópodo endémico del Pacífico Oriental Tropical (Alegre *et al.*, 2014) que representa aproximadamente un tercio del total de calamares existentes (Zhu *et al.*, 2020). Tiene un buen valor nutricional ya que tiene un contenido de proteínas de fácil digestión (94%), carbohidratos no asimilables, vitaminas A, D y complejo B, bajo contenido en grasa y calórico (Calvo *et al.*, 2016). Pero, aunque a nivel nutricional es un alimento muy saludable, su textura dura y pegajosa, debida por la orientación radial y circular de sus fibras y por su interconexión con el tejido conectivo, y por el elevado contenido en miostromina insoluble, puede dificultar la masticación en niños y ancianos afectando negativamente a la aceptación del producto por parte del consumidor (Jun-

Hui *et al.*, 2020). A diferencia de los peces, la percepción sensorial del calamar se determina más por sus propiedades reológicas que por su sabor (Kugino y Kugino, 1994). Diferentes estudios han señalado que la principal queja de los consumidores con respecto al calamar es su textura dura (Collignan y Montet, 1998). La cocción puede afectar a las propiedades funcionales de las proteínas, que puede dar lugar a cambios en las propiedades reológicas, que alteran la textura y la calidad de consumo de los productos marinos, desperdiciando una escasa y rica fuente de proteínas. En función del proceso tecnológico en cuestión, las proteínas más afectadas son las proteínas miofibrilares y las proteínas del estroma. Los cambios de conformación, que pueden dar lugar a la agregación de las proteínas, sufridos por las proteínas durante la cocción, puede provocar que el músculo sea más duro y más seco (Valencia-Pérez *et al.*, 2008). Autores han señalado que la cocción es un proceso térmico rápido y barato para convertir la carne de calamar en comestible, que mejora la digestibilidad de proteínas del músculo del calamar y que libera compuestos que contribuyen a desarrollar un sabor deseable (Torres-Arreola *et al.*, 2017), pero también se ha demostrado que las condiciones de temperatura durante el proceso de cocinado de la carne tienen un efecto en todos los parámetros de textura (Barbera y Tassone, 2006) y en el caso del calamar el calentamiento y almacenamiento no tienen por qué ablandar su textura pudiendo presentar una consistencia dura y pegajosa (Jun-hui *et al.*, 2020).

Es por ello que la aplicación de enzimas proteolíticos con la finalidad de ablandar carne de cefalópodo puede ser interesante, aprovechando así su potencial nutricional sin que se produzca un rechazo por su textura.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo final de grado es la obtención de carne de cefalópodo (*Dosidicus gigas*) modificada texturalmente mediante su tenderización con papaína.

Para su consecución se plantearon dos objetivos específicos:

- Evaluar el efecto del enzima a temperaturas de refrigeración.
- Evaluar el efecto del efecto binomio temperatura – tiempo de cocción.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

La realización del presente trabajo se enmarca dentro de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio Español de Ciencia e Innovación (RTI2018-098842-BI00) titulado “*Avances en el diseño de alimentos con textura modificada (ALITEMO)*” en el que, entre otros, se estudian diferentes tratamientos enzimáticos combinados con procesos de impregnación y/o inyección para modificar la textura de productos sólidos de origen animal y vegetal manteniendo su integridad física.

### 3.1. Materia prima

#### 3.1.1. TIRAS DE POTA

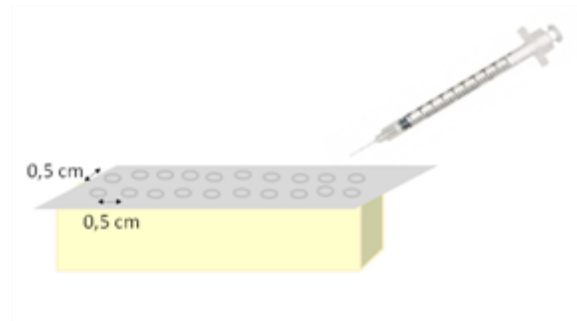
La materia prima utilizada para llevar a cabo el presente estudio fue tiras de pota (*Dosidicus gigas*) congeladas, adquiridas en un supermercado local. Se estableció esta materia prima por presentar formas regulares y espesores más o menos constantes (1.5 cm x 1.5 cm), lo cual reduce el número de variables a controlar en el estudio.

Para su utilización, las tiras fueron descongeladas y posteriormente cortadas a una longitud de unos de 3 cm. Para la totalidad de la experiencia se utilizaron aproximadamente de unas 878 muestras de pota.

#### 3.1.2. ENZIMA PAPAÍNA

Con el objetivo de ablandar la textura de este cefalópodo, se adicionó a las muestras el enzima hidrosoluble papaína (Biocon, Les Franqueses del Vallès, Barcelona, España) 30000 U/mg. La papaína es una endopeptidasacisteínica, de origen natural y que posee actividad proteolítica (Ramírez, 2019).

Para el tratamiento enzimático, se preparó una disolución del enzima al 5% (p/v) y se inyectó en las muestras mediante un patrón plástico diseñado específicamente. En cada una de las inyecciones se adicionó, de forma uniforme, 0.1 ml con una separación de 0.5 cm entre cada inyección (Figura 1).



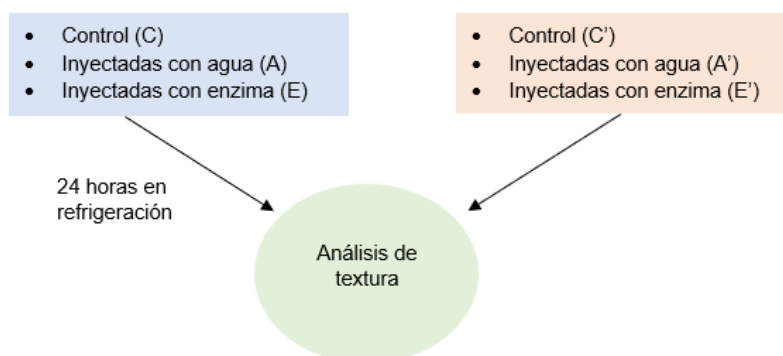
**Figura 1.** Patrón de inyección

### 3.2. Procedimiento experimental

La realización del estudio se planteó bajo dos puntos. Un primero en el que se evaluó el efecto del enzima a la temperatura de refrigeración con la finalidad de estudiar la posibilidad de realizar un pretratamiento enzimático previo a la cocción del producto, y un segundo punto donde se evaluó el efecto del binomio temperatura – tiempo de cocción con la finalidad de realizar el pretratamiento enzimático al mismo tiempo que la cocción dado que el enzima tiene una actividad óptima a temperaturas de entre 65-75 °C (Calkins y Sullivan, 2007). Además, como consecuencia de los resultados obtenidos, se planteó un tercer punto con el que se evaluó el efecto de un pretratamiento con el enzima antes de la cocción, pero aplicando un masajeado con el objetivo de mejorar la difusión interna del enzima.

Para evaluar el efecto del enzima a la temperatura de refrigeración, se prepararon 3 lotes de 12 muestras. Uno fue inyectado con papaína (E), otro inyectado con agua (A) con la finalidad de evaluar el efecto inyección y un tercero control (C). Todas ellas se dejaron en refrigeración durante 24 horas y, transcurridas estas y previo a su ensayo de textura, se prepararon los mismos tres lotes (E', A' y C') con la finalidad de obtener muestras a tiempo 0 de refrigeración.

En la figura 2, se muestra un esquema del procedimiento experimental de este primer punto del estudio.



**Figura 2.** Esquema del procedimiento experimental del efecto del enzima a temperatura de refrigeración

En el estudio del binomio temperatura - tiempo de cocción, las muestras inyectadas con enzima (E), inyectadas con agua (A) y control (C) fueron tratadas directamente a dos temperaturas diferentes 65 y 85°C, dado que la temperatura óptima de acción del enzima es de 65-75°C (Calkins y Sullivan, 2007) y que, a partir de los 90°C, la actividad enzimática decrece debido a la desnaturalización proteica del enzima (Omeje *et al.*, 2014). Para ello, las muestras fueron sumergidas en agua durante 0, 1, 3, 7, 10, 12, 15 y 20 minutos. El número de muestras utilizado para cada tiempo, temperatura y tipo de muestras fue de 15, siendo el número total de muestras utilizadas en este punto del estudio de aproximadamente 720.

Tras cada tiempo de cocción, las muestras se dejaron enfriar en una bandeja grande con agua fría durante 3-4 minutos, con la finalidad de reducir rápidamente la temperatura. Tras esto, las muestras se secaron para que no tuviesen agua superficial, se introdujeron en una bandeja, se recubrieron con papel de film y se dejaron en refrigeración durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se atemperaron y se les realizó un análisis de textura y de imagen del que se obtuvieron datos de la evaluación del tamaño de las muestras y del color. Además, para el tiempo en el que se alcanzó la textura más blanda, se realizó un análisis sensorial, tanto de textura como de aceptación en un plato.

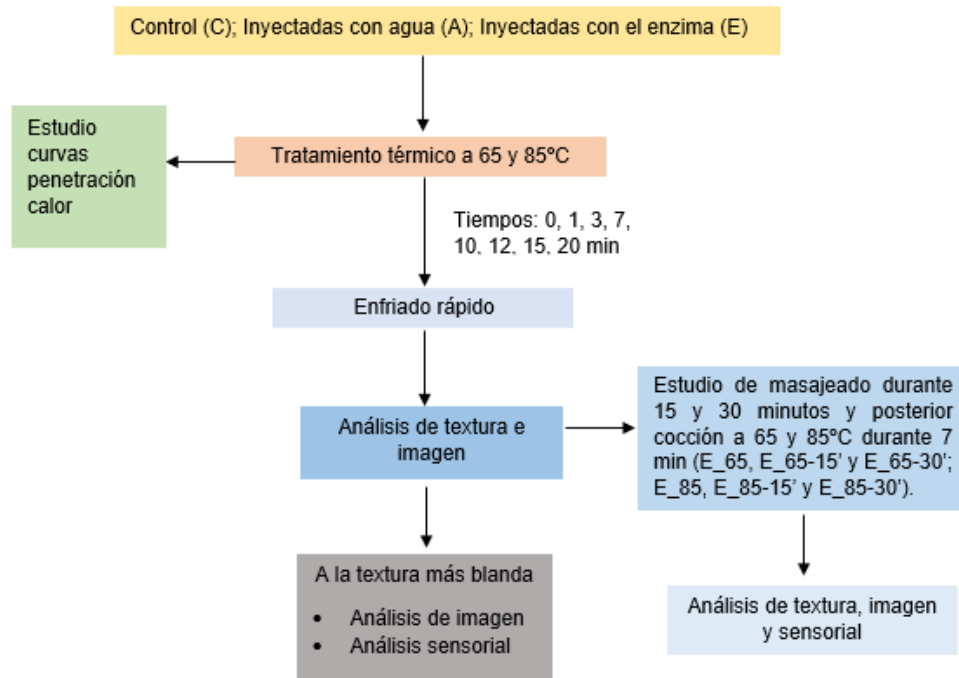
Previo al estudio de este segundo punto, se realizó un estudio de penetración de calor (curvas de temperatura) con la finalidad de conocer a cada tiempo de tratamiento la temperatura interna de la muestra y el tiempo necesario para alcanzar los 65 y los 85°C. Para ello se registró la temperatura en el centro de las muestras mediante un termopar tipo J conectado a un equipo de adquisición de datos (34970A de Agilent Technologies). Se prepararon un total de 7 muestras para cada tipo de muestras y, una vez obtenidas las curvas de temperatura, éstas se estudiaron y se modelizaron aplicando un modelo matemático (ecuación 1)

$$y = a * (1 - \exp(-b * x)) + c \dots \dots \dots (\text{ecuación 1})$$

Finalmente, y tras observar el efecto que el enzima generó sobre las muestras, se procedió a la realización del tercer estudio en el que se evaluó el efecto de una etapa de masajeado después de la inyección y previo a la cocción. La finalidad de realizar este masajeado fue el de favorecer la dispersión del enzima por el interior de las muestras al igual que se realiza en otros productos como el jamón cocido. Para ello, se prepararon un total de 72 muestras con enzima inyectada que fueron tratadas con agitación horizontal durante 15 y 30 minutos. Tras esta agitación las muestras fueron cocidas en el agua durante 7 minutos a 65 y 85 ° C (E\_65-15', E\_65-30', E\_85-15 y E\_85-30'). Se estableció un tiempo de cocción de 7 minutos debido a que, como se mostrará en resultados, fue el tiempo mínimo necesario para alcanzar la temperatura interna de 65 y 85°C y para el cual, las muestras todavía podían disminuir su dureza.

Tras el tratamiento térmico las muestras fueron enfriadas rápidamente para frenar la cocción y una vez atemperadas se analizaron mediante un análisis de textura, un análisis de imagen, antes y después de la cocción, y uno sensorial.

La figura 3 muestra un esquema del procedimiento experimental llevado a cabo para este segundo punto del estudio.



**Figura 3.** Esquema del procedimiento experimental del efecto binomio tiempo – temperatura tiempo de cocción

### 3.3. Análisis de textura

El análisis de textura aplicado fue el Análisis de Perfil de Textura (*Texture Profile Analysis*, TPA). Se trata de un ensayo donde se miden y cuantifican parámetros claves de textura (dureza, elasticidad, gomosidad, cohesividad y resiliencia) (Torres *et al.*, 2015).

Para la realización de este ensayo, se utilizó el analizador de textura TA. XTplus (Sattble Micro Systems, Surrey, UK). El software que se utilizó fue Exponent (Stable Micro Systems Ltd, versión 6.1.11.0). La experiencia se realizó de forma idéntica en todas las muestras tras su atemperado. Para ello se utilizó una célula de carga de 75 mm de diámetro, siendo los parámetros definidos para el ensayo de: distancia de retorno: 25 mm; velocidad de retorno: 20 mm/s; fuerza de contacto: 4 g.

### 3.4. Análisis de imagen

El análisis de imagen se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura y el tiempo de cocción, así como el de masajeado, sobre la forma y el color de las muestras. Para ello se tomaron imágenes antes y después de estos tratamientos las cuales fueron adquiridas utilizando una cámara Logitech C922 Pro Stream Webcam, junto con un iluminante de luz blanca halógena. Este sistema estaba situado en el interior de una cámara oscura para eliminar cualquier interferencia del exterior que pudiese afectar al estudio, como es el caso de la luz ambiental.

Para el análisis de las imágenes se utilizó el software informático de análisis de imagen Fiji. Mediante su empleo se determinó el área de cada una de las muestras, así como el color, el cual se expresó en coordenadas L\*, a\* y b\* a partir de las cuales se determinó el índice de blancura (IW) según la ecuación 2 (Montoya-López *et al.*, 2012).

$$IW = L * 3b + 3a..... \text{(ecuación 2)}$$

### 3.5. Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó en dos puntos del estudio. Un primero en el que se evaluó el efecto del masajeado y otro en el que se evaluaron las muestras para el binomio tiempo – temperatura en el que se alcanzó la máxima blandeza. En ambos casos se realizó un análisis para evaluar la textura de la muestra y un de inspección visual, si bien este fue llevado a cabo de forma diferente para cada punto. Es importante remarcar que dada la normativa instaurada en la Universidad Politécnica de Valencia a consecuencia del COVID-19, el análisis sensorial solo se pudo realizar bajo estas premisas.

En ambos estudios se aplicó un análisis de escala de intensidad. Esta prueba se realizó según la norma UNE-ISO 4121:2006, que proporciona directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas y su utilización cuando se valoran muestras. La respuesta obtenida indica la intensidad de la percepción, en este caso, de la apariencia visual, la intensidad de color blanco y la dureza. Para la realización de estudio, se utilizó una escala numérica de categorías (Tabla 1).

Se realizó una prueba descriptiva cuantitativa (QDA, *Quantative Descriptive Analysis*) que permite cuantificar la intensidad de cada descriptor (Tabla 1). Para ello los catadores tenían que describir la intensidad de textura al presionar con una espátula sobre la muestra (figura 4A), evaluando las muestras desde texturas muy blandas (queso cremoso) a muy duras (carne dura) y marcando sus respuestas en una escala numérica de categorías (Tabla 1).



**Figura 4.** Evaluación de la dureza de las muestras mediante una espátula (A) y la inspección visual de las muestras en un plato con caldo (B)





### 3.6. Análisis estadístico

Los resultados que se obtuvieron del análisis de textura, imagen y sensorial se analizaron y estudiaron estadísticamente a través de un análisis de la varianza ANOVA simple para estudiar el efecto de las variables efecto inyección, tratamiento enzimático, temperatura y tiempo de cocción masajeado. El programa informático utilizado fue Statgraphics Centurion XVIII, versión 18.1.14. Para la realización del ensayo se utilizó un intervalo de confianza del 95% y un valor de  $p < 0,05$  estadísticamente significativo en todos los análisis.

Con la finalidad de describir las muestras a partir del conjunto de todos los parámetros de textura obtenidos y conocer el peso de cada uno en la descripción de estas, se decidió realizar un análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*), reduciendo la dimensionalidad de las variables, agrupando las seis variables en grupos donde cada grupo es una componente, combinando la información para alcanzar la máxima varianza posible y realizando agrupaciones espontáneas. Este mismo análisis se utilizó para la descripción sensorial de las muestras en el binomio tiempo – temperatura en el que se alcanza la textura más blanda. El análisis PCA o análisis de componentes principales es un método de la reducción de la dimensionalidad que se utiliza para reducir la dimensionalidad de grandes conjuntos de datos, transformando un gran conjunto de variables en uno más pequeño, aumentando la interpretabilidad, pero al mismo tiempo, minimizando la pérdida de información, mediante la creación de nuevas variables no correlacionadas que maximizan sucesivamente la varianza (Jaadi, 2021; Jolliffe y Cadima, 2016). Para realizar este estudio se utilizó el programa MATLAB 7.7.0 (R2010b).

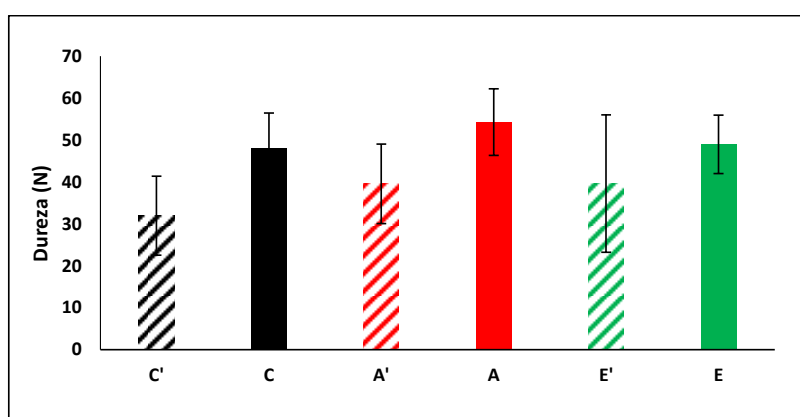
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Efecto permanencia en refrigeración 24 horas

Tras realizar el estudio y recopilar los datos, los resultados de la dureza (N) de las muestras mostraron como el efecto inyección no fue influyente dado que las muestras inyectadas tanto con agua o con la disolución con el enzima presentaron la misma dureza que las muestras control, tanto a tiempo 0 como a las 24 horas en refrigeración. Este resultado además evidenció como el enzima a temperaturas de refrigeración tiene una actividad muy baja la cual no generó cambios. En cambio, sí se apreció el efecto del tiempo en refrigeración para los tres tipos de muestras. En la figura 5 se muestran los valores de dureza (N) para las muestras control (C'), inyectadas con agua (A') y con enzima (E') a tiempo 0 y a las 24 horas de refrigeración (C, A y E respectivamente). Como se observa, se produjo un incremento de la dureza. Este incremento podría estar relacionado con la pérdida de peso que sufren las muestras en refrigeración como consecuencia de un ligero secado y exudado, y la relación de esta con el incremento de la dureza. Así la diferencia de pesada de las muestras antes y después del periodo de refrigeración mostró una pérdida de peso del 1.7% para las muestras control y de un 4.4% para las inyectadas.

Ueng y Chow (1998) realizaron un estudio sobre los efectos del almacenamiento en la textura de diferentes mantos de cefalópodos y observaron que la congelación tuvo un efecto en el aumento de la dureza, si bien no existe mucha más literatura acerca de los cambios en textura del calamar en condiciones de congelación. Sin embargo, estos mismos autores señalaron que el incremento de la dureza después de la descongelación del manto pudo ser debido, en parte, a la pérdida de retención de agua de la proteína muscular durante el almacenamiento en congelación. Tras la descongelación, observaron cómo se produjo una pérdida por goteo o *drip loss* de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares que indicaría el daño sufrido por los tejidos musculares como consecuencia del proceso de congelación y descongelación.

Por otro lado, durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración se produce una deshidratación de la carne como consecuencia de la ligera fluctuación de temperatura del aire de la cámara que va asociada con cambios importantes en la humedad relativa de este (termodinámica del aire húmedo) que favorece el secado superficial de la carne. Bustabad (1999) señaló que cuanto mayor es el tiempo de almacenamiento, mayores son las pérdidas por evaporación.



**Figura 5.** Valores promedio de dureza (N) para muestras control, inyectadas con agua o con enzima a tiempo 0 (C', A' y E') y almacenadas durante 24 horas en refrigeración (C, A y E)

Los resultados del resto de los parámetros del análisis de TPA se muestran en la tabla 2. Como se observa, las muestras para los parámetros de elasticidad, cohesividad y resiliencia fueron iguales, tanto a tiempo 0 como a las 24 horas. En cambio, para los parámetros de gomosidad y masticabilidad no fue así. Todas las muestras a tiempo 0 o a las 24 horas presentaron valores similares entre ellas, pero estos valores fueron menores a tiempo 0, al igual que ocurrió con la dureza. Esto mostraría el peso que la dureza tiene sobre estos dos parámetros dado que gomosidad es igual a cohesividad x dureza, mientras que la masticabilidad es elasticidad x dureza x cohesividad.

Si bien ya se sabía al principio, como se ha mencionado en materiales y métodos, que la actividad óptima del enzima se encuentra entre los 65-75°C, en el estudio se pretendió ver si un tiempo tan prolongado como 24 horas era suficiente como para que ésta actuase. Como se ha podido comprobar, esta no es suficiente. Es por ello que, para que el enzima actúe, se precisará la aplicación de un tratamiento térmico o

explorar un mayor tiempo de contacto del enzima para la pota (*Dosidicus gigas*) en refrigeración.

**Tabla 2.** Valores promedio y valor estándar para los parámetros de textura: elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia.

	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)	Resiliencia
C'	0,951±0,022 <sup>a</sup>	0,682±0,173 <sup>a</sup>	16,352±7,255 <sup>a</sup>	10,516±5,298 <sup>a</sup>	0,625±0,145 <sup>a</sup>
C	0,958±0,017 <sup>a</sup>	0,684±0,106 <sup>a</sup>	22,722±11,472 <sup>b</sup>	14,292±6,840 <sup>b</sup>	0,587±0,072 <sup>a</sup>
A'	0,931±0,029 <sup>a</sup>	0,682±0,117 <sup>a</sup>	17,905±9,149 <sup>a</sup>	12,399±6,840 <sup>a</sup>	0,559±0,102 <sup>a</sup>
A	0,927±0,018 <sup>a</sup>	0,684±0,062 <sup>a</sup>	26,624±7,087 <sup>b</sup>	18,994±5,298 <sup>b</sup>	0,592±0,065 <sup>a</sup>
E'	0,950±0,029 <sup>a</sup>	0,674±0,212 <sup>a</sup>	18,828±9,149 <sup>a</sup>	12,546±6,840 <sup>a</sup>	0,585±0,018 <sup>a</sup>
E	0,949±0,019 <sup>a</sup>	0,681±0,150 <sup>a</sup>	23,174±7,924 <sup>b</sup>	16,178±6,840 <sup>b</sup>	0,594±0,068 <sup>a</sup>

Diferente letra en la misma columna indica diferencias estadísticas  $p < 0.05$

C': Muestras control sin efecto refrigeración 24 horas.; C: Muestras control con efecto refrigeración 24 horas; A': Muestras inyectadas con agua sin efecto refrigeración 24 horas; A: Muestras inyectadas con agua con efecto refrigeración 24 horas; E': Muestras inyectadas con enzima sin efecto refrigeración 24 horas; E: Muestras inyectadas con enzima con efecto refrigeración 24 horas

## 4.2. Evaluar el efecto del binomio temperatura – tiempo de cocción

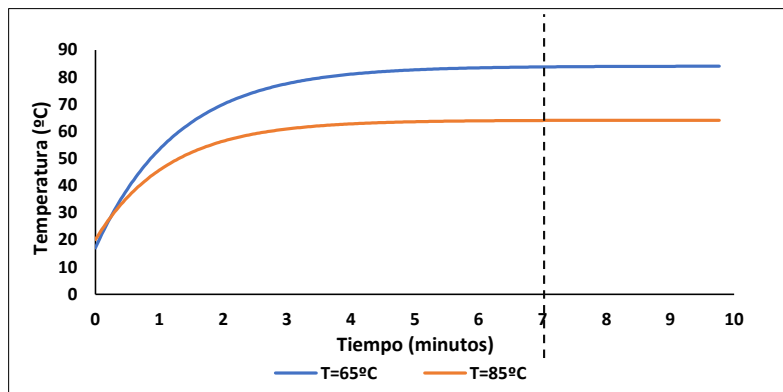
### 4.2.1. CURVAS DE TEMPERATURA

Previo al estudio del efecto binomio temperatura – tiempo de cocción se realizó un estudio de curvas de penetración de calor para conocer la temperatura a la que se encontraban las muestras para cada tiempo de cocción, así como para determinar el tiempo que se necesitaba para alcanzar los 65 y 85°C en la parte más interna de las muestras.

El estudio se realizó para cada una de las muestras del estudio (muestras inyectadas con agua (A), muestras control (C) y muestras tratadas enzimáticamente (E)). Los resultados obtenidos no mostraron diferencias para el efecto tipo de muestra, pero sí para la temperatura de cocción, por lo que todas las muestras de una misma temperatura de cocción fueron modelizadas en su conjunto.

La figura 6 muestra la evolución de la temperatura interna de las muestras a cada tiempo para ambas temperaturas de cocción cuando los datos son modelizados a la ecuación 1, obteniéndose las ecuaciones 3 y 4. Los resultados se ajustaron a una curva asintótica típica en la que se produjo un rápido calentamiento durante los primeros 2.5

minutos, seguido de un crecimiento más leve hasta los 7 minutos, estabilizándose a partir de estos.



**Figura 6.** Evolución de la temperatura interna de las muestras control (C) cocidas a las temperaturas 65 y 85°C

$$y = 44 x (1 - \exp^{-0.870x}) + 20.164 \dots \dots \dots (3)$$

$$y = 67 x (1 - \exp^{-0.780x}) + 17.082 \dots \dots \dots (4)$$

Las condiciones del tratamiento térmico se establecieron teniendo en cuenta la temperatura óptima de la papaína. Existen varios estudios en los que se demuestra que la temperatura óptima del enzima se encuentra dentro del rango de 65 – 80° C, aunque a partir de los 90°C su actividad enzimática decrece debido a la desnaturalización de las proteínas del enzima (Omeje *et al.*, 2014). Autores han señalado que la papaína soluble tiene su máximo de actividad proteolítica alrededor de los 75 °C (Ramírez, 2019) mientras que otros estudios afirman que el rango de temperaturas del enzima se encuentra entre los 50-80°C, siendo entre 65-75°C la temperatura óptima de acción de la papaína (Calkins y Sullivan, 2007).

La cocción influye sobre las características de producto dado que afecta a las propiedades funcionales de las proteínas, lo cual, provoca cambios en las propiedades reológicas de la papa (*Dosidicus gigas*) (Valencia - Pérez *et al.*, 2008). Es por ello que el estudio se realizó a dos temperaturas diferentes dentro del rango de máxima actividad del enzima.

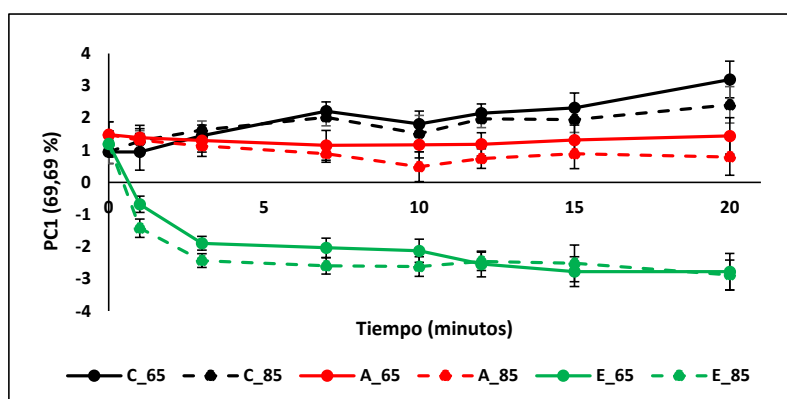
Así, y en base a las ecuaciones, se estableció que a partir de los 7 minutos de cocción se alcanzan ambas temperaturas de cocción (65 y 85 °C).

Tras realizar el ajuste de ambas curvas y determinar que el tiempo necesario para alcanzar las temperaturas de 65 y 85°C era de 7 minutos, se estudió el efecto binomio temperatura-tiempo de cocción con el objetivo de conocer la influencia de dichos factores en los parámetros de textura.

#### 4.2.2. EFECTO DEL BINOMIO TEMPERATURA – TIEMPO DE COCCIÓN

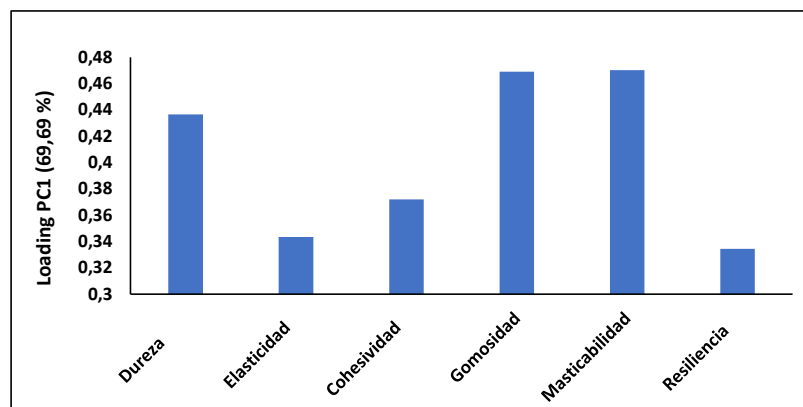
Una vez realizado el ensayo de textura TPA y obtenidos sus respectivos parámetros (dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia) estos fueron analizados mediante un análisis de PCA con la finalidad de reducir la dimensionalidad y comparar las muestras en su conjunto. El resultado del análisis mostró una sola componente principal (PC1) la cual expresó el 69.69% de la varianza total.

La figura 7 muestra la media y el error estándar (en barras) de los valores promedio para cada uno de los tratamientos. Como se observa, para cada grupo de muestras, no se apreciaron diferencias significativas entre 65 y 85°C. Para las muestras control (C) y las muestras inyectadas con agua (A), el comportamiento que siguieron las respectivas curvas a 65 y 85°C es semejante, independientemente del tratamiento térmico, lo que indica que el tratamiento térmico no fue un efecto relevante en dichas muestras. En cambio, las curvas de las muestras con tratamiento enzimático (E) para 65 y 85°C siguieron una tendencia descendiente según el tiempo de cocción fue aumentando.



**Figura 7.** Valores de PC1 para el análisis PCA realizado a los parámetros del análisis de textura TPA.

El estudio del peso de las variables (*loadings*) de la componente principal 1 (PC1) mostró como todos ellos tuvieron una influencia positiva. Tanto la dureza como la gomosidad y la masticabilidad fueron las variables con mayor peso, seguidas por la cohesividad, la elasticidad y, finalmente, la resiliencia (Figura 8). Hay que remarcar que tanto la gomosidad (gomosidad = dureza x cohesividad) como la masticabilidad (elasticidad x dureza x cohesividad) son parámetros que se obtienen en función de la dureza.



**Figura 8.** Peso de las variables (loadings) para el análisis PCA realizado a los parámetros del análisis de textura TPA.

El análisis de dureza (Figura 9A) y, en su caso, el de gomosidad (Figura 9B) y masticabilidad (Figura 9C) mostró un comportamiento similar al observado para el estudio de PCA (Figura 7), en el que la dureza de las muestras inyectadas con papaína (E) disminuyó conforme el tiempo de cocción fue mayor. Sin embargo, se observó un aumento de la dureza tanto en las muestras control (C) y una evolución constante para las muestras inyectadas con agua (A).

La ternura de la carne está muy ligada a la dureza de la carne debido a la interconexión entre los tejidos conectivos y a las miofibrillas que encierran la proteína muscular. Los dos factores que más influyen en la textura del cefalópodo son los tipos de proteína y su estado funcional (Gokoglu *et al.*, 2017).

La dureza del músculo de la pota se debe a los tipos de proteína y al estado funcional en que se encuentren las proteínas (Gokoglu *et al.*, 2017), a la organización estructural del músculo, que difiere a la de los peces y los mamíferos debido a que sus fibras se orientan de forma circular y radial, y se interponen con fibras del tejido conectivo (Torres- Arreola *et al.*, 2017), y por la elevada cantidad de miostromina insoluble (11%) (Jun-hui *et al.*, 2020). Esta proteína que se encuentra en el estroma muscular provoca que la carne de pota (*Dosidicus gigas*) tenga una textura dura y resistente (Hu *et al.*, 2014).

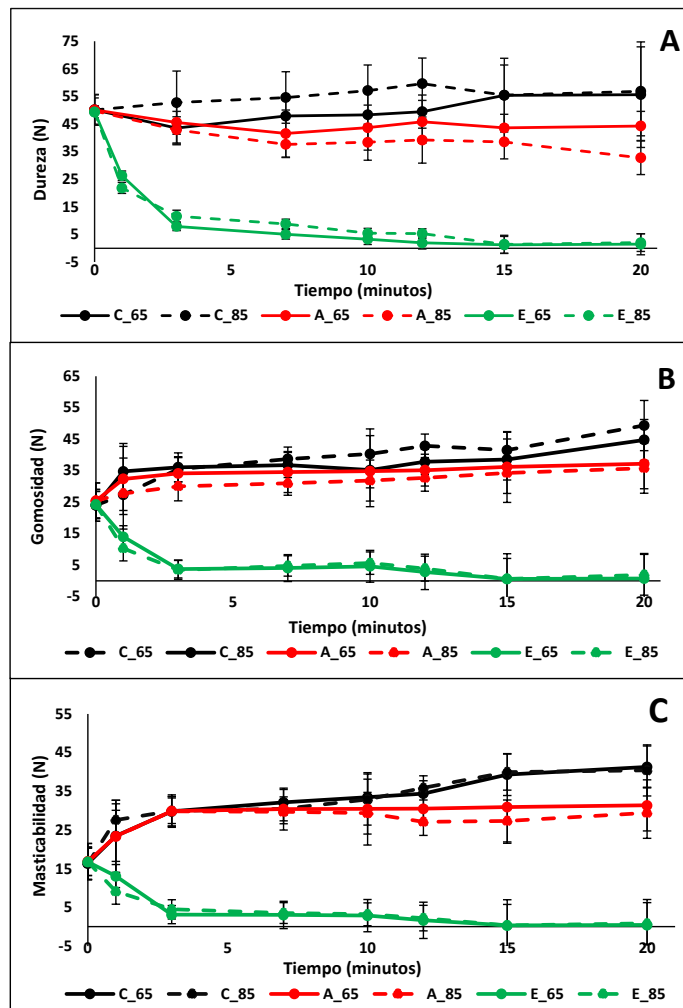
Las muestras que presentaron una mayor dureza fueron las muestras control (C), que fueron haciéndose más duras conforme el tiempo de cocción fue incrementándose, seguidas de las muestras tratadas con agua (A), en las cuales la dureza prácticamente fue constante.

En un estudio realizado Abdel-Naeem, y Mohamed (2016) en carne de camello tratada con papaína, las muestras control fueron las más duras debido a la gran cantidad de tejido conectivo de este tipo de carne. Torres-Arreola (2010) observó que Ando (1997) reportó que aproximadamente el 70% del colágeno del manto de calamar no se solubiliza después de 30 minutos hirviendo, lo que podría indicar que existe un “colágeno termoestable” en el músculo del calamar. La baja solubilidad y el comportamiento de reticulación en las fibras de colágeno se debe a la presencia de piridinolina, la cual tiene la capacidad de reticular hasta tres moléculas de colágeno a través su interacción covalente con residuos de lisina e hidroxilisina, situados en el colágeno (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2018). Torres-Arreola (2010) señaló que la piridinolina influye en la estabilidad térmica del colágeno del manto y, en consecuencia, a la textura del músculo.

En el caso de las muestras inyectadas con el enzima (E), estas disminuyeron su dureza como consecuencia de la fragmentación de las proteínas miofibrilares y la disrupción de los tejidos conectivos (Jun-hui *et al.*, 2020).

Como se puede apreciar, se produjo un descenso muy pronunciado durante los primeros 3 minutos de cocción y luego un descenso más suave hasta los 20 minutos de cocción. Esto podría mostrar que durante estos tres primeros minutos de cocción el enzima encuentra sustrato (proteína) en el que desarrollar su acción y como a partir de este tiempo, la presencia de esta sería mucho menor. En efecto, la hidrólisis enzimática de las proteínas del cefalópodo genera un aumento de la solubilización de los grupos aminos libres e hidroxiprolina, lo cual provoca una pérdida de integridad del músculo y un aumento de la ternura de la carne. Este aumento de la solubilidad podría deberse al aumento de la permeabilidad de las miofibrillas que se desintegran fácilmente, según diversos autores en estudios en carne de búfalo, de gallina y de vacuno (Gokoglu *et al.*, 2017).

En cuanto a la gomosidad y a la masticabilidad (figuras 9B y 9C), se observó un comportamiento muy similar a la dureza dado que, como se ha comentado previamente, la gomosidad (gomosidad = dureza x cohesividad) y la masticabilidad (elasticidad x dureza x cohesividad) son parámetros dependientes de la dureza. Este resultado además también podría reflejar un menor cambio en la elasticidad de las muestras como consecuencia del efecto tiempo – temperatura de cocción y en su caso aplicación del enzima.



**Figura 9.** Media y error estándar (barras) del análisis de dureza (A), gomosidad (B) y masticabilidad (C)

El estudio de los parámetros de elasticidad, cohesividad y resiliencia (figura 10 A, B y C, respectivamente) mostró como para las muestras control (C) e inyectadas con agua (A) no existió efecto significativo tanto del tratamiento térmico como del tiempo. En cambio, las muestras tratadas con enzima sí los presentaron.

En el caso de la elasticidad (figura 10A), se observó que a tiempo 0, los valores para todas las variables fueron semejantes, si bien en la sucesiva toma de muestras se pudo apreciar como en la variable de las muestras con tratamiento enzimático (E), se producía un descenso según avanzaba el tiempo de cocción. Para las muestras control (C) y las muestras inyectadas con agua (A), los valores de ambas variables se mantuvieron estables a lo largo de la experiencia con lo cual no se pudo ver un efecto del tiempo en dichas variables.

En los valores de los parámetros cohesividad (Figura 10B) y resiliencia (Figura 10C) se observó que en los valores de las muestras con tratamiento enzimático se produjo un descenso con valores semejantes para ambas temperaturas indicando que no hubo diferencias estadísticas. En cambio, los valores de control y agua, se mantuvieron constantes en el tiempo si bien las muestras inyectadas con agua (A) tuvieron una cohesividad ligeramente mayor con respecto a las muestras control (C).

En resumen, los resultados del análisis de TPA reflejaron la gran actividad proteolítica del enzima, la cual degradó de tal forma el tejido muscular de la pota (*Dosidicus gigas*), que produjo en parte su desintegración, lo cual quedó reflejado en el descenso de todos los parámetros del análisis, pero también en el tamaño de las muestras (Figura 11).



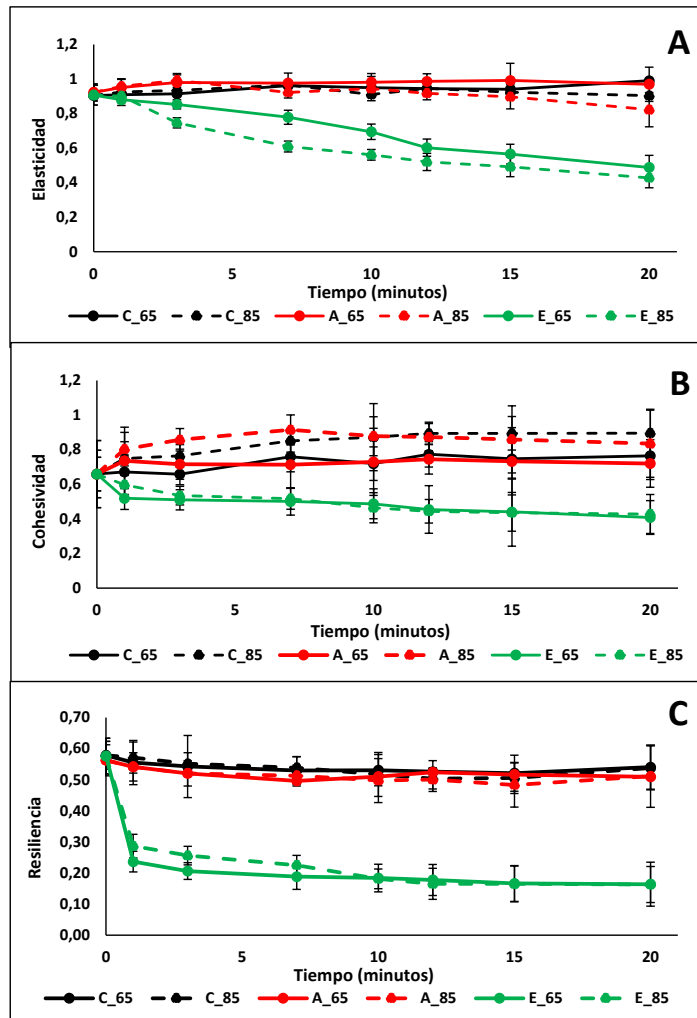


Figura 10. Media y error estándar (barras) del análisis de elasticidad (A), cohesividad (B) y resiliencia (C)

La figura 11 muestra el incremento del área de las muestras para cada uno de los tiempos de toma de muestra a las dos temperaturas de cocción. El área se calculó tras analizar imágenes de las muestras tomadas antes y después de la cocción, así como después de la inyección, en su caso (Figura 12).

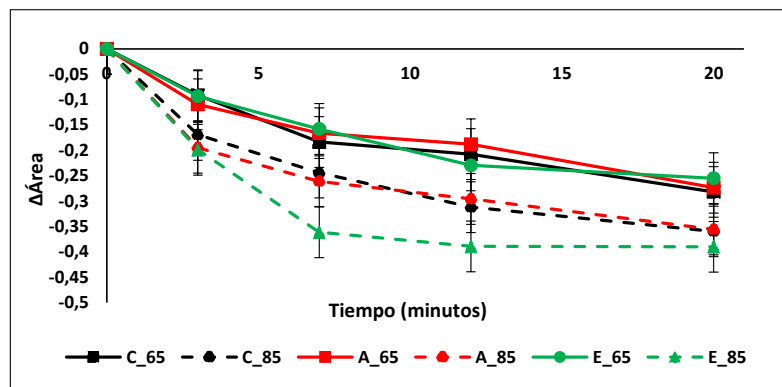


Figura 11. Área de las muestras durante la cocción

Tal y como se observa en la figura 11, se produjo un descenso de los valores de todos los grupos de muestra (C\_65, C\_85, A\_65, A\_85, E\_65 y E\_85) a medida que el tiempo de cocción fue incrementándose, si bien este fue dependiente del tipo de muestras y de la temperatura de cocción. Mientras a 65 °C todas las muestras tuvieron un mismo descenso, no presentándose diferencias significativas entre ellas, a 85 °C sí que existieron diferencias significativas. Además, para todas las muestras, el incremento de área fue más rápido a 85 °C que a 65 °C, alcanzando al final del estudio (20 minutos de cocción) valores estadísticamente similares de incremento de área (contracción de la muestra) para todas las muestras (comportamiento asintótico), si bien la contracción fue ligeramente mayor para las muestras tratadas a 85 °C. Para esta temperatura, las muestras tratadas con el enzima (E\_85) tuvieron una gran contracción durante los primeros 7 minutos, sufriendo a partir de este tiempo un ligero cambio de estabilización. En cambio, para las muestras control (C\_85) e inyectadas con agua (A\_85), la contracción se produjo más pausada hasta el final del tratamiento en el cual las diferencias con las inyectadas fueron nulas.

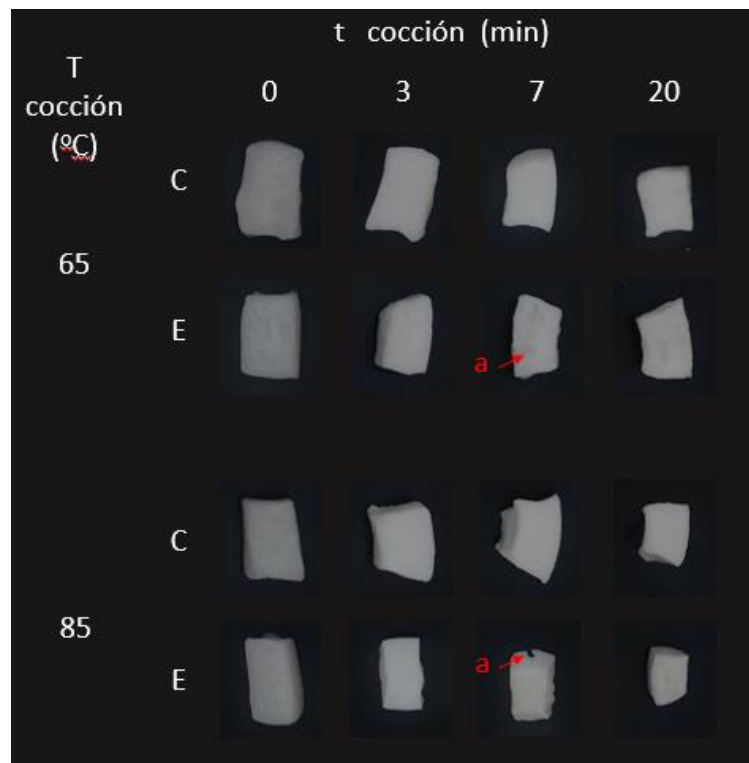
La principal proteína del tejido conectivo del calamar es el colágeno (Raman y Mathew, 2012; Sikorski y Borderias, 1994). Esta proteína contribuye a la variación en la ternura y textura de la carne (Weston *et al.*, 2002). Además, la cantidad de tejido conjuntivo en la carne y su solubilización pueden influir directamente en la ternura del músculo cárnico (The BC Cook Articulation Committee, 2015)

El colágeno tiene una estructura casi cristalina y un módulo elástico muy elevado. (Lepetit, 2008). Sus moléculas se unen mediante enlaces cruzados intermoleculares que ayudan a proporcionar una estructura y resistencia (Weston *et al.*, 2002). La cocción provoca la contracción del tejido conectivo intramuscular que exprime el líquido liberado por las miofibrillas calentadas afectando así a sus propiedades. Cuando el colágeno se calienta a temperaturas de entre 58-65°C, se produce una transición desde su estado cristalino a una estructura amorfa, enrollada al azar, de la molécula de colágeno. Tras finalizar esta transición el comportamiento del colágeno se rige por la teoría de elasticidad tipo caucho o *the theory of rubber-like elasticity* (Lepetit., 2008) que predice que la tensión en un elastómero deformado es proporcional a la temperatura absoluta (Campion *et al.*, 2006). Si la cocción supera los 65 ° C, las fibras y las fibrillas de colágeno, que inicialmente están onduladas, pueden contraerse hasta un cierto grado. Ese tipo de contracción se denomina contracción libre. Posteriormente, si las fibras y las fibrillas de colágeno ejercen una presión sobre las fibras y los haces de las fibras musculares, pueden hacer que haya una mayor contracción. Este tipo de contracción se denomina contracción forzosa. En otro estudio, se observó que a temperaturas de entre 53 y 63°C, se produce la desnaturalización del colágeno que probablemente impliquen primero una ruptura de los enlaces de hidrógeno de la estructura miofibrilar y luego la contracción de la molécula de hidrógeno. Además, Tornberg (2005) observó que las fibras de colágeno a 60-70°C, se contraen una cuarta parte de su longitud de reposo. Con lo cual, el colágeno es muy importante para mantener una textura aceptable, aunque una gran cantidad de enlaces cruzados puede disminuir la ternura y la aceptabilidad del consumidor (Weston *et al.*, 2002).

Esta contracción de las muestras, posiblemente dada por cambios microestructurales que implican la desconexión de las fibras musculares y el colapso de la red de proteínas del tejido conectivo (Ezquerro- Brauer *et al.*, 2018), en el caso de las muestras control e inyectadas con agua, debería haberse transformado en un incremento de la dureza de las muestras, pero en nuestro estudio, este incremento sólo se evidenció, y ligeramente, para las muestras control (C\_65 y C\_85), si bien la

contracción fue evidente como se muestra en la figura 12, en la que se ha representado un montaje de imágenes de muestras control e inyectadas con el enzima a diferentes tiempo de cocción a 65 y a 85 °C. Como se observa, el tamaño de las muestras C y E son similares a 65 °C a lo largo del tiempo, no así a 85 °C, donde las muestras E reducen su tamaño rápidamente.

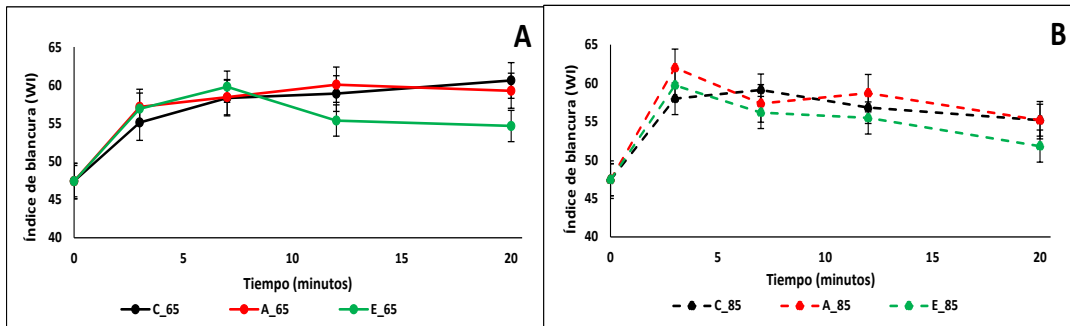
La mayor contracción de las muestras tratadas con el enzima a 85 °C podría deberse a la acción del enzima. Ésta, al ser inyectada en la parte interna, tiene mayor acción en estas zonas, degradando la matriz proteica de forma intensa a partir de entorno los 3, 5 o 7 minutos de cocción (zonas marcadas con la letra a en la figura 12), generando acumulación de aminoácidos libres y péptidos (Istrati, 2008; Abdel-Næem y Mohamed., 2016; Jun-hui *et al.*, 2020). Estos aminoácidos libres y péptidos dejan de aportar estructura a la carne de pota (*Dosidicus gigas*) e incluso pasando al agua durante la cocción y, por tanto, liberando espacio interno de las muestras (flechas con la letra a en las figuras 12 y 19) lo que facilita la contracción mecánica de las muestras, la cual es más acusada a 85 que a 65 °C. A esta última temperatura también se produce dicha liberación de espacio, pero el efecto de contracción no es tan agresivo y, por tanto, no diferenciándose del observado para las muestras control e inyectadas con agua.



**Figura 12.** Evolución de cocción de las muestras control (C\_65, C\_65-3', C\_65-7', C\_65\_20' y C\_85, C\_85-3'; C\_85-7' y C\_85-20') y las muestras inyectadas con enzima (E\_65, E\_65-3', E\_65-7', E\_65\_20' y E\_85, E\_85-3'; E\_85-7' y E\_85-20') a 65 y 85°C para los tiempos 0, 3, 7 y 20 minutos con la degradación del tejido de las muestras (flecha a)

El proceso de cocción también generó cambios de color en las muestras los cuales se muestran en las figuras 13 A y B para la cocción a 65 y 85 °C, respectivamente. En ellas se ha representado el índice de blancura (WI) calculado mediante la ecuación 2 a partir del análisis de imagen realizado a las muestras a cada tiempo de toma de muestra. Como se observa en las figuras 13 A y B, en todas ellas se produjo un incremento de los valores de WI durante los primeros 7 minutos en el caso de las

muestras tratadas a 65 °C y durante los primeros 3 minutos, para las muestras tratadas a 85 °C., no evolucionando a partir de estos tiempos en el caso de las muestras control e inyectadas con agua. En el caso de las muestras inyectadas con enzima se apreció un descenso de los valores del WI. Este fue debido al incremento de píxeles oscuros en las zonas en las que el enzima había trabajado más (zonas más internas y representadas con la letra a en las figuras 12 y 19) y que presentaban oquedades.



**Figura 13.** Índice de blancura de las muestras tratadas a 65°C (A) y a 85°C (B)

Este resultado de color, observado para las muestras inyectadas con el enzima junto con el de variación de área y las dobles texturas que se apreciaban en la muestra (zonas internas más alteradas que las periféricas), hizo que se planteara la necesidad de un estudio en el que se intentase mejorar la difusión interna del enzima. Para ello se planteó la siguiente experiencia.

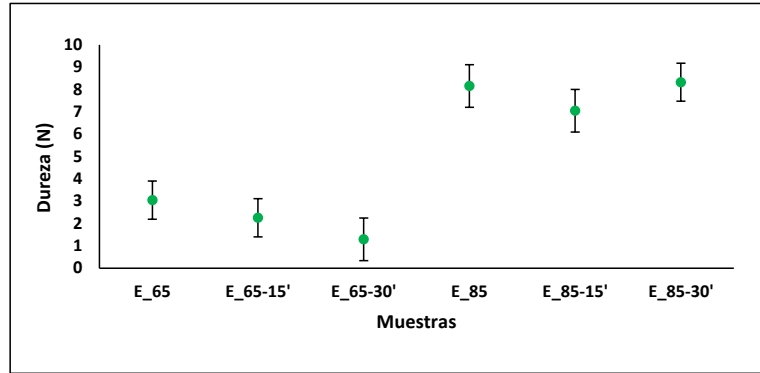
#### 4.2.3. EFECTO DEL MASAJEADO

Al igual que en productos cárnicos como el jamón cocido, en el que se inyecta una salmuera y posteriormente se realiza una etapa de masajeado con la finalidad, entre otras, de favorecer la difusión interna de esta, se planteó realizarla tras la inyección del enzima. Para ello las muestras una vez inyectadas fueron masajeadas durante 0, 15 y 30 minutos y posteriormente, cocidas a 65 o a 85 °C durante 7 minutos (E\_65, E\_85, E\_65-15', E\_65-30', E\_85-15' y E\_85-30'). Se determinó este tiempo de cocción por ser el tiempo en el que se alcanzan las temperaturas de cocción en las zonas internas de las muestras (Figura 6), por ser el tiempo en el que se aprecia la mayor acción del enzima en las zonas de inyección (Figura 12), así como porque a los 7 minutos, todavía no se alcanza la mínima textura (Figura 9). El efecto de masajeado se evaluó a través de los análisis de textura, imagen y, posteriormente, uno sensorial.

Como se observa en la figura 14, en la que se muestran los valores de dureza (N) del análisis de TPA, las muestras tratadas térmicamente a 65°C se hicieron más blandas según el tiempo de masajeado fue incrementándose. En cambio, en las muestras tratadas térmicamente a 85°C, se observó que el efecto del masajeado no afectó a la dureza de las muestras ya que no se apreciaron diferencias significativas en este parámetro.

Autores han señalado que el tiempo de masajeado no afecta la pérdida por cocción, pero, Gokoglu *et al.* (2017) observaron que sí que afecta a la dureza, ya que el aumento del tiempo de masajeado dio lugar a muestras más blandas, algo que en la figura 14 se observa solamente en las muestras con un tratamiento térmico de 65°C.

Además, se analizaron los parámetros de textura y en ellos se observó que el masajeado produjo un descenso en la dureza, la masticabilidad y la gomosidad. Esto se debió a un efecto del masajeado sobre el sarcolema lo que aumentó la ternura del calamar. Así el masajeado podría ser un buen método para disminuir la dureza mediante la relajación de la estructura de las fibras musculares, la destrucción de las conexiones entre las miofibrillas y el colágeno del tejido conectivo, si bien a temperaturas de 65 °C.



**Figura 14.** Media y error estándar (barras) del análisis de dureza del estudio de agitación

En la tabla 3 se recogen los valores del resto de parámetros del análisis de TPA donde las muestras tratadas térmicamente a 65°C fueron iguales entre ellas y diferentes a las muestras con un tratamiento térmico de 85°C, que a la vez fueron iguales entre ellas. En todos los casos los valores obtenidos a 85 °C fueron superiores a los obtenidos a los 65 °C lo que reflejaría el mayor efecto de contracción que genera el uso de temperaturas más elevadas.

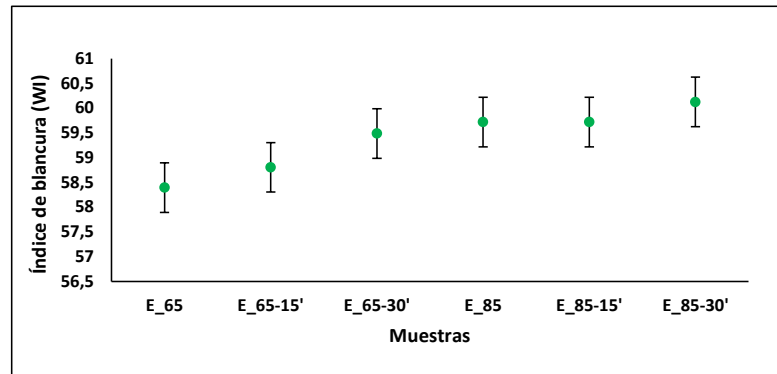
**Tabla 3.** Resto de parámetros de TPA del estudio de agitación

	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)	Resiliencia
<b>E_65</b>	0,474±0,032 <sup>a</sup>	0,378±0,025 <sup>a</sup>	0,981±0,551 <sup>a</sup>	0,427±0,290 <sup>a</sup>	0,149±0,018 <sup>a</sup>
<b>E_65-15'</b>	0,417±0,039 <sup>a</sup>	0,354±0,024 <sup>a</sup>	0,627±0,551 <sup>a</sup>	0,270±0,290 <sup>a</sup>	0,134±0,018 <sup>a</sup>
<b>E_65-30'</b>	0,479±0,045 <sup>a</sup>	0,486±0,025 <sup>b</sup>	0,768±0,551 <sup>a</sup>	0,398±0,290 <sup>a</sup>	0,164±0,019 <sup>a</sup>
<b>E_85</b>	0,682±0,037 <sup>b</sup>	0,538±0,026 <sup>b</sup>	3,757±0,617 <sup>b</sup>	2,262±0,347 <sup>b</sup>	0,270±0,020 <sup>b</sup>
<b>E_85-15'</b>	0,644±0,037 <sup>a</sup>	0,510±0,027 <sup>b</sup>	2,726±0,552 <sup>b</sup>	1,486±0,291 <sup>b</sup>	0,223±0,018 <sup>b</sup>
<b>E_85-30'</b>	0,651±0,039 <sup>b</sup>	0,518±0,025 <sup>b</sup>	3,710±0,552 <sup>b</sup>	1,715±0,325 <sup>b</sup>	0,236±0,018 <sup>b</sup>

El efecto masajeado también tuvo un ligero efecto sobre el índice de blancura (WI) (figura 15). Así, las muestras tratadas a 65 °C fueron incrementando el valor de WI, presentando valores estadísticamente mayores aquellas masajeadas durante 30 minutos con respecto a las no masajeadas. En el caso de las muestras tratadas a 85 °C, las diferencias solo se observaron entre las masajeadas durante 30 minutos y las no masajeadas, pero en este caso las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

El masajeado es un proceso que se utiliza para la disrupción de la estructura muscular, desintegrar la superficie externa de la carne y liberar las proteínas

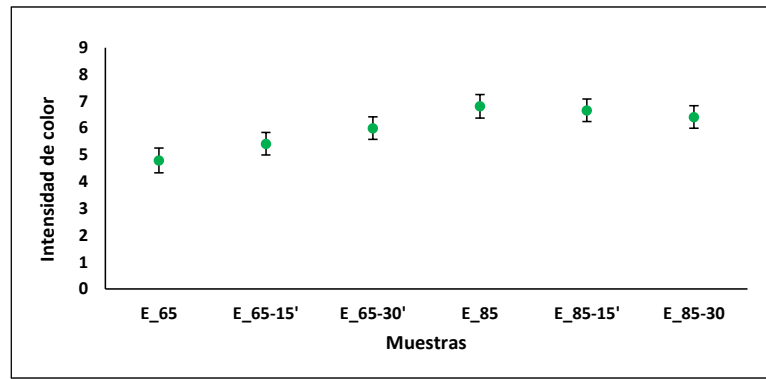
miofibrilares mediante la aplicación de energía mecánica (Gokoglu *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2012). La ruptura de la estructura muscular de la carne mediante la ruptura celular permite una mayor extracción de las proteínas, provocando una solubilización de las proteínas musculares (Bhat *et al.*, 2018). Este exudado proteico durante el tratamiento térmico coagula y gelifica (Rakotondramavo *et al.*, 2018). Autores han señalado que los cambios en la conformación de la proteína durante la transición del exudado a gel inducidos por el calor, da como resultado geles más blancos (Encinas-Arzate *et al.*, 2014; Torres-Arreola *et al.*, 2017).



**Figura 15.** Índice de blancura de las muestras con tratamiento enzimático (E\_65, E\_65-15', E\_65-30', E\_85, E\_85-15' y E\_85-30') tras el efecto agitación

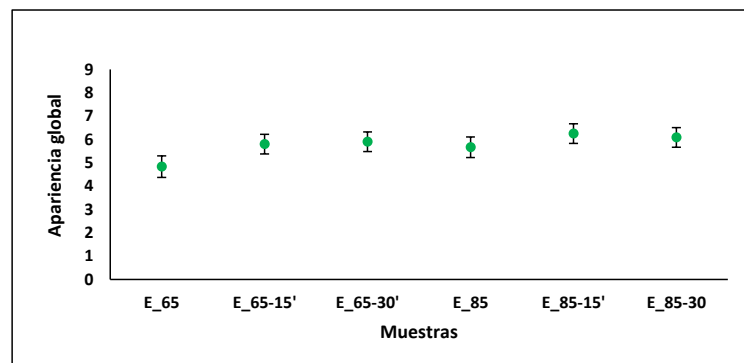
Tras analizar estos resultados, se procedió a realizar un análisis sensorial para evaluar si los catadores apreciaban o no los efectos del masajeado. Primero se realizó un análisis visual, donde evaluaron la intensidad de color y la apariencia global de las muestras, y, por último, un análisis de textura, en el que los catadores evaluaron la dureza de las muestras ejerciendo presión sobre las muestras mediante una espátula.

La prueba de calificación de la intensidad de color (figura 16) mostró que los catadores evidenciaron diferencias en las muestras tratadas a 65 °C con el incremento del tiempo de masajeado, siendo evaluadas las muestras en mayor medida con el incremento de este. En el caso de las muestras tratadas a 85 °C, los catadores no evidenciaron diferencias entre las muestras, siendo todas ellas evaluadas con puntuaciones mayores a las tratadas a 65 °C. Esto fue debido a que las muestras tratadas a 65 °C presentaban un aspecto de pota (*Dosidicus gigas*) poco cocinada (colores más grisáceos y mayores brillos) como se aprecia en la figura 19 en la que se muestran muestras de pota (*Dosidicus gigas*) control y tratadas con el enzima masajeadas durante 0, 15 y 30 minutos y cocinadas a 65 y 85 °C durante 7 minutos (E\_65, E\_65-15', E\_65-30'; E\_85, E\_85-15', E\_85-30')



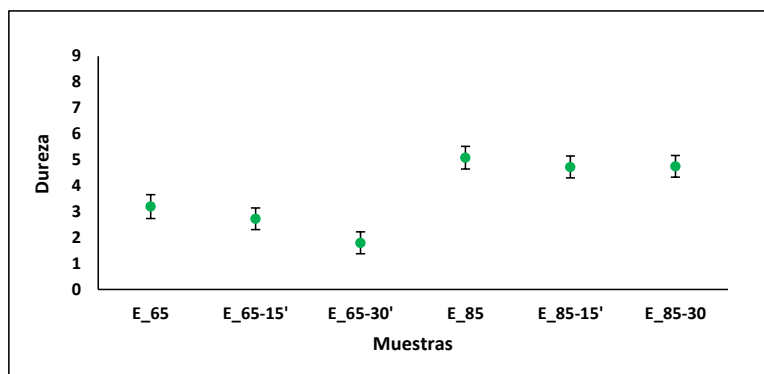
**Figura 16.** Intensidad de color de las muestras con tratamiento enzimático (E\_65, E\_65-15', E\_65-30', E\_85, E\_85-15' y E\_85-30') según los catadores

En cuanto a la apariencia de color (figura 17), los catadores observaron que todas las muestras tenían una apariencia similar ya que las muestras tuvieron una puntuación semejante. La puntuación máxima no rebasó de 6, tal vez porque los catadores continuaron observando que las muestras presentaban una degradación de la textura por el efecto de la papaína, tal y como se observa en la figura 19 en la que se ha marcado mediante una flecha y la letra a la zona donde el enzima ha tenido más acción y se ha producido una pérdida de masa durante la cocción.



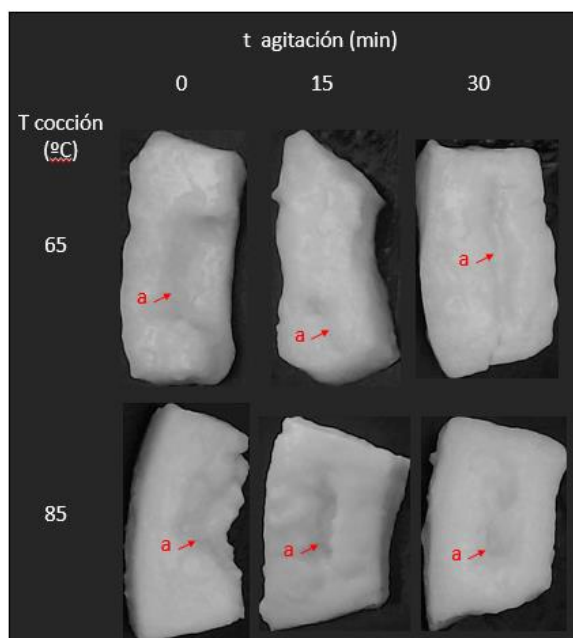
**Figura 17.** Apariencia global de las muestras (E\_65, E\_65-15', E\_65-30', E\_85, E\_85-15' y E\_85-30') según los catadores

Los resultados del análisis de textura mostrados por los catadores (Figura 18) apreciaron un efecto del masajeado para las muestras tratadas a 65 °C, disminuyendo la dureza con el incremento del tiempo de masajeado. En el caso de las muestras tratadas a 85 °C, no evidenciaron diferencias en función del tiempo de masajeado, siendo todas estas muestras puntuadas como más duras con respecto a las tratadas a 65 °C. Este efecto podría deberse a que el efecto de contracción muscular como consecuencia de la mayor temperatura de cocción sería mayor que el efecto de incremento de blandura que puede ejercer el masajeado.



**Figura 18.** Dureza de las muestras (E\_65, E\_65-15', E\_65-30', E\_85, E\_85-15' y E\_85-30') según los catadores

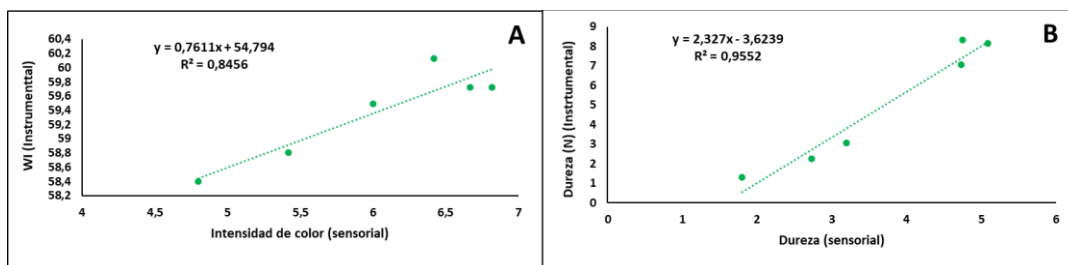
Así, si con el masajeado se pretendía favorecer la mayor difusión del enzima en las muestras, con la finalidad de minimizar el efecto de la localización del enzima que genera una mayor degradación de la muestra en su parte interna, ésta no se obtuvo. Como se aprecia en la figura 19, todas las muestras presentaron una mayor degradación interna, independientemente del tiempo de masajeado.



**Figura 19.** Muestras con inyección del enzima, agitadas durante 15 y 30 minutos y cocidas durante 7 minutos (E\_65, E\_65-15', E\_65-30'; E\_85, E\_85-15'; E\_85-30')

Lo que si evidenció esta parte del estudio fue la relación existente entre los datos obtenidos instrumentalmente y los generados por los catadores. En la figura 20 A y B se muestra la relación existente entre los datos de color y de dureza respectivamente generados instrumentalmente y por los catadores. En ambos casos la relación presentó una buena linealidad, siendo esta ligeramente mejor en la expresión de la dureza.





**Figura 20. A:** Relación entre el índice de blancura y la intensidad de color (Cata) y el índice de blancura. **B:** Relación de la dureza del análisis de TPA y la generada por los catadores.

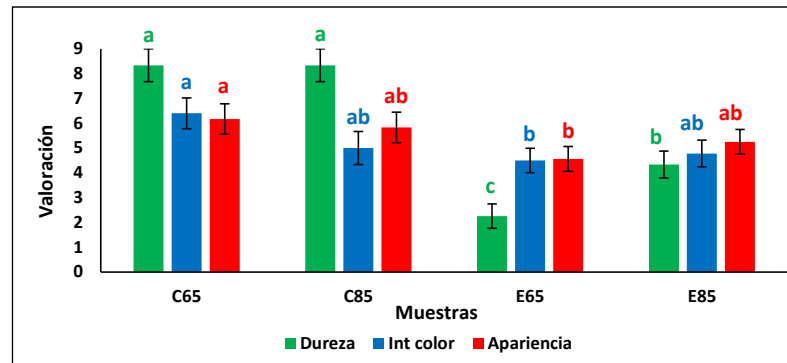
#### 4.2.4. CATA FINAL

Una vez evidenciado el nulo efecto del masajeado sobre las muestras se procedió a realizar una cata final sobre las muestras que presentaron una textura más blanda, que fueron aquellas inyectadas con el enzima y tratadas a 65 o a 85 °C durante unos 15 minutos (figura 9 A), independientemente de la presencia de la zona interna más alterada. Además, los catadores también evaluaron las muestras control. Este último estudio se realizó dado que lo que se pretende en el proyecto es obtener alimentos sólidos lo más blandos posibles, pero que mantengan su integridad. Hay que remarcar que para esta cata final si bien la textura se evaluó de forma similar (mediante presión con espátula) (Figura 4 A), la cata visual se realizó con las muestras sumergidas en un caldo, es decir como si fuese un plato que el consumidor va a degustar (Figura 4 B).

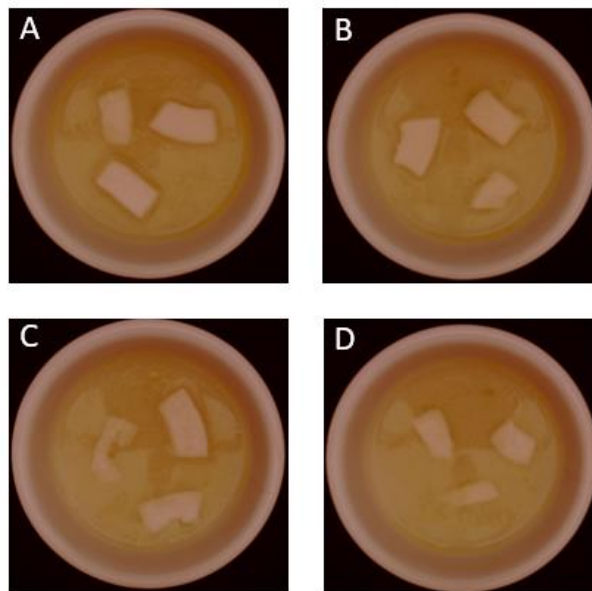
En la figura 21 se muestran los resultados de la dureza, intensidad de color y apariencia global, mientras que en la figura 22 se muestran los cuatro platos que visualizaron los catadores. Como se observa en la figura 21, las muestras con un valor más elevado de dureza fueron las muestras control (C\_65 y C\_85) e iguales entre ellas. En cambio, las muestras con inyección de la papaína tuvieron menores valores de dureza, siendo la muestra con enzima y cocida a 65°C (E\_65) más blanda y la muestra inyectada con enzima y cocida a 85°C (E\_85) más dura, aunque ambas siempre menos duras que las muestras control (C\_65 y C\_85).

Los catadores observaron que la muestra con mayor intensidad fue la muestra control tratada térmicamente a 65°C (C\_65) y el resto de las muestras (C\_85, E\_65 y E\_85) tuvieron la misma intensidad de color entre ellas si bien la más diferente de todas fue la muestra con enzima a 65°C (E\_65), que fue la que menor puntuación obtuvo.

Por último, los catadores evaluaron la apariencia global de las muestras y se observó un resultado semejante al obtenido en la intensidad de color si bien las diferencias no fueron tan evidentes, si bien la muestra con un tratamiento enzimático a 65°C (E\_65) fue la muestra con una puntuación menor.



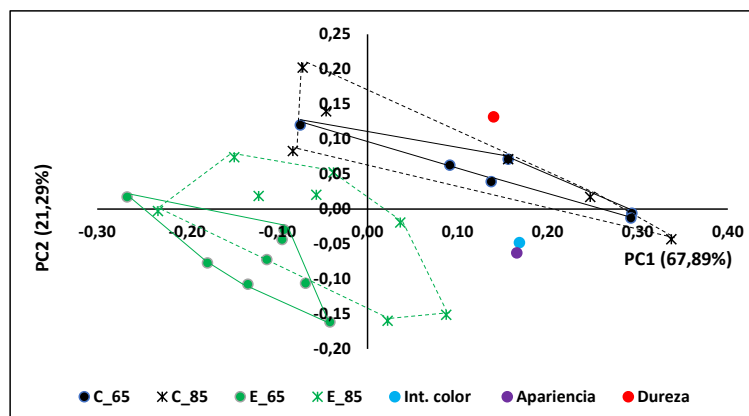
**Figura 21.** Valoración de la dureza, la intensidad de blancura y la apariencia global para las muestras control (C\_65 y C\_85) y para las muestras inyectadas con enzima (E\_65 y E\_85) sin efecto agitación



**Figura 22.** Imágenes de los platos con las muestras control a 65 (A) y 85°C (B) (C\_65 y C\_85), y de las muestras con inyección de papaína sin agitación a 65 (C) y 85°C (D) (E\_65 y E\_85)

Con la finalidad de expresar de forma más visual estos resultados, se realizó un análisis de componentes principales (PCA). En la figura 23, se muestra el resultado del análisis en un gráfico *biplot*, en el que se ha representado en el eje X la componente 1 (PC1) y el eje Y la componente 2 (PC2) tanto de los *scores* (muestras) como de los *loadings* (variables). Como se observa todas las variables tuvieron peso sobre la PC1 (intensidad de color, apariencia y dureza), mientras que dureza fue la influyente sobre la PC2. Así las muestras quedaron agrupadas aleatoriamente en base una mayor dureza cuanto más situadas al cuadrante X e Y positivo y con mayor intensidad de color cuanto más situadas hacia los cuadrantes X positivo.

En base a este resultado los catadores no pudieron diferenciar las muestras control en función de la temperatura de cocción, clasificándolas como las más duras y con mayor intensidad de color. Tras estas, evaluaron las muestras tratadas con el enzima y cocinadas a 85 °C y finalmente, aunque con poca diferencia con las anteriores, las cocinadas a 65 °C, las cuales fueron evaluadas como las más blandas y con menor intensidad de color y apariencia.



**Figura 23.** Valores de PC1 y PC2 para el análisis PCA realizado para los parámetros de los análisis de textura y sensorial

En base a este resultado, para utilizar las muestras más blandas (E\_65) se tendría que sacrificar parcialmente el color y la apariencia de las muestras, aunque en ningún caso las muestras fueron evaluadas por debajo del valor del 50% (figura 21), o bien se podrían utilizar muestras ligeramente más duras (E\_85) en el que la intensidad de color y la apariencia son mejores.

## 5. CONCLUSIONES

La realización de este estudio ha permitido obtener carne de cefalópodo (*Dosidicus gigas*) texturalmente modificada mediante su tenderización con papaína, además de conocer cómo influye la temperatura de refrigeración, el efecto del binomio tiempo – temperatura de cocción y la aplicación de un masajeado previo a la cocción en la actividad del enzima

El pretratamiento con enzima en la carne de pota (*Dosidicus gigas*) durante 24 horas, previo a su cocción, con la finalidad de reblandecer esta, se ha mostrado como un método ineficaz dado que ha de realizarse a temperaturas de refrigeración a las cuales el enzima se ha mostrado inactivo. En cambio, la actividad del enzima durante la etapa de cocción es la suficiente como para reblandecer la pota hasta tal punto que llega a perder su integridad, siendo el binomio tiempo – temperatura influyente. Así, independientemente de la temperatura, se establecen los 15 minutos como el tiempo necesario para alcanzar la mínima textura, siendo la temperatura influye en el aspecto final de las muestras. En este sentido, la pota que es tratada a temperatura más elevada (85 °C) presenta un menor tamaño que la cocida a 65 °C como consecuencia de la pérdida de proteína que se produce en las zonas de inyección (zonas internas) que facilita la retracción de las fibras musculares más periféricas, la cual se da con mayor intensidad a mayor temperatura. Es por ello que la inyección del enzima ha de realizarse de forma muy homogénea dado que la difusión de esta por el interior de la pota es nula, no viéndose favorecida por un proceso de masajeado previo a la cocción.

Finalmente, si bien las muestras tratadas con el enzima y cocinadas a 65 °C durante 15 minutos han sido las más blandas según los catadores, estos establecieron las cocinadas a 85 °C como las más parecidas a las muestras control. Es por ello que, si en el caso de que ambas cocciones generaran pota con el mismo sabor y aroma,

sería el uso de esta el que marcaría la mejor cocción. Si se pretende la más blanda, para hacer frente a problemas de deglución, el cocinado a 65 °C sería la opción. En cambio, si el consumidor no presenta tales problemas, sería la cocinada a 85 °C dicha opción.

Nuevos estudios son necesarios con la finalidad de minimizar zonas con diferente grado de acción enzimática que genera heterogeneidades en la textura y, por tanto, productos con dobles texturas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- ABDEL-NAEEM, H. H., AND MOHAMED, H. M. (2016). Improving the physicochemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. *Meat science*, 118, 52-60.
- AGUILERA, J.M. & JUNE PARK, D. (2016). Texture-modified foods for the elderly: status, technology and opportunities. *Trends in Food Science and Technology*, 57 (Parte A), 256-164
- ALEGRE, A., MÉNARD, F., TAFUR., R., ESPINOZA, P., ARGÜELLES, J., MAEHARA, V., FLORES, O., SIMIER, M., BERTTRAND, A. (2014). Comprehensive model of Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*). Trophic ecology in the Northern Humboldt Current System. *PLoS ONE*, 9(1): e85919
- AMRI, E. & MAMBOYA, F. (2012). Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(2), 99-104 (Consultado el 2 de junio de 2021)
- ANDERSEN, U.T., BECK, A, M., KJAERGAARD, A., HANSEN, T., POULSEN, I. (2013). Systematic review and evidence based recommendations on texture modified foods and thickened fluids for adults ( $\geq 18$  years) with oropharyngeal dysphagia. *e-SPEN Journal*, 8(4), 127-134
- ARSHAD, M.S., KWON, J.H., IMRAN, M., SOHAIB, M., ASLAM, A., NAWAZ, I., AMJAD, Z., KHAN, U., JAVED, M. (2016). Plant and bacterial proteases: a key towards improving meat tenderization, a mini review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1)
- ASTRUC, T. (2014). Connective tissue: structure, function and influence on meat quality. *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, 321-328
- BABU, K.M. (2019). *The Textile Institute Book Series*, 109-128
- BARBERA, S. & TASSONE, S. (2006). Meat cooking shrinkage: measurement of a new quality parameter. *Meat Science*, 73(3), 467-474
- BHAT, Z.F., MORTON, J.D., MASON, S.L., BEKHIT, A.E.A. (2018). Applied and emerging methods for meat tenderization: a comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 841-859
- BUSTABAD, O.M. (1999). Weight loss during freezing and the storage of frozen meat. *Journal of Food Engineering*, 41(1), 1-11

- CALKINS, C.R & SULLIVAN, G. (2007). Adding enzymes to improve beef tenderness. *Beef Facts Product Enhancement, National Cattelman's Beef Association. Centennial Colorado: Cattelman's Beef Board*
- CALVO, M.C., CARRANCO, M.E., SALINAS, C.A., CARRILLO., S. (2016). Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 66(1), 74-81
- CICHERO, J.A.Y. (2015). *Modifying Food Texture. Volume 2: Sensory analysis, consumer requirements and preferences*. Ed. Woodhead Publishing. Cambridge. 135-162 pp. ISBN: 978-1-78242-334-8
- COLLIGNAN, A. & MONTET, D. (1998). Tenderizing squid mantle by marination at different pH and temperature levels. *LWT- Food Science and Technology*, 31(7-8), 673-679
- ENCINAS-ARZATE, J.J., EZQUERRA-BRAUER, J.M., OCAÑO-HIGUERA, V.M., RAMIREZ-WONG, B., ARMENTA-VILLEGAS, L., TORRES-ARREOLA, W., MARQUEZ-RIOS, E. (2014). Effect of ionic strength on soluble protein removal from giant squid mantle (*Dosidicus gigas*) and functional evaluation of protein recovery. *Food Science Biotechnology*, 23(2), 401-407.,
- EZQUERRA-BRAUER, J.M., MÁRQUEZ-RÍOS, E., LÓPEZ-CORONA, B.E., OCAÑA-HIGUERA, V.M., RAMÍREZ-GUERRA, H.E., COTA-ARRIOLA, O., TORRES-ARREOLA, W. (2018). Physicochemical changes of pepsin-solubilized and insoluble collagen in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) muscle after cooking process. *International Journal of Food Properties* 21(1), 821-834
- GOKOGLU, M., KADIR TOPUZ, O., GOKOGLU, M., GOKHUN TOKAY, F. (2017). Characterization of protein functionality and texture of tumbled squid, octopus and cuttlefish muscles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 1699-1705
- GOKOGLU, N., YERLIKAYA, P., UEAK, I., YATMAZ, H.A. (2017). Effect of bromelain and papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1)
- HU, Y., YU, H., DONG, K., YANG, S., YE, X., CHEN, S. (2014). Analysis of tenderisation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) meat by ultrasonic treatment using response surface methodology. *Food Chemistry* 160, 219-225
- INTERNATIONAL DYSPHAGIA DIET STANDARIZATION INITATIVE (IDDSI) 2016. Complete IDDSI Framework. Detailed definitions (Consultado el 9 de junio). En: [www.iddsi.org](http://www.iddsi.org)
- ISTRATI, D. (2008). The influence of enzymatic tenderization with papain on functional properties of adult beef. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 14, 140-146
- JAADI, Z. (1 de abril de 2021). *A step-by-step explanation of principal component analysis (PCA)*. Bultin. (Consultado el 2 de mayo de 2021). En: <https://bultin.com/data-science/step-step-explanation-principal-component-analysis>
- JANZ, J.A.M., PIETRASIK, Z., AALHUS, J.L., SHAND, P.J. (2005). The effects of enzyme and phosphate injections on the quality of beef semitendinosus. *Canadian journal of animal science*, 85(3), 327-334

- JOLLIFE, I.T. & CADIMA, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions Royal Society A*, 374, 20150202
- JUN-HUI, X., HUI-JUAN, C., BIN, Z., HUI, Y. (2020). The mechanistic effect of bromelain and papain on tenderization in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Food Research International*. 131, 108991
- KHAN, A., CARMONA, R., TRAUBE, M. (2014). Dysphagia in the elderly. *Clinics in geriatric medicine*, 30(1), 43-53
- KIM, S., CHOI, J., CHOI, Y., KIM, H., AHN, K., KIM, T., SONG, D., KIM, C. (2012). Effects of low-temperature tumbling on the quality characteristics of restructured chicken breast ham. *Korean Journal Food Science of Animal Resources*, 32(3), 268-273
- KOÇ, H., VINYARD, C.J., ESSICK, G.K., FOEGEDING, E.A. (2013). Food oral processing: conversion of food structure to textural perception. *Annual review of food science and technology*, 4, 237-266
- KUGINO, M. & KUGINO, J. (1994). Microstructural and rheological properties of cooked squid mantle. *Journal of Food Science*, 59(4), 792-796
- LEPETIT, J., (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960-967
- MONTOYA-LÓPEZ, J., GIRALDO-GIRALDO, G.A., LUCAS-AGUIRRE, J. C. (2012). Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Vitae*, 14(1), 415-416
- MORGAN., G.J., CAMPION, R.P., DERHAM, C.J. (2006). Stress – Induced Phenomena in Elastomers, and their Influence on Design and Performance of O-Rings en: Elastomers. Ed. Woodhead Publishing. Cambridge. 153-164. ISBN: 978-1-84569-100-4
- NACIONES UNIDAS (2015). World Population Prospects. Volume II: Demographic Profiles. 2015 Revision. New York. Nº ESA/P/WP. 241
- OMEJE, K, O., EZE, S.O.O., OZOUGWU, V. E. O., UBANI, C.S., OSAYI, E., ONYEKE, C.C., CHILAKA, F.C. (2014). Application of Papain from Paw Paw (*Carica papaya*) latex in the Hydrolysis of Tiger Nut (*C. esculentus*) Proteins. *Mitteilungen Klosterneuburg* 64
- RAKOTONDRAMAVO, A., RABESONA, H., BROU, C., DE LAMBALLERIE, M., POTTIER, L. (2018). Ham processing: effects of tumbling, cooking and high pressure on proteins. *European Food Research and Technology*, 245, 273-284
- RAMAN, M. & MATHEW, S. (2012). Study of chemical properties and evaluation of collagen in mantle, epidermal connective tissue and tentacle of Indian Squid, *Loligo duvauceli* Orbigny. *Journal Food Science and Technology* 51(8), 1509-1516
- RAMÍREZ, F. (2019). La papaína y su potencial como producto de valor agregado en Costa Rica. University of Chemistry and Technology, Prague. 16 pp.
- SAKAMOTO, K., SHIBATA, K., ISHIHARA, M. (2006). Decreased hardness of dietary fiber-rich foods by the enzyme-infusion method. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 70(7), 1564-1570.

- SIKORSKI, Z.E & BORDERIAS, J.A. (1994). Collagen in the Muscles and Skin of Marine Animals en: Seafood Protein. Ed: Seafood Proteins. New York, NY.58-70 pp. ISBN: 978-1-4615-7830
- TERAMOTO, S., FUKUCHI, Y., SASAKI, H., SATO, K., SEKIZAWA, K., MATSUSE, T. (2008). High incidence of aspiration pneumonia in community – and hospital – acquired pneumonia in hospitalized patients: a multicenter, prospective study in Japan. *Journal of the American Geriatrics Society*, 56(3), 577-579
- THE BC COOK ARTICULATION COMMITTEE (2015). Composition of meat en: *Meat Science and Nutrition* (Consultado el 26 de mayo de 2021). En: <https://opentextbc.ca/meatcutting/chapter/composition-of-meat/>
- TORNBERG, E. (2005). Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 493-508
- TORRES-ARREOLA, W., OCAÑO – HIGUERA, V.M., EZQUERRA-BRAUER, J.M., LÓPEZ-CORONA, B.E., RODRÍGUEZ-FÉLIX, F., CASTRO-LONGORIA, R., RAMÍREZ-GUERRA, H.E, (2017). Effect of cooking on physicochemical and structural properties of Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), (e13528)
- TORRES-ARROLA, W. (2010). Caracterización bioquímica y cinética de lisil oxidasa de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y su relación con el colágeno presente. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.* (Consultado el 13 de mayo de 2021).
- UENG, Y & CHOW, C. (1998). Textural and Histological Changes of Different Squid Mantle Muscle during Frozen Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11)
- UNE-ISO 4121 (2006), Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas.
- VALENCIA-PÉREZ, A.Z., GARCÍA-MORALES, M.H CÁRDENAS-LÓPEZ, J.L., HERRERA-URBINA, J.R., ROUZAUD-SÁNDEZ., O., EZQUERRA-BRAUER, J.M. (2008). Effect of thermal process on connective tissue from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle. *Food Chemistry*, 107(4), 1371-1378
- WESTON, A.R., ROGERS, R.W., ALTHEN, T.G. (2002). Review: the role of collagen in meat tenderness. *The Professional Animal Scientist*, 18(2), 107-111
- ZHU, W., LI, Y., BU, Y., LI, J., LI, X. (2020). Effects of nanowarming on water holding capacity, oxidation and protein conformation changes in Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) mantles. *LWT- Food Science and Technology*, 129, 109511