



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

Trabajo Final de Máster interuniversitario en acuicultura 2018/20

# Ablandamiento de carne de cefalópodo (*Todarodes sagittatus*) mediante papaína. Efecto del tratamiento de cocción

Joshua Andoni Godoy Astelarra

Tutores: Dr. Raúl Grau Melo

Dr. Pau Talens Oliag

Tutor experimental: Dr. Samuel Verdú Amat

Grado: Máster en Acuicultura

## Listado de abreviaturas

A	Muestras tratadas con agua.
ANOVA	Analysis of Variance.
Asn	Asparagina.
C	Grupo control.
Cys	Cisteina.
Gln	Glutamina.
H	Muestras tratadas al horno.
His	Histidina.
IA	Muestras para ser inyectadas con agua.
IE	Muestras para ser inyectadas con solución enzimática.
IEO	Instituto Español de Oceanografía.
IIM	Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo.
NaCl	Cloruro de sodio.
Phe	Fenilalanina.
TMAO	Óxido de trimetilamina.
TPA	Texture Profile Analysis.
Trp	Triptófano.
Tyr	Tirosina.
V	Muestras tratadas al vapor.
WAFMRL	Laboratorios de Pesca e Investigación Marina de Australia Occidental.

## **Resumen**

En la última década del presente siglo, se ha apreciado un aumento significativo del valor comercial de los cefalópodos, en especial en el mercado Mediterráneo. Dada su importancia económica en el consumo de productos pesqueros, ha aumentado la relevancia que puede desempeñar la acuicultura de estos organismos marinos, en satisfacer dicha demanda. Por esta razón, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica con el fin de comprender aspectos que destaquen la cría y producción de cefalópodos.

Por otra parte, los productos basados en carne de cefalópodos presentan un buen perfil proteico, de vitaminas y de ácidos grasos insaturados, por lo que son relevantes al proporcionar un contenido nutricional balanceado. Sin embargo, la estructura de su carne afecta las propiedades de la textura, particularmente la dureza. De esta manera, con el objetivo de favorecer la ternura de la carne se procedió a realizar un caso práctico en el que se empleó diferentes métodos de cocción acompañados de la utilización de la papaína, una proteasa de origen vegetal.

El ensayo experimental se basó en realizar la preparación de las muestras, seguido de la aplicación del tratamiento enzimático y de los diferentes tratamientos térmicos. Previamente a ello, se diseñaron curvas de penetración de calor para definir el tiempo de tratamiento térmico requerido para que las muestras alcanzaran una temperatura específica. Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de textura por medio de la utilización de un texturómetro. Finalmente, los datos aportados por dicho instrumento fueron examinados a través de un análisis estadístico, que consistió en determinar la varianza a través de la realización de un Anova multifactorial.

Los resultados demuestran que la aplicación de la enzima produce una reducción apreciable de la textura de la carne, especialmente una disminución de la dureza, llegando a ser dicho efecto más perceptible cuando se emplea el método de cocción por horno. Por lo tanto, se puede llegar a la conclusión de que una mejora de la aceptabilidad del producto de cefalópodos al consumidor puede obtenerse si se logra alcanzar un aumento de la ternura de la carne del producto cuando es sometido a un tratamiento térmico acompañado con métodos alternativos, como lo es la utilización de proteasas.

Palabras claves: cefalópodos, dureza, métodos de cocción, papaína, textura.

## **Abstract**

During the last decade of this century, a significant increase in the commercial value of cephalopods has been observed, especially in the Mediterranean market. Given their economic importance in the consumption of fish products, the importance that aquaculture of these marine organisms can play in satisfying this demand has increased. For this reason, a literature review has been carried out to understand aspects that highlight cephalopod breeding and production.

On the other hand, products based on cephalopod meat have a good profile of protein, vitamins, and unsaturated fatty acids, so they are relevant in providing a balanced nutritional content. However, the structure of their meat affects texture properties, particularly hardness. Thus, to promote the tenderness of the meat, a practical case was made in which different cooking methods were used, accompanied by the use of papain, a protease of vegetable origin.

The experimental trial was based on the preparation of the samples, followed by the application of the enzymatic treatment and the different thermal treatments. Previously, heat penetration curves were designed to define the time of thermal treatment required for the samples to reach a specific temperature. Subsequently, texture analysis was carried out using a texturometer. Finally, the data provided by this instrument were examined through a statistical analysis, which consisted in determining the variance through the realization of a multifactorial Anova.

The results show that the application of the enzyme produces an appreciable reduction in the texture of the meat, especially a decrease in its hardness, and this effect becomes more perceptible when the oven cooking method is used. Therefore, it can be concluded that an improvement in the acceptability of the cephalopod product to the consumer can be obtained if an increase in the tenderness of the product's meat is achieved when it is subjected to a heat treatment accompanied by alternative methods, such as the use of proteases.

Keywords: cephalopods, hardness, cooking methods, papain, texture.

## Índice

<b>1.Introducción</b> .....	1
<b>2.Objetivo</b> .....	1
<b>3. Marco teórico</b> .....	1
3.1 Acuicultura de cefalópodos.....	1
3.1.1 Limitaciones de la acuicultura de cefalópodos .....	2
3.1.2 La producción acuícola de pulpo común.....	4
3.2 Estructura muscular y composición del cefalópodo.....	5
3.3 Transformación de cefalópodos .....	7
3.3.1 Tenderización de la carne.....	8
<b>4. Caso práctico: Estudio preliminar de la aplicación de la enzima papaína para el ablandamiento de carne de cefalópodo (<i>Todarodes sagittatus</i>). Efecto del tratamiento de cocción</b> .....	9
4.1 Objetivo.....	9
4.2 Materiales y métodos .....	9
4.2.1 Materia prima .....	9
4.2.2 Procesado de las muestras.....	10
4.2.3 Análisis de textura.....	10
4.2.4 Análisis estadístico.....	10
4.3 Resultados .....	11
4.3.1 Determinación de curvas de calor .....	11
4.3.2 Análisis estadístico de los parámetros de textura.....	11
4.3.3 Análisis de las variables de textura .....	12
4.3.3.1 Dureza .....	12
4.3.3.2 Cohesividad y elasticidad.....	13
4.3.3.3 Gomosidad y masticabilidad .....	15
4.3.3.4 Resiliencia .....	16
4.4 Discusión.....	17
4.4.1 Parámetros de textura según el tipo de muestra .....	17
4.4.2 Parámetros de textura según el método de cocción.....	18
4.5 Conclusión de caso práctico .....	19
<b>5. Conclusión general</b> .....	19
<b>6. Agradecimientos</b> .....	19
<b>7. Bibliografía</b> .....	19

## **1. Introducción**

En el presente trabajo de fin de máster se ha llevado a cabo un estudio de precedente basado en la comprensión de los avances de la acuicultura aplicados a la producción y/ o cría de cefalópodos, acompañado de un caso práctico con la finalidad de evaluar la capacidad de una proteasa de origen vegetal y el efecto de métodos de cocción para aumentar la ternura de la carne de la pota europea (*Todarodes sagittatus*).

## **2. Objetivo**

Realizar una evaluación del entorno a la acuicultura aplicada al desarrollo de cefalópodos, con el fin de aplicarles técnicas de reblandecimiento de tejido de origen animal mediante el empleo de una enzima de origen vegetal, para conseguir productos de textura modificada de cefalópodos.

## **3. Marco teórico**

### **3.1. Acuicultura de cefalópodos.**

Actualmente, la mejora de la cría de cefalópodos ha captado un gran interés inicialmente en el área de la investigación biomédica, en la que se ha estudiado aspectos como el sistema nervioso, el sistema visual y otros órganos como objeto de experimentación (Vidal et al., 2014). De este modo, se ha incentivado en mejorar los conocimientos de los cefalópodos en distintas áreas de la biología, fisiología, inmunología, comportamiento y ciclo de vida. Por otra parte, también, se ha promovido un incremento en la cría de cefalópodos, particularmente el pulpo y la sepia, en la industria mundial ornamental, así como un aumento en la producción acuícola comercial de estos organismos marinos.

Existe un interés en hallar nuevas especies que puedan ser producidas en acuicultura. Por ello, con el objetivo de ampliar la gama de productos acuícolas se ha propuesto seleccionar especies que tengan un gran consumo y alto valor comercial. En este momento, ya se han desarrollado técnicas de cría que han sido esenciales para la producción de especies de cefalópodos específicas (Vidal et al., 2014).

Actualmente, se ha podido observar que los cefalópodos han tenido un incremento de su valor comercial, y un crecimiento acelerado en el comercio. Por esta razón, ha resultado de mayor interés desarrollar la acuicultura de estos organismos marinos, sobre todo por su importancia en los mercados del Mediterráneo (Pierce et al., 2010). Para ello, se han de considerar tanto criterios que conciernen a la biología, como aspectos de carácter económico, para determinar su potencial cría a una escala industrial. En el caso de las sepias, se ha propuesto que hay un alto potencial en su explotación, particularmente en los individuos de menor tamaño que presentan un alto interés comercial en países como Portugal y España por ser apreciados como manjares (Pierce et al., 2010).

Los cefalópodos presentan características favorables para la acuicultura, tales como ciclos de vida cortos, fecundidad alta, una alta tasa de crecimiento, entre otras (Mangold y Boletzky, 1973; Wells, 1978; Mangold, 1983; Cerezo Valverde, Hernández, Aguado-Giménez y García García, 2008; Vidal et al., 2014). Estas características biológicas de los cefalópodos favorecen su cría comercial, cuando contribuyen con una mayor rentabilidad y capacidad de impacto si se le compara con el predominio que tiene en el mercado los crustáceos (40-45%) y los peces teleósteos. Sin embargo, la rentabilidad depende de factores importantes como la demanda, los comportamientos de los mercados, y el elevado valor comercial (Vidal et al., 2014). Por esta razón, será necesario evaluar aquellos mercados que tengan la flexibilidad de poder sustentar empresas que puedan desarrollar un alto potencial en la acuicultura de estos organismos marinos.

En el momento actual, la pesca extractiva marítima de peces ha provocado una disminución paulatina de las poblaciones capturadas, por lo que se piensa que la pesca no tendrá la capacidad de poder cumplir con la demanda creciente de peces. Por ello, se piensa que esta situación puede provocar un incremento de la pesca extractiva de cefalópodos, como consecuencia aumentando su importancia comercial, así como un aumento de su captura (Vidal et al., 2014). Lamentablemente, las capturas de cefalópodos se han incrementado de unos 0,5 millones en 1950, hasta unos 4 millones 2007 (con un decremento reciente de 3,5 millones en el 2010 (Arkhipkin et al., 2015), lo que ha hecho pensar que la pesca extractiva de estos organismos marinos alcanzará su punto máximo de explotación y por tanto su fin, probablemente quizás también afectada por la percepción que se ha generalizado en el mercado, de un decremento de la producción pesquera mundial (Vidal et al., 2014).

La cría de cefalópodos a pequeña escala ha tenido éxito para ciertas especies como calamar de arrecife de aleta grande, *Sepioteuthis lessoniana* Lesson, la sepia europea (*Sepia officinalis* Linnaeus), el pulpo cuatro ojos mexicanos (*Octopus maya*) y como el crecimiento de subadultos en jaulas marinas del pulpo común, *Octopus vulgaris* (Lenzi, Cittolin, Ingle y Tibaldi, 2002; Mattei, Cesarini y Tibaldi, 2002; Sykes, Domingues, Correia y Andrade, 2006; Vidal et al., 2014).

Los cefalópodos representan un recurso de pesca comercial con mucho valor que se encuentra asociado por la presencia de canales de distribución establecidos. Dado a esta importancia, se ha realizado un estudio exhaustivo sobre su cría con la finalidad de que sus conclusiones sean aplicables en la producción de estos organismos marinos y se puedan superar las limitaciones en las que se halla la acuicultura de los cefalópodos. A continuación, se discutirán aspectos relacionados con las limitaciones en la producción acuícola de cefalópodos.

### **3.1.1 Limitaciones de la acuicultura de cefalópodos.**

Una de las limitaciones importantes que afecta la producción de cefalópodos en la acuicultura, es la necesidad de elaborar dietas con un perfil nutricional específico que se base en proteínas, con lípidos de alta calidad ricos en ácidos grasos esenciales, fosfolípidos y colesterol (Lee, 1994; Vidal et al., 2014).

Se ha propuesto que uno de los elementos clave para garantizar el éxito en la acuicultura en el comercio es el desarrollo de dietas que sean aptas y económicas de producir (Chen

y Long, 1991). Esto se debe a que el crecimiento de la cría de cefalópodos se halla limitado principalmente por la necesidad de emplear presas naturales y la carencia de dietas apropiadas (Domingues et al., 2005, 2008). Se estima que una reducción a largo plazo de un 40% de los costos de producción se podrían lograr si se desarrollan dietas apropiadas (Lee, 1994).

Esto tiene una gran importancia debido a que como estos organismos marinos presentan una alta tasa metabólica y de conversión de alimentos, si no se atiende las necesidades alimenticias durante las primeras etapas de desarrollo se puede producir canibalismo (Vidal et al., 2014). Por esta razón, se destaca la importancia que es conocer los hábitos alimenticios y el tipo de alimentación, lo cual quiere decir, buscar aportar alimento vivo o diseñar dietas artificiales específicas que sean rentables, para poder así abordar la producción de crías y juveniles. De esta manera, se podría reducir el tiempo necesario de cría y lograr alcanzar una producción comercial lo más pronto posible.

Por otra parte, otra de las dificultades que se presenta en la acuicultura de los cefalópodos es su transporte desde el medio silvestre al cautiverio a largo plazo. Dicha complicación se debe a la alta actividad que presentan estos organismos marinos, porque deben adaptarse a un entorno pequeño por un tiempo extenso, cuyas condiciones pueden ser difíciles de controlar sobre todo porque los cefalópodos son susceptibles a un deterioro de la calidad del agua (Vidal et al., 2014). De esta manera, es necesario que el transporte de estos organismos marinos, y sus huevos, se realice en condiciones óptimas para garantizar su supervivencia (Hanlon, 1990), entre algunas de las estrategias están: un buen empaquetamiento, un tiempo reducido de transporte y una aclimatación adecuada de los cefalópodos para asegurar el menor estado de estrés posible a su llegada (Vidal et al., 2014).

La calidad de agua es de alta importancia si se desea llevar a cabo el mantenimiento apropiado de los cefalópodos en las instalaciones, sobre todo, en las primeras fases de desarrollo (Boletzky y Hanlon, 1983). Cada una de las etapas de desarrollo se caracteriza por tener límites de tolerancia distintos por lo que es necesario estudiar las condiciones o las propiedades que debe tener el agua para cada una de ellas, ya que, de lo contrario, el estado de salud de estos organismos marinos se puede deteriorar (Vidal et al., 2014).

Aparte de esto, aunque se han descrito agentes patógenos como bacterias, hongos, parásitos y virus, son poco los avances que se han logrado en tratamientos para combatir dichos patógenos (Vidal et al., 2014); sin embargo, se han podido desarrollar ensayos con una variedad de antibióticos (Mori et al., 2015).

Es importante remarcar que la selección de los reproductores ha sido otra restricción ya que estos se obtienen de poblaciones silvestres (Mori et al., 2015). Por este motivo, se han desarrollado métodos con la finalidad de obtener los reproductores sin provocar estrés y preservar su integridad. Asimismo, se ha de tener en cuenta elementos como el tamaño y el peso, para llevar a cabo una selección de individuos que sean potencialmente maduros (Vidal et al., 2014).

Si bien la incubación y el mantenimiento de los embriones no ha resultado una dificultad para la obtención de paralarvas y juveniles, el cuidado de los huevos ha representado uno de los elementos que ha comprometido el desarrollo en la producción de cefalópodos.



Actualmente, los huevos pueden obtenerse a través del uso de reproductores, del medio silvestre, así como también por fertilización in vitro. Es fundamental evaluar el desarrollo embrionario para lograr monitorear el progreso de dicho desarrollo, y así estimar el tiempo de eclosión (Vidal et al., 2014).

Por último, otra de las limitaciones en la acuicultura de cefalópodos es la cría para larval, sin embargo, ya se ha iniciado proyectos relacionados con ensayo de clasificación de larvas (Mori et al., 2015) que permitirán elucidar aspectos esenciales para la producción de las paralarvas, en lo que respecta a sus necesidades de alimentación, nutrición y cría (Vidal et al., 2014).

### **3.1.2 La producción acuícola de pulpo común.**

En los años recientes, el centro oceanográfico de Vigo y Tenerife del Instituto Español de Oceanografía (IEO), ha logrado reproducir en cautiverio la cría larvaria de pulpo común (*Octopus vulgaris*). Este hecho supone un gran avance al contribuir en un futuro con la demanda elevada internacional en el mercado que tiene esta especie de cefalópodo actualmente. La empresa Pescanova, en colaboración con la institución previamente mencionada, estima que la supervivencia del pulpo podría incrementarse hasta un 50% en la acuicultura. La empresa estima que, a partir del año 2023, la acuicultura podrá ser sostenible, permitiendo satisfacer a largo plazo dicho nicho en el mercado (Grupo Nueva Pescanova, 2019). La empresa española, Armadora Pereira, también ha hecho estudios con la organización IIM (Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo) sobre la cría del pulpo común en cautiverio (López, 2018). Por otro lado, a nivel internacional, la empresa Nissui en Japón ha invertido en investigación para poder llevar con éxito la eclosión de los huevos, estimando que para el año 2020 podrá llevar la producción de pulpos a gran escala (Kearns, 2017). Igualmente, la empresa mexicana Mayab Mollusks ha realizado estudios dedicados a realizar la cría del pulpo *Octopus maya*, desarrollando dietas basadas en crustáceos e incluso otros cefalópodos (Courage, 2013). También, la compañía griega Nireus Aquaculture, ha financiado proyectos con la finalidad de desarrollar la cría del pulpo (Fletcher, 2019). Por último, se ha venido desarrollando un proyecto en conjunto entre los Laboratorios de Pesca e Investigación Marina de Australia Occidental (WAFMRL), con Occoculture Pty Ltd (filial de Fremantle Octopus) con la finalidad de realizar un proyecto con el fin de fomentar el desarrollo de la acuicultura del pulpo en Australia Occidental (Mori et al., 2015).

Galicia, la región española con mayor producción, realiza el engorde de pulpo de 750 g partiendo de una alimentación basada en crustáceos que proviene del descarte de las pesquerías con un reducido valor comercial. El período de engorde puede ser de 3 o 4 meses, hasta que los pulpos alcancen su talla comercial (2,5 a 3kg), con una tasa de mortalidad que puede variar entre el 15 % (Iglesias, Sánchez, Otero y Moxica, 2000) o 16-52 % (Tuñón, Parada, Caeiro y Rey-Méndez, 2001). Por otra parte, en las Islas Canarias desarrollaron una investigación en la que proponen que el engorde del pulpo común puede hacerse con alimentación basada en bogas (*Boops boops*) procedentes de descartes de granjas de producción de dorada y lubina dadas las buenas tasas de crecimientos y los índices de conversión que se pueden obtener. Sin embargo, un aspecto importante que señalan es que las fugas y el canibalismo son factores que hay que apreciar si se desea desarrollar un engorde eficiente (Socorro et al., 2005).

B. García, Rodríguez González y J. García (2004) realizaron un estudio que tenía como finalidad evaluar el nivel de rentabilidad que tienen los sistemas de engorde del pulpo común en Galicia. Para ello tomaron en cuenta los precios máximos de los subadultos y de la dieta para obtener un punto de equilibrio, también índices de rentabilidad basadas en un análisis de costes. En esta investigación, los resultados señalaron que los costos variables representan un alto valor (66,29%), cuando se compara con los costos fijos (33,71%). La relación de dichos costos también se aprecia en la acuicultura marina, específicamente en otros sistemas de engorde, como aquellos que se emplean para la cría de peces como la dorada, lubina y el salmón (García García et al., 2004). Con respecto a los costes totales, se determinó que el coste variable que tiene mayor impacto es la adquisición de subadultos (41%), que representa el punto de mayor importancia en el engorde del pulpo común. Adicionalmente, en un estudio para determinar la viabilidad económica del engorde del pulpo común, García García, Luaces, Veiga y Rey-Méndez (2014) definieron que es necesario tomar en cuenta el tipo de sistema de producción. Los costos de producción en tierra (8,97 euros kg<sup>-1</sup>) son superiores a los de las jaulas marinas (6,61 euros kg<sup>-1</sup>).

De esta manera, se puede concluir que el engorde del pulpo común es poco rentable, es una inversión de alto riesgo, debido en gran parte a los costos variables, así como por el rango estrecho de los índices mencionados, con unas ganancias fuertemente limitadas a las fluctuaciones de los costos (García García et al., 2004). La necesidad de obtener juveniles y la alimentación representan las principales dificultades a sobrellevar si se quiere optimizar el comercio del pulpo común.

### **3.2 Estructura muscular y composición del cefalópodo**

El músculo de los cefalópodos es una buena fuente nutricional dado su elevado contenido en proteínas, ácidos grasos insaturados, vitaminas A, B y D, aminoácidos esenciales y otras importantes biomoléculas. Además, tienen un elevado interés debido al alto rendimiento de su parte comestible. Así el rendimiento de los cefalópodos es del 80% de su peso corporal, mientras que el de los peces es tan sólo del 40%. Sin embargo, el músculo del calamar tiene una consistencia pegajosa y dura y es difícil ablandarlo, incluso después del almacenamiento y el calentamiento, lo que afecta negativamente la aceptación del consumidor (Jun-hui, Hui-juan, Bin y Hui, 2020).

Las fibras musculares de los cefalópodos se encuentran oblicuamente estriadas (Figura 1), los miofilamentos gruesos y finos se hallan distribuidos de una manera escalonada, por tanto, generan una conformación helicoidal u oblicua de bandas A, que son aquellas compuestas por los filamentos gruesos, las bandas I, constituidas por los filamentos finos y el material z que consisten en cuerpos densos a los cuales los miofilamentos finos pueden anclarse. No obstante, en las áreas transversales de las fibras musculares, se aprecia una serie de bandas similar a la que se observa en las regiones longitudinales de los músculos con estrías cruzadas. La disposición escalonada de los miofilamentos determina que una sola sección transversal pasa a través de las bandas I, A y Z en una sola fibra. La sección transversal de la fibra muscular revela una región en el centro que comprende el núcleo celular y las mitocondrias (Kier, 2016).

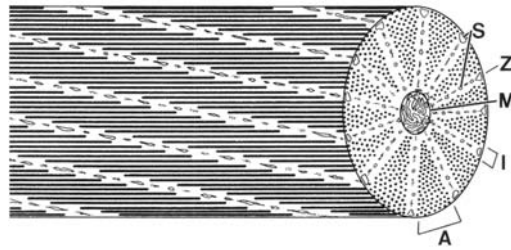


Figura 1. Diagrama esquemático de un cefalópodo con fibra muscular oblicuamente estriada. banda A; I, banda I; M, mitocondrias; S, retículo sarcoplásmico; Z, elementos. Recopilado de Kier (2016).

El tamaño del núcleo mitocondrial, así como la distribución de fibras enriquecidas con mitocondrias varía en las zonas de las aletas y el manto. El contenido de mitocondrias entre las fibras musculares determina su función. Las fibras que son aeróbicas y participan en los movimientos repetitivos, son aquellas que se encuentran enriquecidas con mitocondrias y son análogas al músculo rojo de los vertebrados. En cambio, las fibras que contribuyen en ejecutar esfuerzos máximos en cortos períodos de tiempo son aquellas que están empobrecidas con mitocondrias y son análogas al músculo blanco anaeróbico de los vertebrados (Kier, 2016).

La carne del calamar, tanto el manto como los tentáculos, presenta una composición nutricional parecida a la del pescado magro. Su composición es la siguiente: 75-84% de agua, 13-22 % de proteína cruda, 0,1-2,7% de lípidos y 0,9-1,9% de minerales (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

Los compuestos nitrogenados no proteicos, comprenden cerca del 37%, entre los que destaca el óxido de trimetilamina (TMAO), así como también, productos de su metabolismo, otras aminas, aminoácidos libres (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

La composición lipídica de la carne del calamar se halla constituida principalmente por fosfolípidos, con un 4% de colesterol. Adicionalmente, los ácidos grasos saturados abarcan entre un 21% a un 33,1%, los monoénicos del 8% al 12,2% y los poliénicos del 57,8% al 70,7% (Sikorski y Kolodziejska, 1986), y los ácidos grasos de cadena ramificada no superan el 0,3%.

El contenido proteico del músculo del manto, así como de los tentáculos, difiere un poco con aquella composición proteica del músculo del pescado. Las principales fracciones proteicas comprenden las proteínas miofibrilares (85%), las proteínas sarcoplásmicas (15%) y el colágeno (3% de las proteínas del manto de *Loligo sp* y 16% de las proteínas de los tentáculos de *Illex sp*). Se ha estimado que la proporción del colágeno puede llegar a ser significativamente alta, cuando se toma en consideración el modo en el cual está estructurado el músculo y sus respectivas propiedades reológicas (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

Con respecto a la fracción de proteínas miofibrilares del calamar se ha observado que son más solubles en agua con respecto a las de los peces y los mamíferos. Asimismo, se ha apreciado que la miosina es susceptible a la actividad proteolítica de la tripsina, y que la

actividad ATPasa de la miosina tiende a disminuir rápidamente cuando se expone al calentamiento (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

En cuanto al colágeno de los músculos y la piel de los calamares, este presenta alrededor de dos veces más residuos de hidroxiprolina por cada 1000 residuos que el colágeno de la piel del bacalao. Igualmente, el colágeno del músculo del calamar puede variar entre especies debido a un entrecruzamiento, el número de enlaces susceptibles de hidroxilamina, así como de su solubilidad en soluciones salinas y tampones (Sikorski y Kolodziejska, 1986).

### **3.3 Transformación de cefalópodos.**

Los métodos de transformación de los cefalópodos pueden ser muy variados, desde la propia refrigeración, para el consumo en fresco, pasando por la congelación, hasta la transformación total en conservas e incluso platos preparados. Pero estas transformaciones no siempre hacen que las características organolépticas de estos se mantengan o incluso mejoren, sino por lo contrario, que empeoren como es en el caso de la textura.

En efecto hay tratamientos de transformación como es la cocción que pueden generar cambios no deseables en la textura de los cefalópodos. En general, los tratamientos térmicos alteran los componentes estructurales de la carne a partir de la desnaturalización o pérdida de la conformación nativa de las proteínas producto del calor. Esto da lugar a que los polipéptidos almacenen energía cinética y se rompan las débiles fuerzas intramoleculares (tales como la interacción no polar, varios tipos de interacción electrostática y enlaces disulfuro) que preservan a las proteínas en su estado natural (Yu, Morton, Clerens y Dyer, 2017). Posteriormente, a medida que incrementa la temperatura las proteínas comienzan a desenvolverse, lo que da lugar a una pérdida de tanto las estructuras terciarias y secundarias. Seguidamente, las proteínas desplegadas se agregan, como resultado de la interacción no polar de estas proteínas desnaturalizadas, y sus enlaces disulfuros se desorganizan sufriendo modificaciones sus cadenas laterales (Yu et al., 2017).

En el caso de los cefalópodos, la estructura de las fibras de colágeno, la reticulación y la composición química tienen una influencia significativa en la firmeza del músculo, la cual se ve muy afectada por los tratamientos térmicos tanto por frío como por calor. Este hecho hace que existan diversos estudios en los que se evalúa la incidencia de los tratamientos térmicos por frío (en la conservación de la materia prima) y por calor (en su transformación) en los que los tiempos y texturas obtenidos pueden ser muy dispares.

Se han realizado estudios que han determinado como la contracción por cocción del calamar es de alrededor al 30%. Esta depende de cómo se ha conservado la materia prima. Así si se tiene un almacenamiento prolongado en hielo o en congelación, la contracción será mayor que si es en fresco. Dicha contracción se produce durante los primeros 15 minutos de cocción. Además, la contracción será también mayor para especímenes de mayor tamaño que aquellos de menor tamaño (Sikorski y Kolodziejska et al., 1986).

Otros estudios reportados también por Sikorski y Kolodziejska et al (1986) establecieron que la dureza disminuye cuando se cuecen en agua hirviendo con un 2% de NaCl durante al menos 60 minutos, si bien otros estudios establecen que los principales cambios de textura se dan durante los primeros 8 minutos.

### 3.3.1 Tenderización de la carne

Con la finalidad de reducir la dureza de la carne se han llevado a cabo una gran cantidad de estudios. Estos estudios se basan en aplicar métodos mecánicos, químicos y enzimáticos, o incluso la combinación de ellos.

Los métodos mecánicos se basan en ablandar la carne a través de la utilización de una fuerza mecánica que genera la ruptura de su estructura muscular. Un ejemplo de ello es el picado de la carne (Bhat, Morton, Mason y Bekhit, 2018).

En los métodos químicos, la carne es expuesta a agentes químicos que interactúan con ella reblandeciéndola. Un ejemplo de ello puede ser el ensayo realizado por Berge et al. (2001) en el que observaron un ablandamiento de la carne a partir de la inyección de ácido láctico (0.5 M, 10% w/w) el cual degrada significativamente las cadenas pesadas de la miosina, que generan cambios ultraestructurales de las miofibrillas y una menor estabilidad térmica del colágeno perimisial.

Los métodos enzimáticos son los más ampliamente utilizados y se basan en hacer actuar una enzima externa (generalmente procedente de extractos de plantas) con actividad proteolítica y con capacidad de optimizar la ternura de la carne con gran dureza, entre ellas se encuentra la papaína (Singh, Shrivastava y Ojha, 2019).

El látex de la *Carica papaya* se identifica por ser una rica fuente de cuatro endopeptidasas cisteína tales como la papaína, quimopapaína, endopeptidasa glicólica y caricaína (Azarkan, Moussaoui, van Wuytswinkel, Dehon y Looze, 2003).

Se ha descrito que la papaína tiene una actividad catalítica que es óptima en un amplio rango de niveles de pH (5,8-7) y temperaturas (50-80°C) particularmente en presencia de sustratos como la caseína (Grzonka, Kasprzykowsk y Wiczek, 2007).

La papaína se caracteriza por mostrar una especificidad muy alta, y manifiesta actividad como endopeptidasa, amidasa y esterasa (Worthington Biochemical Corporation, 2020; Kimmel y Smith, 1954). Esta endopeptidasa (Figura 2), presenta un gran sitio activo que se extiende sobre unos 25 aminoácidos y puede dividirse en 7 "subsitos", cada uno de los cuales alberga un residuo de aminoácido del sustrato peptídico. Dichos subsitos se hallan localizados a ambos lados del sitio catalítico, 4 en un lado y 3 en el otro (Schechter y Berger, 1967). Los residuos catalíticos en el sitio activo de la papaína consisten en Cys25 e His159, que forman la diada catalítica, y Gln19, Asn175 y Trp177 están involucrados en el mantenimiento del carácter nucleófilo de la diada catalítica (Novinec y Lenarcic, 2013) (Figura 2). La especificidad de la papaína viene dada, sobre todo, sobre aquellos aminoácidos con cadenas laterales aromáticas como Phe (fenilalanina) y Tyr (tirosina) en la posición P2.

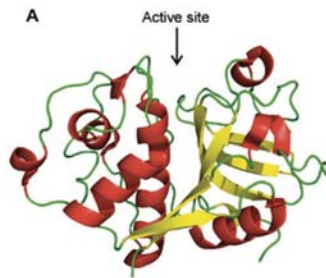


Figura 2. Estructura tridimensional del dominio de la peptidasa de la papaína. Recopilado de Novinec y Lenarcic (2013).

Son numerosos los estudios realizados en los que se ha utilizado la papaína para el reblandecimiento de carne (Gerelt, Ikeuchi y Suzuki, 2000; Sullivan y Calkins, 2010; Barekat y Soltanizadeh, 2017), pero muy pocos realizados sobre cefalópodos y todos ellos en los últimos años (Gokoglu, Yerlikaya, Ucak y Yatmaz, 2017; Jun-hui et al., 2020; Grygier, Fan y Sung, 2020). Es por ello por lo que el presente Trabajo Final de Máster se ha planteado la realización de un caso práctico.

#### **4. Caso práctico: Estudio preliminar de la aplicación de la enzima papaína para el ablandamiento de carne de cefalópodo (*Todarodes sagittatus*). Efecto del tratamiento de cocción.**

##### **4.1 Objetivo:**

Una vez evaluados aquellos puntos ligados a la producción de cefalópodos y sus características, entre ellas la excesiva dureza que puede presentar su carne, en el siguiente punto del Trabajo Final de Máster se plantea como objetivo evaluar, mediante un estudio preliminar, el efecto del pretratamiento con papaína en el ablandamiento de carne de cefalópodo y el efecto que el tratamiento térmico de cocción puede ejercer sobre la textura de esta.

##### **4.2 Materiales y métodos:**

###### **4.2.1 Materia prima:**

Si bien el trabajo está dirigido hacia la cría de cefalópodos, para este estudio preliminar se utilizó tiras de pota (*Todarodes sagittatus*) congeladas procedentes de un supermercado de la zona. Se estableció esta materia prima por presentar formas regulares y espesores más o menos constantes (1,5 cm x 1,5 cm) lo cual reducía el número de variables a controlar en el estudio.

La enzima utilizada fue la papaína (obtenida de la *Carica papaya*) (Biocon, Les Franqueses del Vallés, España) hidrosoluble 30,000 U/mg, un enzima de origen natural, de carácter proteolítico, con acción endopeptidasa.

#### 4.2.2 Procesado de las muestras:

Una vez descongeladas las muestras, estas se dividieron en tres grupos, control (C), aquellas que iban a ser inyectadas con agua (IA) y las inyectadas con una solución enzimática del 5% (IE), de forma perpendicular a la dirección de las tiras, en puntos aproximadamente distanciados por 5 mm en los que se inyectó 0.1 mL de agua o solución de enzima (Figura 3).



Figura 3. Procedimiento de inyección de muestras.

Tras la inyección, las muestras fueron tratadas térmicamente de tres formas; con agua a 90°C (A), con vapor (V) y al horno a 200°C (H) durante un periodo de tiempo tal que se asegurase una temperatura interna de 80°C. Tras el tratamiento térmico estas fueron enfriadas rápidamente en un baño con agua y posteriormente evaluada su textura.

Para la determinación del tiempo de tratamiento se realizaron curvas de penetración de calor. Para ello las muestras control (sin inyección) fueron introducidas bien en agua a 90°C o en horno a 200°C, tomándose periódicamente la temperatura interna mediante una sonda de punción.

#### 4.2.3 Análisis de textura

El análisis de textura fue llevado a cabo por medio de la utilización de un texturómetro (Stable Micro Systems, Mod. Texture Analyzer -XR2, Godalming, Surrey UK). Se procedió a realizar un análisis TPA (Texture Profile Analysis). Las muestras fueron comprimidas a través de un pistón de compresión (P/75) con un diámetro de 75 mm, con una velocidad de ensayo de 10.00 mm/s y con una deformación del 50%. Para cada ensayo se utilizaron 6 muestras. Los parámetros obtenidos fueron dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia.

#### 4.2.4 Análisis estadístico

Los resultados de textura fueron analizados estadísticamente que consistió en un análisis de la varianza a través de un ANOVA multifactorial para determinar la existencia de diferencias significativas generadas por los factores tipo de muestras y método de cocción. El valor del intervalo de confianza establecido fue del 95% (P valor < 0,05). Para el estudio se empleó el software Statgraphics Centurion XVII.II versión 17.2.04.

### 4.3 Resultados:

#### 4.3.1 Determinación de curvas de calor:

Con la finalidad de determinar el tiempo de tratamiento térmico necesario para que las muestras alcanzaran los 80 °C, se realizaron los ensayos de curvas de penetración de calor. En la Figura 4 se muestran los resultados tanto para las muestras horneadas a 200°C como para las inmersas en agua a 90 °C. Como se puede apreciar, las muestras inmersas en agua alcanzaron los 80°C en unos 8 minutos, mientras que las muestras horneadas lo hicieron en 4 minutos.

En base a estos resultados se definieron 4 minutos para el estudio de las muestras con tratamiento térmico de horneado y de 8 minutos para las inmersas en agua a 90°C y para las tratadas con vapor de agua.

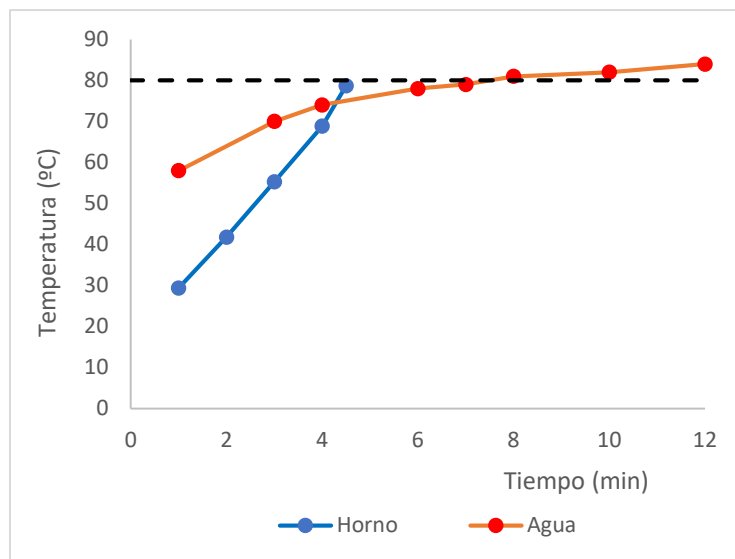


Figura 4. Curvas de calor de los diferentes métodos de cocción.

#### 4.3.2 Análisis estadístico de los parámetros de textura

Los datos aportados por el texturometro se ven representados a través de los parámetros dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia, que proporcionan información sobre los cambios de textura que han desarrollado las muestras producto de la combinación del tratamiento enzimático acompañado del tratamiento térmico. En la Tabla 1 se muestra de forma resumida los resultados estadísticos del ANOVA multifactorial realizado, siendo los factores tipo de muestra (control, inyectada con agua e inyectada con enzima) y método de cocción (agua, vapor y horno).



Tabla 1. Análisis estadístico de los distintos parámetros aportados por el texturómetro.

Parámetros de textura		Dureza	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Masticabilidad	Resiliencia
Suma de cuadrados	Tipo de muestra	10148,9	0,71262	0,494617	7539,06	7687,08	0,419843
	Método de cocción	2048,72	0,0364944	0,0648415	1199,83	1220,7	0,0356101
	Interacciones (AB)	1337,95	0,0495514	0,0410836	764,401	643,612	0,0788673
	Residuos	2948,63	0,455647	0,0924205	1843	2068,71	0,115835
	Total (corregido)	16532,9	1,25317	0,705496	11419,9	11693,9	0,636925
GI	Tipo de muestra	2	2	2	2	2	2
	Método de cocción	2	2	2	2	2	2
	Interacciones (AB)	4	4	4	4	4	4
	Residuos	43	43	43	43	43	43
	Total corregido	51	51	51	51	51	51
Cuadrado medio	Tipo de muestra	5074,46	0,35631	0,247309	3769,53	3843,54	0,209922
	Método de cocción	1024,36	0,0182472	0,0324208	599,917	610,351	0,017805
	Interacciones (AB)	334,489	0,0123879	0,0102709	191,1	160,903	0,0197168
	Residuos	68,5728	0,0105965	0,00214931	42,8604	48,1095	0,00269383
	Razón-F	74	33,63	115,06	87,95	79,89	77,93
Valor-P	Tipo de muestra	0	0	0	0	0	0
	Método de cocción	0	0,1908	0	0	0	0,0031
	Interacciones (AB)	0,0025	0,3378	0,0028	0,0042	0,018	0,0001

Los resultados estadísticos proporcionados por la Tabla 1 permiten visualizar como para los parámetros textura, dureza, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia, el valor de p es menor a 0,05 para los dos factores como para la interacción entre ellos y por tanto su influencia sobre ellos. Sin embargo, se observa como la elasticidad adquiere un valor de p mayor a 0,05, para el factor método de cocción y la interacción entre este y el tipo de muestra.

En base a estos resultados se procedió al análisis del comportamiento de las variables de textura en función de los factores.

### 4.3.3 Análisis de las variables de textura

#### 4.3.3.1 Dureza

El valor de dureza se puede definir como la fuerza máxima que se produce durante la primera compresión. La dureza no tiene porqué ocurrir en el punto de compresión más profundo, aunque normalmente ocurre en la mayoría de los productos (Texture Technologies, 2020). También, se podría decir que la dureza implica la fuerza necesaria para una deformación predeterminada (Trinh y Glasgow, 2012).

En la Figura 5 se muestra en barras los valores de dureza de cada uno de los tipos de muestra (C, IA y IE) en función del método de cocción (A, V, H). Además, mediante letras se han expresado las diferencias existentes entre ellas (letras diferentes implican diferencias estadísticas  $p < 0.05$ ). Como se puede observar el factor tipo de muestra fue significativo para los tres tipos de cocción. Así las muestras tratadas enzimáticamente fueron las que menor dureza presentaron, evidenciando la acción del enzima sobre estas, mientras que la mayor fueron las inyectadas con agua. Las muestras control presentaron una dureza intermedia entre las anteriores.

El estudio del método de cocción mostró como este influyó sobre los valores de textura de las muestras, siendo las tratadas con la enzima y horneadas las que presentaron un menor valor de dureza. Las tratadas con vapor y en agua tuvieron iguales valores de textura. En el caso de las muestras control, los valores para los métodos de cocción por

vapor y al horno presentaron valores similares e inferiores a los observados en la cocción en agua. En el caso de las muestras inyectadas con agua el menor valor de dureza se observó en las muestras tratadas con vapor, seguidas de las horneadas y finalmente por las cocidas en agua a 90°C. En la Figura 6, a modo de ejemplo se muestra una fotografía de los tres tipos de muestras tras la cocción en agua. Como se puede apreciar, la muestra tratada con la enzima, al serle aplicada una presión con la espátula, quedó totalmente deformada.

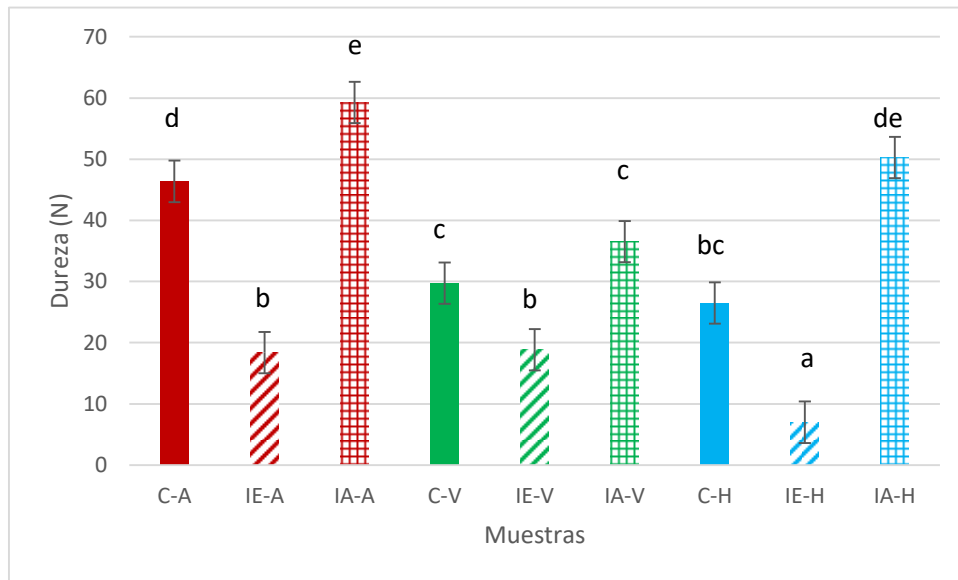


Figura 5. Cambios en la dureza de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

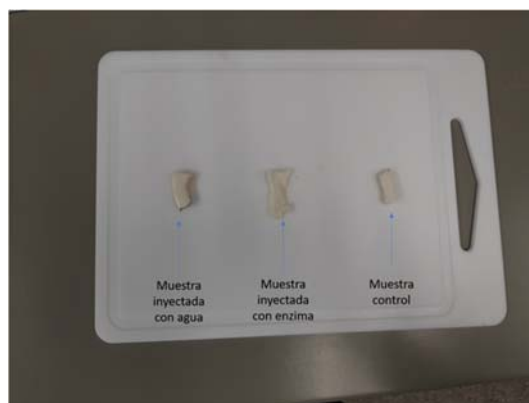


Figura 6. Muestras tras el tratamiento térmico de cocción en agua y aplicárseles una presión con espátula.

#### 4.3.3.2 Cohesividad y elasticidad

La cohesividad puede describirse como la capacidad que tiene un producto en soportar una segunda deformación en relación con su resistencia bajo la primera

deformación (Texture Technologies, 2020). Asimismo, se podría decir que la cohesividad implica la fuerza de los enlaces internos de la muestra (Trinh y Glasgow, 2012).

Al igual que para la dureza, en la Figura 7 se muestran los valores de cohesividad. Como se observa, el tratamiento enzimático aportó una menor cohesividad en cada uno de los tratamientos térmicos, aunque fue ligeramente menor para las muestras horneadas. En cambio, las muestras control e inyectadas con agua no mostraron prácticamente diferencias entre ellas, independientemente del método de cocción empleado.

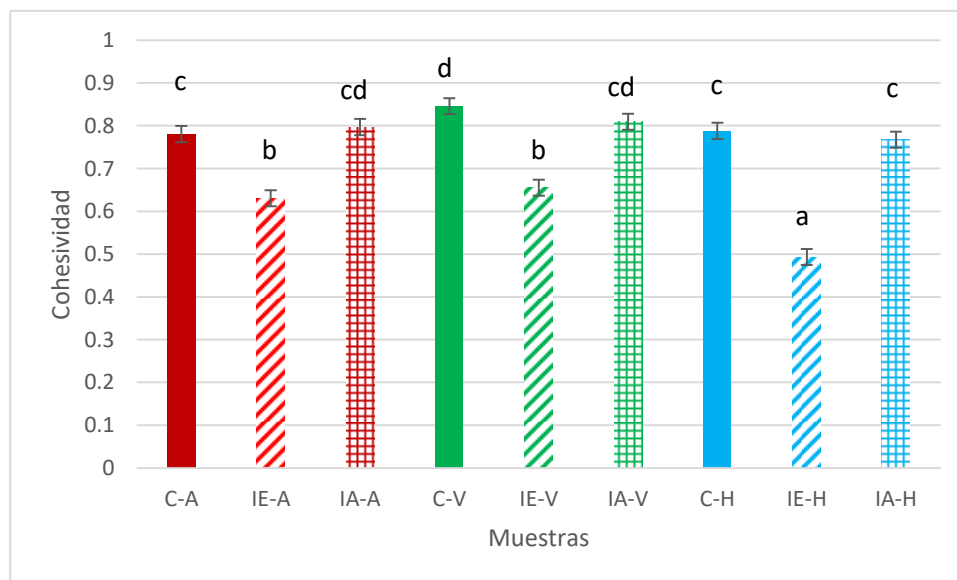


Figura 7. Cambios en la cohesividad de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

En relación con la elasticidad, la cual mide la capacidad que tiene una muestra deformada para recuperar su forma o longitud inicial después de que una fuerza haya impactado en ella (Trinh y Glasgow, 2012), se observó el mismo comportamiento encontrado para el parámetro cohesividad, con una menor elasticidad de las muestras tratadas enzimáticamente y sin diferencias entre el resto de las muestras (Figura 7 B).

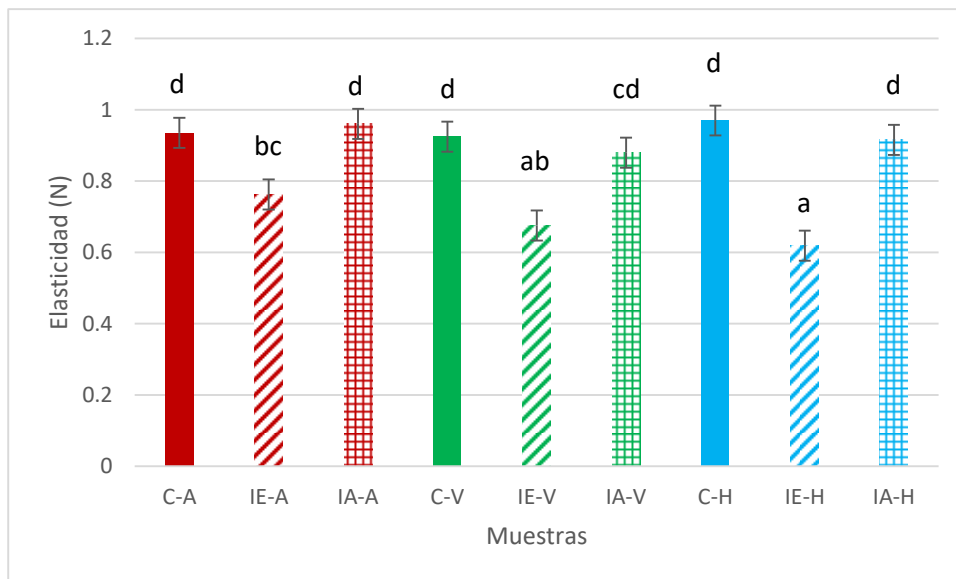


Figura 8. Cambios en la elasticidad de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

#### 4.3.3.3 Gomosidad y masticabilidad

La gomosidad se caracteriza por ser la energía necesaria para desintegrar una muestra semisólida hasta que esté lista para ser ingerida (Trinh y Glasgow, 2012). Este parámetro de textura se aplica sólo para aquellos productos que son semisólidos y se define matemáticamente como el producto entre la Dureza y la Cohesividad (Texture Technologies, 2020).

La masticabilidad se puede describir como la energía que se requiere para masticar un alimento sólido hasta que esté listo para ser tragado (Trinh y Glasgow, 2012). Este parámetro de textura solo se aplica para productos en estado sólido y se estima a partir de la multiplicación entre la gomosidad, la dureza y la elasticidad (Texture Technologies, 2020).

Así, ambos parámetros son dependientes de la dureza, y dado que las variaciones en cohesividad y elasticidad se dieron en menor proporción, los resultados obtenidos fueron proporcionales a los observados para la dureza. En las Figuras 9 y 10 se muestran respectivamente los datos para la gomosidad y para la masticabilidad.

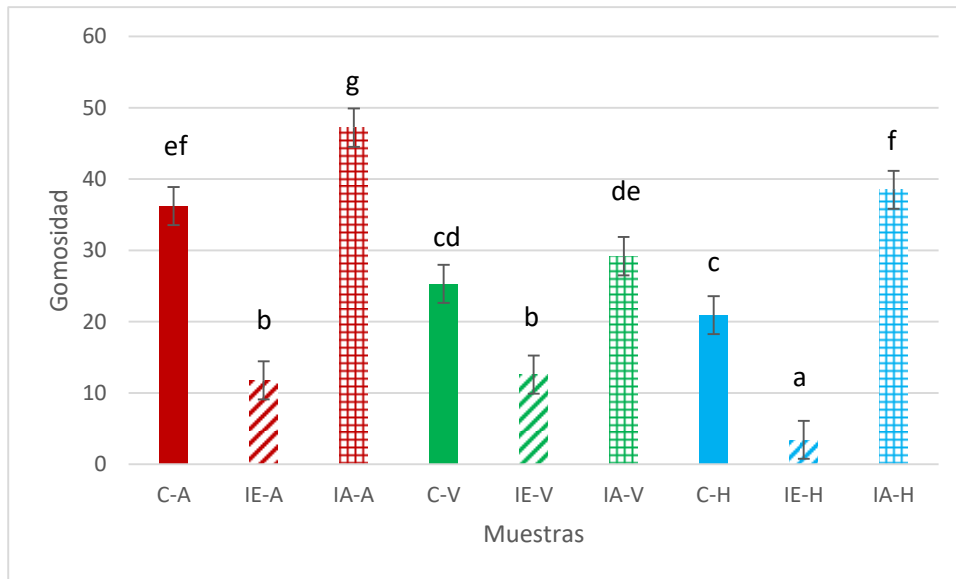


Figura 9. Cambios en la gomosis de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

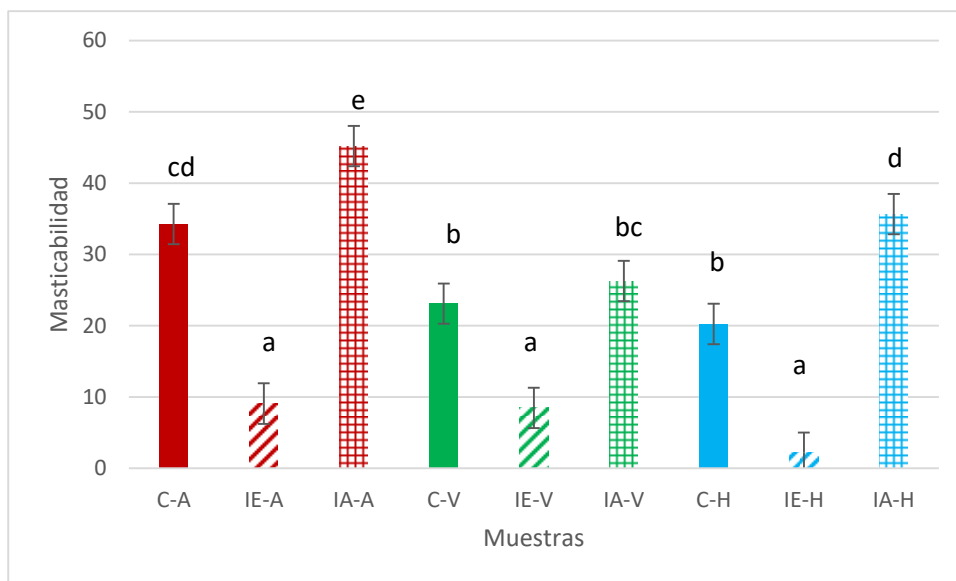


Figura 10. Cambios en la masticabilidad de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

#### 4.3.3.4 Resiliencia

La resiliencia puede definirse como la eficiencia que tiene un producto por retornar a su altura o estado original. Esta viene determinada en el momento en que se produce la retirada de la primera comprensión, antes de que suceda el período de espera. Este parámetro de textura se puede estimar a partir de una sola comprensión, no obstante, vale recalcar, que la velocidad de la retirada debe ser la misma que la velocidad de comprensión (Texture Technologies, 2020).

En la Figura 11 se muestran los valores de resiliencia de cada uno de los tipos de muestra, en función del método de cocción. Las muestras tratadas enzimáticamente para cada uno de los métodos de cocción manifestaron una menor resiliencia. Con respecto a las muestras control, se observó como la tratada mediante la cocción con agua fue la que exhibió una menor resiliencia, siendo los valores iguales y mayores para los otros dos métodos de cocción. En cambio, para las muestras inyectadas con agua, el procedimiento de cocción con horno fue el que presentó valores diferentes, mayores a los observados para los otros dos métodos, los cuales fueron iguales entre ellos.

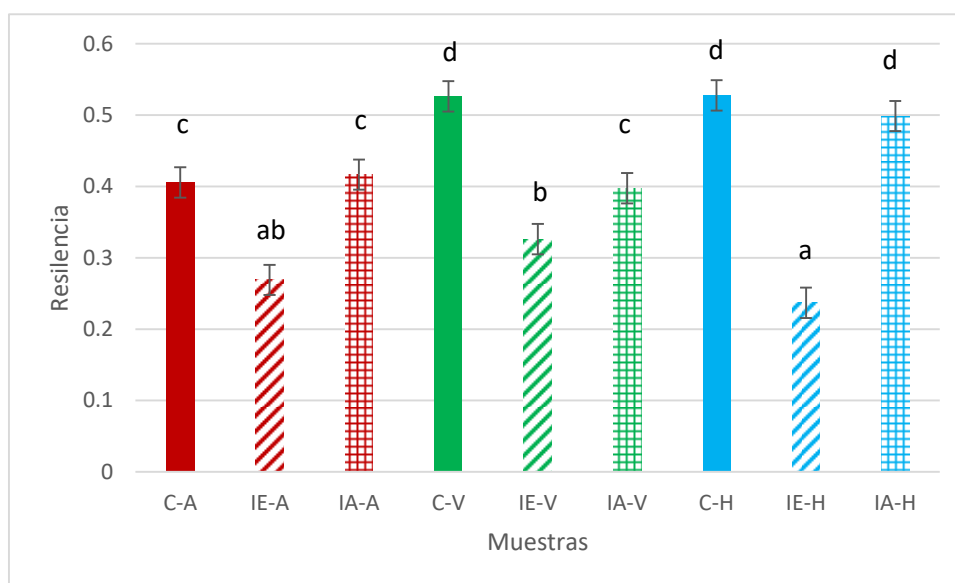


Figura 11. Cambios en la resiliencia de las muestras en función de las variables tipo de muestra y método de cocción.

#### 4.4. Discusión.

##### 4.4.1 Parámetros de textura según el tipo de muestra

De acuerdo con los resultados previamente descritos en el apartado anterior, se observó para los tres métodos de cocción una disminución significativa de la dureza para las muestras tratadas enzimáticamente.

En un estudio realizado por Jun-hui et al. (2020), en el que se evaluó la capacidad proteolítica de enzimas exógenas de origen vegetal como la papaína y la bromelaína sobre *Dosidicus gigas*, observaron como las muestras control, tanto aquellas frescas como cocidas, presentaban un alto grado de dureza y fuerza de rotura debido a la estructura del músculo, ya que las fibras musculares del calamar están organizadas bajo una disposición radial y circular, mientras que los tejidos conectivos se hallan organizados de acuerdo con una disposición radial y circular longitudinal. Sin embargo, las muestras que fueron tratadas con las proteasas mostraron una reducción significativa de la fuerza de rotura y del grado de dureza, en comparación al control o aquella tratada con agua, tanto en el calamar fresco como el sujeto a cocción ( $p$  valor < 0,05). Resultados similares también fueron reportados por Grygier et al. (2020). Además, estos mismos autores, al igual que

en otros estudios (Gokoglu et al., 2017), donde la aplicación de la enzima no solo se realizó mediante inyección, sino también por inmersión en una disolución de enzima, si bien, aunque se vio un descenso de la dureza con respecto al control, esta fue menor que la observada en muestras inyectadas dado que la enzima solo actuó en la superficie.

Como se ha mencionado, los valores de gomosidad y masticabilidad también fueron menores para las muestras tratadas con la enzima, resultados que también fueron reportados por Gokoglu et al. (2017), si bien ellos no encontraron cambios significativos en la elasticidad. Maqsood, Manheem, Gani y Abushelaibi (2018), en un estudio sobre el impacto de los tratamientos enzimáticos sobre las propiedades texturales de la carne de camello durante el almacenamiento refrigerado, observaron que un tratamiento enzimático basado en la utilización de la papaína puede ejercer una disminución de todos los parámetros de textura como la dureza en un 9,5-22,4%, la cohesividad en un 4,8-16,7%, la elasticidad en un 1,2-10,1%, la gomosidad en un 0,9-4,6%, la masticabilidad en un 4,8-15,2%. Los autores de dicho estudio mencionan que la disminución de la firmeza de la carne se atribuyó a la acción proteolítica de las enzimas sobre las proteínas miofibrilares o por la alteración del tejido conectivo. De esta manera, la degradación de las proteínas miofibrilares puede dar lugar a la generación de péptidos de bajo peso molecular, conllevando a una reducción consecuente de la firmeza de la muestra de carne.

#### **4.4.2 Parámetros de textura según el método de cocción.**

Los métodos de cocción pueden generar cambios en los productos cárnicos en propiedades tales como la pérdida de peso, la capacidad de retención de agua, la textura y el desarrollo del color y el aroma (Choi et al., 2016). Los elementos principales que provocan estos cambios son la desnaturalización de las proteínas y la pérdida de agua. De esta manera, la composición y las características del músculo, así como, el método de cocción empleado, el período y la temperatura de cocción afectan las características de calidad de los productos cárnicos (Choi et al., 2016).

Choi et al. (2016), llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron los efectos de distintos métodos de cocción en las propiedades texturales del filete de pollo. En dicho estudio se encontró que el método de cocción con vapor fue capaz de producir una disminución en la dureza, la gomosidad y la masticabilidad en comparación con el horneado y más aún con la cocción en agua, mientras que la elasticidad y la cohesividad no se vieron modificadas. En este mismo sentido, Larsen, Quek, y Eyres (2011) llevaron a cabo un estudio con la finalidad de evaluar el color y la textura instrumental del salmón rey de Nueva Zelanda (*Oncorhynchus tshawytscha*) tratado térmicamente y su relación con las propiedades sensoriales. En esta investigación observaron también que el salmón expuesto al método con vapor mostraba una menor dureza en comparación a los otros métodos de cocción, aunque dicha diferencia no fue estadísticamente significativa.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en el presente estudio, en el que se observa una tendencia similar a los valores provistos por los distintos métodos de cocción utilizados, si bien para las muestras tratadas con la enzima el horneado es el método de cocción que generó muestras más blandas.

#### **4.5 Conclusión caso práctico**

En el estudio se ha evaluado el efecto del pretratamiento con papaína en el ablandamiento de carne de cefalópodo y el efecto que el tratamiento térmico de cocción puede ejercer sobre la textura de esta.

Los resultados han demostrado como la papaína aplicada mediante inyección ejerce una gran influencia sobre la textura de la carne, reduciendo en gran medida la dureza de esta, siendo este efecto más acusado cuando el tratamiento térmico posterior se realiza mediante horneado en vez de usar vapor o cocción en agua.

#### **5. Conclusión general**

Para lograr la sostenibilidad del comercio de cefalópodos, es fundamental considerar la importancia de la evaluación y gestión de estos recursos pesqueros y minimizar la dependencia del volumen de captura. Es por ello por lo que la acuicultura se establece como una vía potencial de aumento de la oferta de cefalópodos para satisfacer la creciente demanda mundial que no puede ser cubierta por la pesca extractiva tradicional. Sin embargo, la cría de cefalópodos esta sujeta a dificultades tales como los hábitos alimentarios estrictos que son altamente específicos en estos organismos marinos, dificultad en el transporte desde el medio silvestre al cautiverio, la calidad de agua alta, entre otras.

Si bien los cefalópodos son una buena fuente nutricional dado su elevado contenido en proteínas, ácidos grasos insaturados, vitaminas A, B y D, aminoácidos esenciales y otras importantes biomoléculas, así como un alto rendimiento de su parte comestible, presentan el inconveniente asociado a una textura dura ligada a su composición y estructura, la cual puede incrementarse en la transformación.

Una de las herramientas utilizadas para reducir la dureza, es la utilización de enzimas exógenas con actividad proteolítica como la papaína, la cual se ha demostrado que al aplicarla mediante inyección ejerce una gran influencia sobre la textura de la carne, reduciendo en gran medida la dureza de esta, siendo este efecto más acusado cuando el posterior tratamiento térmico se realiza mediante horneado en vez de usar vapor o cocción en agua. La aplicación de dichos métodos tendrá una alta repercusión en el mercado ya que pueden contribuir con una mejora de la aceptabilidad de los productos de cefalópodos al consumidor.

#### **6. Agradecimientos**

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (España) por el apoyo financiero proporcionado a través del Proyecto RTI2018-098842-B-I00.

#### **7. Bibliografía**

1. Arkhipkin, A. I., Rodhouse, P. G. K., Pierce, G. J., Sauer, W., Sakai, M., Allcock, L., Arguelles, J., Bower, J. R., Castillo, G., Ceriola, L., Chen, C. S., Chen, X., Diaz-Santana, M., Downey, N., González, A. F., Granados Amores, J., Green, C. P., Guerra,



- A., Hendrickson, L. C., y Zeidberg, L. D. (2015). World squid fisheries. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 23(2), 92–252. <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1026226>
2. Azarkan M, El Moussaoui A, van Wuytswinkel D, Dehon G., y Looze Y. (2003). Fractionation and purification of the enzymes stored in the latex of *Carica papaya*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 790(1-2):229-238. doi:10.1016/s1570-0232(03)00084-9
  3. Barekat, S., y Soltanizadeh, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 223–229.
  4. Berge, P., Ertbjerg, P., Larsen, L. M., Astruc, T., Vignon, X., y Møller, A. J. (2001). Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem. *Meat Science*, 57, 347–357.
  5. Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., y Bekhit, A. E. D. A. (2018). Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 841–859. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12356>
  6. Boletzky, S.V., y Hanlon, R.T. (1983). A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Mem. Natl. Mus. Victoria* 44, 147–187.
  7. Cerezo Valverde, J., Hernández, M. D., Aguado-Giménez, F., y Garcia Garcia, B. (2008). Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture*, 275: 266 – 273.
  8. Chen, X. K., y Long, L. J. (1991). Research and production of live feeds in China. In *Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a US – Asia Workshop*, 28 – 31 January 1991, Honolulu, Hawaii, pp. 187–202. Ed. by W. Fulks and K. L. Main. The Oceanic Institute, Hawaii, USA. 364 pp.
  9. Choi, Y., Hwang, K., Jeong, T., Kim, Y., Jeon, K., Kim, E., Sung, J., Kim, H., y Kim, C. (2016). Comparative study on the effects of boiling, steaming, grilling, microwaving and superheated steaming on quality characteristics of marinated chicken steak. *Korean J. Food Sci. An.* Vol. 36(1). 1–7. <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.1>
  10. Courage, K.H. (24 de septiembre del 2013). First Octopus Farms Get Growing. *Scientific American*. <https://blogs.scientificamerican.com/octopus-chronicles/first-octopus-farms-get-growing/>.
  11. Domingues, P., Ferreira, A., Márquez, L., Andrade, J. P., López, N., y Rosas, C. (2008). Growth, absorption and assimilation efficiency by mature cuttlefish (*Sepia officinalis*) fed with alternative and artificial diets. *Aquaculture International*, 16: 215 – 229.
  12. Domingues, P. M., Di Marco, F. P., Andrade, J. P., y Lee, P. G. (2005). The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture International*, 13: 423 – 440.

13. Fletcher, R. (13 de mayo del 2019). Octopus farming comes under fire. The Fish Site. <https://thefishsite.com/articles/octopus-farming-comes-under-fire>.
14. García García, B., Rodríguez González, L., y García García, J. (2004). Estudio económico de una explotación tipo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) en Galicia, mediante la analítica de costes. *AquaTIC: Revista Electrónica de Acuicultura*, 21, 24–33.
15. García García, J., Luaces, M., Veiga, C., y Rey-Méndez M. (2014). Farming Costs and Benefits, Marketing Details, Investment Risks: The Case of *Octopus vulgaris* in Spain. J. Iglesias et al. (eds.), *Cephalopod Culture*, 9, 149-159, DOI 10.1007/978-94-017-8648-5\_9. Springer Science+Business Media Dordrecht.
16. Gerelt, B., Ikeuchi, Y., y Suzuki, A. (2000). Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, 56(3), 311–318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00060-7).
17. Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Ucak, I., y 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), 347–353. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9403-3>
18. Grupo Nueva Pescanova. (18 de agosto de 2019). Logran cerrar el ciclo de reproducción del pulpo en acuicultura. *Revista Alimentaria*. <https://www.revistaalimentaria.es/vernoticia.php?noticia=logran-cerrar-el-ciclo-de-reproduccion-del-pulpo-en-acuicultura>.
19. Grygier, M. J., Fan, Y. W., y Sung, W. C. (2020). Effects of different softening processes on the hardness and quality of thawed neritic squid (*Uroteuthis edulis*) muscle. *Processes*, 8(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pr8020135>
20. Grzonka, Z., Kasprzykowski, F., y Wiczak, W. (2007). Cysteine proteases. In: Polaina, J., MacCabe, A.P. (Eds.), *Industrial Enzymes*. Springer, NY, USA, pp. 181–195.
21. Hanlon, R.T. (1990). Maintenance, rearing, and culture of teuthoid and sepioid squids. In: Gilbert D.L., Adelman W.J., Arnold J.M. (Eds.), *Squid as Experimental Animals*. Plenum Press, New York, 35–62.
22. Iglesias, J.F., Sánchez, J., Otero J. J., y Moxica C. (2000). Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): present knowledge, problems and perspectives. *Cahiers Options Méditerranéennes* 47, 313-322.
23. Jun-hui, X., Hui-juan, C., Bin, Z., y Hui, Y. (2020). The mechanistic effect of bromelain and papain on tenderization in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) muscle. *Food Research International*, 131(January), 108991. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108991>
24. Kearns, M. (22 de junio del 2017). Fully farmed octopus from Nissui to reach market as soon as 2020. *Seafood Source*. <https://www.seafoodsource.com/news/aquaculture/fully-farmed-octopus-from-nissui-to-reach-market-as-soon-as-2020>.

25. Kier, W. M. (2016). The musculature of coleoid cephalopod arms and tentacles. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4(FEB). <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00010>
26. Kimmel, J., y Smith, E. (1954). Crystalline Papain. I. Preparation, Specificity and Activation, *J Biol Chem* 207, 515.
27. Larsen, D., Quek, S. Y., y Eyres, L. (2011). Evaluating instrumental colour and texture of thermally treated New Zealand King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their relation to sensory properties. *LWT - Food Science and Technology*, 44(8), 1814–1820. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.018>.
28. Lee, P. G. (1994). Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Marine and Freshwater Behavior and Physiology*, 25: 35 – 51.
29. Lenzi, F., Cittolin, G., Ingle, E., y Tibaldi, E. (2002). Allevamento del polpo (*Octopus vulgaris*): riproduzione e allevamento larvale in avannotteria industriale. In *Ricerca per lo sviluppo dell'Acquacoltura Toscana*, pp. 73 – 83. Ed. by D. Lanari and E. Ribaldi. Associazione Piscicoltori Italiani, Verona. 209 pp
30. López, P.V. (21 de diciembre del 2018). CSIC y Grupo Pereira se lanzan a la guerra comercial del pulpo de piscifactoría. *El Confidencial*. [https://www.elconfidencial.com/tecnologia/ciencia/2018-12-21/cesic-grupo-pererira-guerra-comercial-pulpo-piscifactoria\\_1720810/](https://www.elconfidencial.com/tecnologia/ciencia/2018-12-21/cesic-grupo-pererira-guerra-comercial-pulpo-piscifactoria_1720810/).
31. Mangold, K. (1983). *Eledone moschata*. In *Cephalopod Life Cycles. Vol. I: Species Accounts*, pp. 381 – 400. Ed. by P. R. Boyle. Academic Press, London. 475 pp.
32. Mangold, K., y Boletzky, S. v. (1973). New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*, 19: 7 – 12
33. Mattei, N., Cesarini, A., y Tibaldi, E. (2002). Allevamento del polpo (*Octopus vulgaris*): esperienze di allevamento e condizionamento alla riproduzione di adulti selvatici. In *Ricerca per lo sviluppo dell'Acquacoltura Toscana*, pp. 85 – 92. Ed. by D. Lanari and E. Ribaldi. Associazione Piscicoltori Italiani, Verona. 209 pp
34. Maqsood, S., Manheem, K., Gani, A., y Abushelaibi, A. (2018). Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3427–3438. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3251-6>
35. Mori, A., Cammilleri, R., Cammilleri, C., Kolkovski, S., King, J., Watts, N., y Natale, M. (2015). Development of octopus aquaculture Final Report. In *FRDC Project No. 2009/206: Vol. Fisheries (Issue 262)*.
36. Novinec, M., y Lenarcic, B. (2013). Papain-like peptidases: Structure, function, and evolution. *Biomolecular Concepts*, 4(3), 287–308. <https://doi.org/10.1515/bmc-2012-0054>.
37. Otwell, W. S., y Hamann, D. D. (1979), Textural characterization of squid *Loligo pealei*. *J. Food Sci.*, 44, 1629-35, 1643

38. Pierce, G. J., Allcock, L., Bruno, I., Jereb, P., Lefkaditou, E., Malham, S., Moreno, A., Pereira, J., Piatkowski, U., Rasero, M., Sánchez, P., Santos, M. B., Santurtún, M., Seixas, S., Sobrino, I., y Villanueva, R. (2010). Cephalopod biology and fisheries in Europe. ICES Co Operative Report NO. 303.
39. Schechter, I., y Berger, A. (1967). On the size of the active site in proteases. I. Papain. 1967. Biochemical and Biophysical Research Communications, 425(3), 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.015>.
40. Sikorski, Z.E., y Kolodziejska, I. (1986). The Composition and Properties of Squid Meat. Food Chemistry, 20, 213-224.
41. Singh, P.K; Shrivastava, N., y Ojha, B.K. (2019). Enzymes in the Meat Industry. Enzymes in Food Biotechnology. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00008-6>.
42. Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, a, Guirao, R., Reyes, T., Fernández-Palacios, H., y Izquierdo, M. S. (2005). Engorde de pulpo *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en jaulas flotantes alimentado exclusivamente con boga *Boops boops* (L., 1758) de descarte de la acuicultura. Boletín de Instituto Español de Oceanografía, 21(January), 207–212. <https://doi.org/10.13140/2.1.1963.7768>
43. Stanley, D. W., y Hultin, H. O. (1982). Quality factors in cooked North Atlantic squid. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 15, 277-82.
44. Sullivan, G. A., y Calkins, C. R. (2010). Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. Meat Science, 85(4), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.033>.
45. Sykes, A. V., Domingues, P. M., Correia, M., y Andrade, J. P. (2006). Cuttlefish culture – state of the art and future trends. Vie et Milieu, 56: 129 – 137.
46. Texture Technologies. (11 de septiembre del 2020). Overview of Texture Profile Analysis (TPA). <https://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis#overview>.
47. Trinh, T., y Glasgow, S. (2012). On the texture profile analysis test. Quality of Life through Chemical Engineering, October, 749–760.
48. Tuñón E., A. Parada, C. Caeiro., y M. Rey-Méndez. (2001). Estudio comparativo basado en la dieta diferenciada para el engorde de pulpo *Octopus vulgaris*, Cuvier 1797; en una explotación industrial. En: IV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. (10-11 de octubre, 2001. O Grove, A Coruña). M. Rey-Méndez, J. Fernández Casal y M. Izquierdo Rodríguez (eds.): 255-269. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela (A Coruña), España
49. Vidal, E. A. G., Villanueva, R., Andrade, J. P., Gleadall, I. G., Iglesias, J., Koueta, N., Rosas, C., Segawa, S., Grasse, B., Franco-Santos, R. M., Albertin, C. B., Caamal-Monsreal, C., Chimal, M. E., Edsinger-Gonzales, E., Gallardo, P., Le Pabic, C., Pascual, C., Roubedakis, K., y Wood, J. (2014). Cephalopod culture: Current status of main biological models and research priorities. In Advances in Marine Biology. Vol. 67. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800287-2.00001-9>.

50. Wells, M. J. (1978). *Octopus: Physiology and Behavior of an Advanced Invertebrate*. Chapman and Hall, London. 417 pp
51. Worthington Biochemical Corporation. (2020). *Enzyme Manual: Papain*. <http://www.worthington-biochem.com:8080/enzyme-manual/PAP/>.
52. Yu, T. Y., Morton, J. D., Clerens, S., y Dyer, J. M. (2017). Cooking-Induced Protein Modifications in Meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 141–159. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12243>.