



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Exactas

Licenciatura en Ciencia y Tecnología de Alimentos

*Hidrocoloides presentes en algas comestibles y su interacción
con proteínas de origen animal*

Trabajo Final de Grado Teórico

Autora: Bianca Garbocci

Directora: Dra. Natalia Ranalli

Año 2022

Esto es ciencia pero también es arte.

Dra. Natalia Ranalli

Agradecimientos

A mi mamá, que no sólo me enseñó sobre la vida, también me mostró que con paciencia y amor se pueden lograr hasta las cosas más difíciles. Gracias por estar en todos los momentos más importantes de forma incondicional.

A toda mi familia, por soportarme y apoyarme aún cuando la fascinación por descubrir cosas nuevas me hacía difícil de tolerar.

A mis amistades de toda la vida, Mari y Flor, por su motivación constante y acompañamiento durante este trayecto tan importante.

A mis compañeros y amistades adquiridas durante tantos años de cursada, especialmente Manu, Sol, Jony, Euge, Noe, Ro, Eli, Esteban, Agus, Ceci, por estar en todos los momentos de alegría, tristeza, risas y llantos, a lo largo de todos estos años. Una parte de ustedes se queda conmigo.

A mi directora, la Dra. Natalia Ranalli, por su dedicación, paciencia y confianza puesta en mí para realizar este trabajo. Gracias a su guía no sólo llevamos adelante este trabajo, sino que también me regaló experiencias y conocimiento inigualable.

A la Universidad Nacional de La Plata por permitirme estudiar esta hermosa carrera.

A todos los profesores de la Facultad de Ciencias Exactas por haberme formado como profesional y como persona.

Índice de contenidos

Hidrocoloides presentes en algas comestibles y su interacción con proteínas de origen animal

Sección 1:

Introducción a las macroalgas, proteínas de origen animal e hidrocoloides	1
1. Introducción	2
1.1 Las algas	2
1.1.1 Macro y micronutrientes de las algas marinas	2
1.1.2 Diferentes usos de algas marinas	4
1.2 Proteínas cárnicas	6
1.2.1 Proteínas miofibrilares	8
1.2.2 Estabilidad conformacional y desnaturalización de las proteínas	10
1.3 Los hidrocoloides	13
1.3.1 Variedad y composición de hidrocoloides presentes en algas	14
1.3.2 Hidrocoloides en algas pardas	18
1.4 Sistemas cárnicos e hidrocoloides	26

Sección 2:

Propiedad de gelificación. Características de geles de alginatos y geles de proteínas miofibrilares. Técnicas utilizadas para el estudio de estos sistemas	28
2.1 Geles	29
2.1.1 Comportamiento y propiedades de moléculas de alginato en soluciones y sistemas gelificados.	30
2.1.2 Geles de origen proteico	46
2.2 Caracterización de geles. Principales técnicas utilizadas para su estudio.	66

Sección 3:

Sistemas gelificados de alginatos y proteínas miofibrilares de origen animal. Análisis de estudios realizados	77
3. Propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales de geles de alginatos y proteínas miofibrilares	78
3.1 Análisis sobre las características de los geles mixtos	81

Sección 4:

Conclusiones	88
GLOSARIO	91

Sección 1:

Introducción a las macroalgas, proteínas de origen animal e hidrocoloides

1. Introducción

1.1 Las algas

El término “alga” se aplica a aquellos organismos autótrofos cuya vida se desarrolla ligada al agua dulce o salada (Boraso y col., 2004). Son organismos que presentan clorofila en la mayoría de los casos, estructuras reproductivas muy simples y una notable diversidad de formas y tamaños. A aquellas algas que alcanzan mayor tamaño y complejidad morfológica se denominan macroalgas. Según el artículo 878 del Código Alimentario Argentino (CAA, 2013), con la denominación de *Algas*, se entienden los tejidos celulares frescos o secos de las plantas marinas, constituidos por células redondeadas o cilíndricas semejantes entre sí, que se reúnen para formar tejidos como los parenquimatosos. Las algas comestibles son únicamente las macroscópicas y en particular las variedades *Porphira*, *Rhodophytas*, *Laminaria*, *Fucus*, *Macrocystis*, *Chondrus*, *Gracilaria*, *Clopterix*, etc. Las que se expendan desecadas no deberán tener un contenido acuoso superior al 15%.

Las macroalgas son habitantes de ambientes marinos costeros y del mismo modo que la vegetación en los ambientes terrestres, brindan a las costas protección contra la erosión y sirven de apoyo, refugio, protección y sustento a una importante cantidad de animales. Estas ocupan el primer eslabón de la cadena alimenticia en el ambiente acuático, y son productores primarios (Ferrario y Sar, 1995).

Las algas bentónicas son aquel conjunto de organismos que viven en contacto (crecen fijas al sustrato) con el fondo, tanto en el ambiente marino como en el de agua dulce. Dentro de este grupo de algas, podemos mencionar algunas divisiones que se diferencian principalmente por el tipo de pigmentos predominantes (Boraso y col., 2004):

- *Chlorophyta* o algas verdes: La mayoría de las especies marinas son macroscópicas. Si son pluricelulares se pueden organizar formando filamentos simples o ramificados, estructuras laminares o cenocíticos.
- *Phaeophyta* o algas pardas: Son siempre pluricelulares y prácticamente marinas en su totalidad, presentan desde pequeños talos filamentosos microscópicos hasta los enormes tamaños de las grandes algas que forman bosques bajo el nivel del mar. Estas últimas presentan una incipiente organización de tejidos de conducción.
- *Rhodophyta* o algas rojas: Hay unas pocas especies unicelulares pero en su mayoría son pluricelulares. De las tres divisiones de algas marinas, esta es la que alcanza mayor variedad en cuanto a diversidad en la estructura de sus talos.

1.1.1 Macro y micronutrientes de las algas marinas

Las algas presentan bajo contenido calórico, alta concentración de proteínas, fibra dietaria, minerales y vitaminas, contienen compuestos bioactivos como polifenoles y carotenoides y su consumo está asociado a baja incidencia de muchas enfermedades (Morales y col., 2019).

Se ha observado que las algas presentan un alto contenido de carbohidratos, 50-70% del peso seco (ps), un contenido de proteínas que varía entre el 5 y el 40% ps, un muy bajo contenido en grasas (0,05-2%), considerándose ricas en vitaminas y minerales. Generalmente, la fracción de proteínas en algas pardas es bajo (3-15% del peso seco) comparado con las algas verdes y rojas (10-47% ps). Exceptuando las especies de *Undaria pinnatifida* (wakame) cuyo nivel proteico está entre 11 y 24% ps, la mayoría de las algas pardas de mayor uso industrial (*Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* y *Himanthalia elongata*) tienen un contenido proteico menor al 15% ps. En algunas algas verdes, sobre todo aquellas pertenecientes al género *Ulva*, el contenido de proteína puede encontrarse entre el 10 y 26% (del peso seco) de la planta. Por ejemplo, las especies *Ulva pertusa*, que normalmente son consumidas bajo el nombre de "ao-nori" por la población japonesa, tienen un contenido proteico variable entre el 20 y el 26% (del peso seco de la planta). Los valores más altos en contenido proteico están registrados en algas rojas, tales como *Porphyra tenera* (47% ps) o *Palmaria palmata* (35% ps). Estas algas, conocidas bajo el nombre de "nori" y "dulce", respectivamente, tienen niveles proteicos más altos que los que se encuentran en las legumbres ricas en proteínas, tales como la soja (Fleurence, 1999; Rupérez y Saura-Calixto, 2001).

La mayoría de los hidratos de carbono de las algas rojas y pardas pertenecen a un grupo de hidrocoloides de baja digestibilidad para mamíferos no rumiantes (Ferrario y Sar, 1995). El contenido de fibra dietaria total también varía según las especies, pudiendo encontrar valores entre 33,6 y 50% (de la cual entre el 19,6 a 64,9% pertenece a la fracción de fibra soluble), en algas pardas tales como *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata* (Kombu), *Undaria pinnatifida* (Wakame), *Chondrus crispus* (Irish moss), y *Porphyra tenera* (Nori). De entre las algas pardas, la fibra soluble obtenida corresponde a ácidos urónicos provenientes de alginatos y azúcares neutros derivadas de fucoidan sulfatado y laminarina. En algas rojas, la gran mayoría de los azúcares neutros derivan de galactanos sulfatados: carragenano (*Chondrus*) o agar (*Nori*), respectivamente. La fibra insoluble presenta valores entre el 12 y 40% del ps del alga completa, correspondiendo en su mayoría a celulosa, junto con polisacáridos que contiene fucosa, a excepción de las algas rojas, que contienen manano y xilano (Rupérez y Saura-Calixto, 2001).

Las cenizas representan del 21 al 39,8% del peso total del alga; los componentes sulfatados rondan valores de 2,8 a 10,5%. Los lípidos y polifenoles corresponden a los componentes minoritarios de las algas. El contenido de lípidos es sumamente pequeño (0,2 a 0,5%), a excepción de *Fucus*, que contienen un valor de 2,5%. La fracción extraída de polifenoles en algas también es baja, y toma valores del 0,4% del peso seco del alga (Rupérez y Saura-Calixto, 2001).

Los Componentes Biológicamente Activos (BACs siglas del inglés Biological Active Compounds) propios de las algas, tales como manitol, yodo, nitrógeno, vitaminas y antioxidantes entre otros, poseen propiedades físico-químicas únicas, junto a un conjunto de propiedades farmacológicas ampliamente empleadas en el área de medicina, farmacia, biotecnología, cosmetología y en la industria alimenticia. Cualitativa y cuantitativamente estos componentes activos en algas pardas pueden variar en función de múltiples factores, tomando como primordial la especie a la cual pertenece y la temporada en la cual es cosechada (Obluchinskaya, 2008; Usov y col., 2001-2005). Las

algas contienen prácticamente todas las vitaminas, a pesar de las grandes variaciones estacionales. El interés principal reside en los niveles de provitamina A (algas rojas), vitamina C (pardas o verdes) y vitamina E (pardas). En general, hay una gran presencia de vitaminas del grupo B (especialmente B2 y B3), con una peculiaridad en el caso de la vitamina B12: las algas contienen una proporción significativa, a diferencia de las plantas terrestres, en las que no está presente (Bourgougnon y col., 2011).

Las algas pardas poseen componentes cuyas estructuras difieren de las encontradas en algas verdes y rojas o en las plantas terrestres. El manitol y los 1,3; 1,6- β -D-glucanos de peso molecular comparativamente bajo actúan como material de reserva en las mismas. Las sales derivadas de ácido alginico (alginatos) y los polisacáridos sulfonados complejos son sintetizados y empleados en las paredes celulares y en el espacio intercelular. Estos últimos exhiben un amplio espectro de actividad biológica. Las relaciones estructura-actividad de los polisacáridos son bastante difíciles de establecer porque sus estructuras son heterogéneas, irregulares, ramificadas y altamente sulfonadas (Sokolova y col., 2011; Usov y col., 2001-2005).

1.1.2 Diferentes usos de algas marinas

Por fuera del empleo de las algas como un recurso comestible en humanos, se las usa para diversas aplicaciones en diferentes campos:

- Como agregado al suelo; esta es una práctica que parece ser promisorio ya que las algas liberan más lentamente el nitrógeno que los fertilizantes de granja, son ricas en microelementos y no traen semillas de malezas. Para este procedimiento se emplean aquellas algas que llegan a las costas luego de las tormentas, principalmente *Fucales* y *Laminariales*, están disponibles en grandes cantidades sobre las playas y son frecuentemente utilizadas en la preparación de dichos fertilizantes. Las algas pardas contienen todos los macro y micronutrientes que necesitan las plantas terrestres, así como alginatos que mejoran las propiedades físicas de los suelos, y también vitaminas, fitohormonas, compuestos antioxidantes, manitol, fucoidina, laminarina y fenoles (Zaixso y Boraso, 2015). Otra de las aplicaciones de algas en suelos es el empleo de las mismas para neutralizar los suelos ácidos. Para ellos se han utilizado algas rojas coralinaáceas ("maerl") y algas verdes, producto de la eutrofización de ecosistemas costeros, como agregado de materia orgánica.
- Las algas verdes del grupo de las *Ulvales* y afines, especialmente *Ulva* y *Enteromorpha*, han sido aprovechadas comercialmente para la producción de harinas para la alimentación de aves, por su contenido en carotenos. Aunque el consumo de *Ulvales* en alimentación humana no es muy elevado, son fácilmente aceptadas en localidades donde el uso de algas en alimentación no es tradicional, como es el caso del Uruguay, donde se consume *Ulva* en algunas localidades costeras (Borasó y col., 2004). En las dietas para vacas lecheras suelen utilizarse crucíferas y trébol que producen glucosinolatos, los que interfieren con la transferencia de yodo a la leche. El uso más frecuente de algas para alimentación animal se ha realizado en Europa (Zaixso y Boraso, 2015). El aprovechamiento de las macroalgas en la elaboración de alimentos balanceados para ganado vacuno, ovino, porcino, equino y en aves, ha sido ensayado con éxito en muchos casos.

La proporción en que se emplean las algas en la elaboración de estos alimentos es de alrededor del 5% y el mejoramiento que producen se traduce en incrementos de la cantidad de leche, calidad de huevos, color de lanas, etc (Ferrario y Sar, 1995). En la mayoría de estos casos, las algas son empleadas para alimento debido a su alto contenido de minerales o debido a las propiedades funcionales de sus hidrocoloides. Las algas rara vez son consumidas debido a su valor proteico (Fleurence, 1999).

- Las algas han sido usadas durante años en el ámbito farmacológico, el cual sigue vigente en Oriente. A pesar de que se comercializan en Argentina varios productos farmacológicos importados con base en algas marinas, predominantemente importado, y debido a que existe una apreciable cantidad de trabajos en el país dirigidos a evaluar la acción farmacológica de algas marinas, las mismas no han sido utilizadas hasta el presente para la confección local de medicamentos (Zaixso y Boraso, 2015).

Utilización de algas marinas como alimentos en humanos

Los pueblos orientales, tales como China, Japón y la República de Corea, tienen una larga tradición en el consumo directo de algas como alimento humano, que data, según algunos autores, del siglo X antes de Cristo. Desde que personas pertenecientes a estos países han ido migrando a diversas zonas del planeta, la costumbre de su consumo ha ido incorporándose a otras sociedades, de modo que para la fecha actual son muchos los países y comunidades que las han adoptado como propias. Se ha visto que habitantes de regiones costeras tropicales, de países tales como Indonesia y Malasia, han consumido este producto en sus dietas, sobre todo como acompañamiento en ensaladas (FAO, 2001; FAO, 2002).

En los años posteriores al comienzo del nuevo milenio, se presentó un gran movimiento en el área culinaria en Francia. Este movimiento introdujo las algas en la cocina Europea con una perspectiva muy diferente a las que los países asiáticos presentaban hasta la fecha; para Europa las algas representaban un elemento exótico en la cocina, en contraposición al concepto asiático de alimento básico en la dieta. Posteriormente se vio una gran aceptación en la incorporación de algas en países con grandes comunidades orientales, tales como Canadá y Hawaii (FAO, 2002; FAO, 2003). En la Figura 1 pueden apreciarse algunos ejemplos de productos a base de algas.



Figura 1. Ejemplos de productos a base de algas: (a) algas frescas de la compañía GLOBEXPLORE; (b) preparado a base de algas con otros encurtidos también de GLOBEXPLORE.

En la actualidad, algunos países y regiones, como Irlanda e Inglaterra, presentan un interés en la reincorporación de algas a sus dietas, sobre todo desde que las algas se consideran productos naturales crecidos orgánicamente en un medioambiente limpio y seguro, lo que es, cada vez, más solicitado por los consumidores en todo el mundo. Otros países occidentales las han ido incorporando como parte de dietas naturistas (FAO, 2001; FAO/WHO, 2001).

Entre las algas de mayor consumo en la dieta humana encontramos las algas rojas y las pardas; las primeras son muy utilizadas en Japón, China y Corea, donde se consumen deshidratadas o levemente procesadas. Entre las especies de algas rojas más consumidas encontramos *Gracilaria*, *Chondrus*, *Euclima*. Las algas pardas más usadas son *Laminaria*, *Macrocystis*, *Nereocystis*, las cuales se incluyen en la dieta de estos pueblos en forma cruda, como espesantes de dulces, como materia prima para infusiones, molidas como condimentos, etc. Las especies de *Ulva* y *Monostroma* (ambas pertenecientes a la categoría de algas verdes) son todas potencialmente comestibles, *Protomonostroma undulatum* posee excelente sabor y aroma para consumo humano. *Durvillaea antarctica* es usada en alimentación en el sur de Chile y Argentina, combinada con vegetales en sopas y guisos, reemplazando a la carne. Desafortunadamente, en la costa de Argentina esta especie crece solo abundantemente en algunos puntos de difícil acceso. Entre las algas comestibles nativas, la más utilizada en Argentina es el alga roja *Porphyra columbina*, comercializada como "luche" en el sur de Chile y de Argentina (Zaixso y Boraso, 2015).

En general, las algas que se utilizan en alimentación (como productos enteros) son sometidas a procesos de conservación por secado o dispuestas en forma de conservas, y solamente en las islas del Pacífico se mantiene la costumbre de consumir frescas algunas especies por el fácil acceso a las mismas por parte de las comunidades humanas litorales (Zaixso y Boraso, 2015). Dentro del capítulo XVIII del Código Alimentario Argentino (CAA) se establece el uso de muchos de los extractos de algas, bajo la denominación de 'aditivos alimentarios', según los artículos 1391 a 1396.

1.2 Proteínas cárnicas

Entre los principales sistemas proteicos alimenticios podemos mencionar el sistema proteico muscular (es decir de origen animal) como uno de los más estudiados. En su aspecto anatómico la carne y los filetes de pescado corresponden a los músculos. Es a nivel de tejido muscular donde la energía química se transforma en trabajo mecánico. Desde el punto de vista alimenticio, se considera que algunas propiedades organolépticas tales como la textura, el comportamiento frente a la cocción o a la conservación, la pérdida de líquidos de la carne o pescado, están estrechamente ligados a la estructura proteica del músculo y a las reacciones bioquímicas que sobre él se realizan.

Los músculos se clasifican, generalmente, en función de su estructura; se distinguen así los músculos estriados (que constituyen entre el 30 y el 40% de la masa de un animal, entre músculos del esqueleto y cardíacos) y los músculos lisos (que están presentes en las paredes de los vasos sanguíneos e intestino). La *carne* corresponde a los músculos estriados (Cheftel y col., 1989). Si consideramos la anatomía de este sistema, el músculo está rodeado de una membrana de tejido conjuntivo denominado

epimisium. Desde la cara interna de esta membrana se encierra el conjunto de fibras musculares, a cuya estructura se le adhieren los vasos sanguíneos y los nervios. Cada fibra muscular está rodeada de una vaina flexible denominada *endomisium*; la cual está en contacto estrecho con el *sarcomela*, que constituye la membrana externa de la fibra.

La fibra muscular es una célula gigante (Figuras 2 y 3), cuya longitud varía desde un milímetro a varios centímetros y de 10 a 100 μm de diámetro; contiene un centenar de cuerpos filamentosos orientados paralelamente al eje de la fibra y cuyo diámetro es en torno a 1 μm : las *miofibrillas*. El citoplasma fibrilar, o *sarcoplasma*, en el cual están enmarcadas las miofibrillas, contiene los núcleos y las mitocondrias, junto con el ATP, creatinina, hemoglobina, entre otras. Cada miofibrilla está rodeada por el *retículo sarcoplásmico* que comunica con el sarcolema, lo que permite la transmisión del flujo nervioso. La observación microscópica de una miofibrilla, confirma una sucesión de estructuras estriadas alternadas (oscuras y claras), cuya unidad es el *sarcómero*. El conjunto de estas estructuras se condensa en cada una de sus extremidades en tendones y aponeurosis que están unidas al esqueleto (Cheftel y col., 1989; López-Bote, 2017).

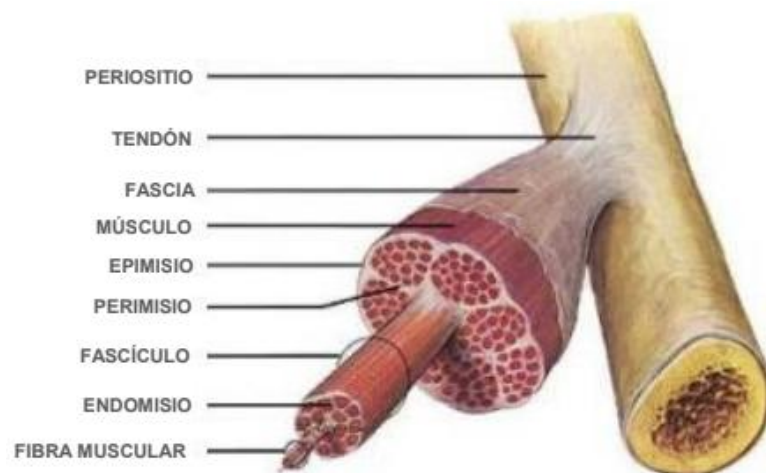


Figura 2. Esquema de un músculo esquelético. Figura obtenida de Saavedra y Domínguez, 2014.

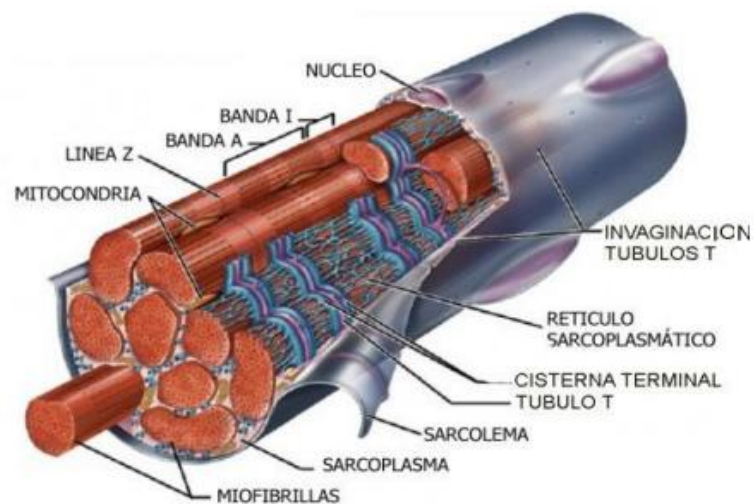


Figura 3. Estructura de una fibra muscular. Figura obtenida de Saavedra y Domínguez, 2014.

El músculo contiene de 55 a 78% de agua, de 15 a 22% de proteínas, de 1 a 15% de lípidos, de 1 a 2% de glúcidos y en torno al 1% en sales minerales (esta es la composición química del músculo de un mamífero adulto típico luego del rigor mortis y previo a los cambios degradativos posmortem). Estas cifras indican que las proteínas representan del 50 al 95% de la materia orgánica de la carne. Las proteínas musculares pueden clasificarse en función de su localización; así es posible distinguir proteínas sarcoplásmicas, proteínas del tejido conjuntivo y proteínas de las miofibrillas (Cheftel y col., 1989; López-Bote, 2017). En la primera clasificación podemos encontrar proteínas como la mioglobina, hemoglobina, enzimas mitocondriales y proteínas solubles, citocromo y flavoproteínas. Las proteínas del estroma están compuestas por colágeno (tipo I y reticulares), elastina y proteínas insolubles. Dentro de las proteínas miofibrilares (MP) podemos encontrar la miosina, actina, tropomiosina, troponinas, proteínas M, proteínas C, α - y β - miosinas (Cheftel y col., 1989). Sobre las proteínas miofibrilares es que se desarrolla este estudio de investigación.

1.2.1 Proteínas miofibrilares

Estructura y composición de las proteínas miofibrilares

Las proteínas miofibrilares representan más del 50% de las proteínas totales del músculo (Figura 2 y 3). Su solubilidad es inferior a las proteínas sarcoplasmáticas, pero superior a las proteínas del estroma. Son casi siempre solubles en soluciones salinas de baja fuerza iónica ($\mu \approx 0,6$), pero aproximadamente la mitad de ellas son extraíbles en medio acuoso. Su proporción en el músculo aumenta durante el desarrollo pre y postnatal, y son las que le confieren a las células musculares su propiedad contráctil. En tecnología alimenticia, estas proteínas influyen en las cualidades culinarias y comerciales de las carnes dado que son responsables de la capacidad de retención de agua (WHC), de las propiedades emulsionantes y en menor grado de la blandura de una carne. Además estas proteínas contienen cantidades importantes de aminoácidos esenciales (Cheftel y col., 1989; Battaner Arias, 2012).

Entre las proteínas miofibrilares contráctiles encontramos la miosina y actina, y entre las proteínas reguladoras de la contracción están la tropomiosina, troponina, α - y β -actinina, proteína M y proteína C. Esquemáticamente parece que las miofibrillas están compuestas de filamentos delgados y gruesos enlazados regularmente los unos con los otros. Los filamentos gruesos son de 12 a 16 nm de diámetro, y los delgados de 6 a 8 nm. La miosina representa en torno al 95% de las proteínas de filamentos gruesos y la proteína C un 5%. Los filamentos delgados están compuestos de actina, tropomiosina, y β -actinina y están unidos a la estría Z que tiene una estructura transversa compuesta de α -actinina, tropomiosina y actina. La estría M es una estructura transversa situada en el centro de los filamentos gruesos y está constituida por la proteína M (Figura 4). La observación al microscopio electrónico de un corte transversal permite demostrar una estructura altamente organizada. En los músculos de mamíferos cada filamento está rodeado de seis filamentos delgados y cada filamento delgado de tres filamentos gruesos.

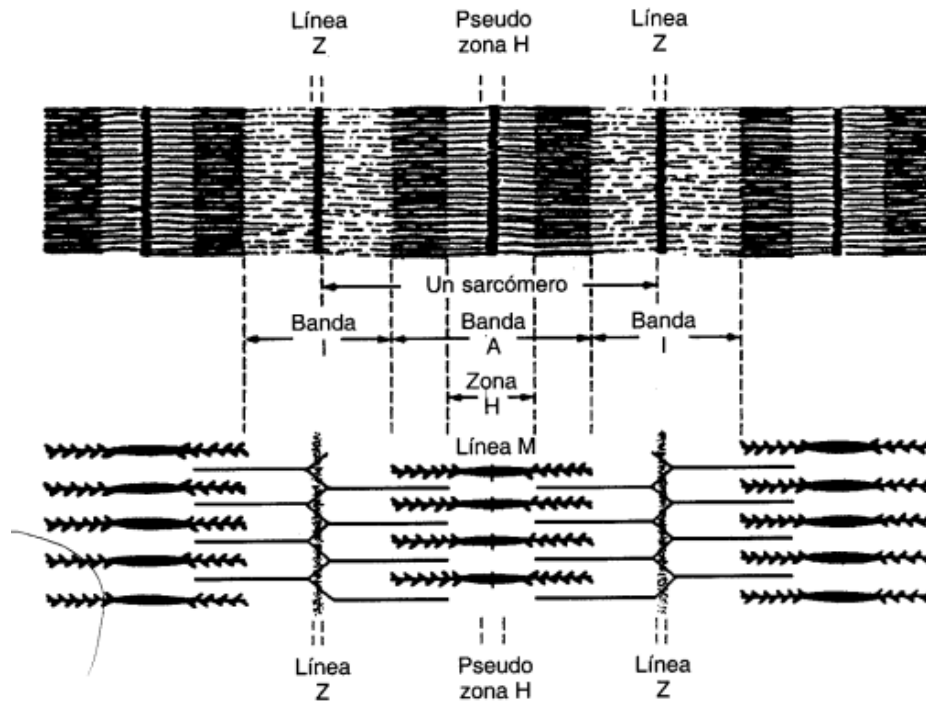


Figura 4. Fibra muscular estriada en corte longitudinal. La banda I está formada solamente por filamentos delgados. La banda A es más oscura donde está formada por el solapamiento de los filamentos gruesos y los delgados y más clara en la zona H, donde está formada sólo por filamentos delgados. La línea M se debe a una protuberancia en el centro de cada filamento grueso y la pseudo zona H es una región desnuda a ambos lados de la línea M. Figura obtenida de Saavedra y Domínguez, 2014.

Esta estructura, altamente organizada, tiene un importante papel tecnológico; en efecto, del 70 al 95% del agua presente en el músculo corresponde al agua “aprisionada” en los espacios entre los filamentos proteicos de la miofibrilla.

La molécula de miosina contiene seis subunidades, su parte cilíndrica tiene una longitud de unos 120 nm y un diámetro 1,5 nm, y su “cabeza” es de estructura elipsoidal y mide 15 nm de longitud y 4,5 nm de diámetro. El 55% de la cadena polipeptídica presenta una estructura α -helicoidal. La molécula contiene alrededor de 40 grupos sulfhidrilo, pero sin uniones disulfuro. Bajo la acción de la tripsina la molécula se escinde en dos partes, la meromiosina pesada y la ligera. La primera, comprende la cabeza de la molécula de miosina, es soluble en agua, presenta una actividad ATPásica y la propiedad de fijar la actina pero no forma filamentos. La meromiosina ligera es insoluble en agua, soluble en soluciones de fuerza iónica igual o superior a 0,3 y su estructura es casi en su totalidad α -helicoidal. Esta parte de la molécula de miosina puede formar filamentos y las interacciones entre moléculas son, fundamentalmente, de naturaleza iónica.

La actina, bajo su forma monomérica contiene una sola cadena polipeptídica de estructura terciaria globular (G-actina). Esta molécula de G-actina tiene unida una molécula de ATP y un ión Ca^{+2} . En condiciones bien determinadas (concentraciones de iones Ca^{+2} o Mg^{+2} superiores a 1 mM, o concentraciones de sales monovalentes comprendidas entre 50 y 500 mM), la G-actina polimeriza en F-actina. Los filamentos se enrollan en doble hélice, con 13 monómeros por giro y filamento. Durante la

polimerización, el ATP asociado a la G-actina se hidroliza en ADP y en un fosfato inorgánico, quedando asociado al monómero.

Las troponinas están distribuidas periódicamente y espaciadas a lo largo de la F-actina. Existen tres tipos llamadas troponina T, I o C; la troponina T está ligada reversiblemente a la tropomiosina; la troponina I está ligada a la vez a la troponina T, a la troponina C y débilmente a la actina, se sabe que inhibe la actividad ATPásica; la troponina C posee cuatro sitios de fijación de los iones Ca^{+2} y puede ligarse a las troponinas T e I. La fijación de iones Ca^{+2} sobre la troponina motiva el desplazamiento de la tropomiosina a lo largo de toda la estructura helicoidal de la actina. Esto permite la liberación de los sitios de fijación de las “cabezas” de la miosina sobre la actina.

La tropomiosina contiene dos cadenas polipeptídicas de estructura α -helicoidal. Esta molécula está asociada a dos filamentos de F-actina, enganchados de los extremos por interacciones iónicas. Cada molécula de tropomiosina posee un sitio de fijación para la troponina T al nivel de su único residuo de cisteína.

1.2.2 Estabilidad conformacional y desnaturalización de las proteínas

La estabilidad de la estructura de una proteína nativa es función del número de interacciones no covalentes y puentes de hidrógeno que se dan en la misma, y se expresa mediante la diferencia neta entre las energías libres del estado nativo y del estado desplegado (desnaturalizado) de la proteína (Ec. 1):

$$\Delta G_{\text{DN}} = \Delta G_{\text{H}} + \Delta G_{\text{ele}} + \Delta G_{\text{H}\phi} + \Delta G_{\text{vdW}} - T\Delta S_{\text{conf}} \quad (1)$$

donde ΔG_{H} , ΔG_{ele} , $\Delta G_{\text{H}\phi}$ y ΔG_{vdW} son los cambios en la energía libre para las interacciones por puentes de hidrógeno, electrostáticas, hidrofóbicas y de van der Waals, respectivamente, ΔS_{conf} es el cambio en la entropía conformacional del polipéptido y T es la temperatura absoluta (Romero García, 2008).

Para la mayoría de las proteínas, independientemente de su tamaño, el valor de ΔG_{DN} oscila entre 10 y 20 Kcal/mol; lo que indica que, a pesar de la gran cantidad de interacciones que ocurren en las moléculas de proteína, no son demasiado estables, pudiendo cambiar la conformación fácilmente cuando se rompen unos pocos enlaces (Romero García, 2008).

El bajo valor de ΔG_{DN} hace que cualquier cambio en el entorno de la proteína (pH, fuerza iónica, temperatura, naturaleza del disolvente) pueda producir cambios en la conformación de la proteína. Estos cambios conformacionales afectan a las funciones biológicas de las enzimas y a las propiedades funcionales de las proteínas alimentarias. La desnaturalización produce la pérdida de la actividad en las enzimas y, normalmente, la insolubilización y pérdida de algunas propiedades funcionales en las proteínas alimentarias. En ocasiones, es deseable la desnaturalización parcial de las proteínas alimentarias, puesto que aumenta su digestibilidad y mejoran algunas propiedades funcionales, como la capacidad espumante o emulsionante (Romero García, 2008).

La desnaturalización de la proteína puede ser causada por diferentes agentes, como el calor, presencia de sales, presión, fuerzas interfaciales, cizalla mecánica, valores de

pH extremos, tensioactivos y disolventes orgánicos. El calor y la presión son los agentes desnaturalizantes más comunes en el procesado alimentario (Romero García, 2008; Battaner Arias, 2012).

La estabilidad estructural de las proteínas se mantiene principalmente por interacciones no covalentes, como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y de van der Waals. Además, las proteínas que tienen una alta estabilidad estructural en sistemas biológicos contienen normalmente puentes de azufre, puesto que éstos reducen la tendencia a desdoblarse de la cadena polipeptídica. Los puentes de azufre se forman cuando dos residuos de cisteína se encuentran lo suficientemente próximos entre sí con la orientación adecuada. La presencia de puentes de azufre intramoleculares en la estructura de una proteína contribuye a su resistencia a la desnaturalización térmica y a su desdoblamiento bajo condiciones de cizalla, como las utilizadas en la emulsificación (Romero García, 2008; Battaner Arias, 2012).

Los puentes de hidrógeno aparecen predominantemente en las estructuras secundarias (hélice- α y lámina- β) de la cadena polipeptídica. Los puentes de hidrógeno entre segmentos ocurren predominantemente entre los residuos de glutamina y asparagina. Las interacciones electrostáticas entre grupos cargados de signo opuesto son de gran importancia en la termoestabilidad de las proteínas, y dependen en gran medida del pH y la fuerza iónica (Romero García, 2008).

Las interacciones hidrofóbicas son las interacciones no covalentes que mayor contribución suponen a la estabilidad conformacional de las proteínas. Al contrario que los puentes de hidrógeno y las interacciones electrostáticas, las interacciones hidrofóbicas se encuentran favorecidas por el aumento de la temperatura y la entropía; la fuerza de este tipo de interacciones aumenta con la temperatura hasta los 100°C aproximadamente (Privalov y col., 1986).

Influencia de tratamientos tecnológicos en las proteínas miofibrilares

Entre los tratamientos tecnológicos de mayor influencia en este sistema, se encuentra la influencia de la temperatura, la de la congelación, la deshidratación y el estudio de los efectos de la estimulación eléctrica (Cheftel y col., 1989).

Durante el calentamiento intervienen numerosas modificaciones sobre las proteínas musculares, algunas se traducen por un aumento de la dureza, pero otros, por el contrario, por una mayor blandura. Así la carne de mamíferos superiores presenta un endurecimiento entre los 40 y 55°C por desnaturalización del sistema contráctil, y entre 65 y 70°C una retracción del colágeno. Pero además, la cocción afecta a la carne en otras tres fases, hasta los 65°C la miofibrilla se proteoliza parcialmente lo que motiva la aceleración del fenómeno de maduración; a partir de los 70°C el colágeno se desnaturaliza y pasa a estar en solución; por encima de los 100°C las miofibrillas sufren hidrólisis no específicas. Este proceso de calentamiento va generalmente acompañado de un aumento de pH (Cheftel y col., 1989; Battaner Arias, 2012).

La mayor parte de las proteínas sarcoplasmáticas se desnaturalizan y forman agregados entre 40 y 60°C. Las proteínas miofibrilares presentan una disminución de la solubilidad entre los 40 y 60°C, debido a que se produce un desplazamiento de las cadenas polipeptídicas que se asocian y coagulan. Con temperaturas superiores a 75°C,

se producen reacciones de desulfuración con formación de sulfuro de hidrógeno. Como consecuencia significativa, el aumento de la temperatura produce una disminución en la capacidad de retención de agua de las proteínas miofibrilares. Cerca de los 90°C puede apreciarse el desarrollo de reacciones de Maillard, que conjuntamente con las reacciones de pirólisis de los glúcidos, contribuyen al oscurecimiento de las carnes (Cheftel y col., 1989; Battaner Arias, 2012).

La congelación es un método excelente para la conservación de carnes, sin embargo, va acompañada de un deterioro de sus calidades. Esto se debe a los daños que sufren las proteínas, generalmente debido a la pérdida de agua durante el proceso de descongelación, que lleva a la desnaturalización de las mismas. Existe también un proceso de desnaturalización proteica durante la congelación del sistema, esto se debe a que el agua libre comienza el cambio de estado alrededor de los -1,5°C, lo que produce una solución cada vez más concentrada en solutos; esta solución aumenta su concentración de solutos gradualmente, lo que provoca que su punto de fusión siga disminuyendo. En el punto eutéctico la solución está saturada, y el soluto y el agua solidifican conjuntamente. El aumento de solutos e iones (junto con el cambio de pH provocado por el mismo suceso) durante este proceso provoca que las proteínas sufran cambios conformacionales (Cheftel y col., 1989).

A pesar de esto, prácticamente, no hay modificación en la extractabilidad de la actomiosina de la carne congelada y almacenada a -30°C, pero por el contrario, en la conservada entre -1,5 y 20°C, la actomiosina se hace más difícilmente extraíble. Esto está vinculado a la despolimerización de actomiosina en G-actina y en miosina en un medio de fuerza iónica elevada, ya que ambas proteínas forman agregados insolubles. Se ha observado también, que en estas condiciones, la actomiosina genera agregados con los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis enzimática de los lípidos (Cheftel y col., 1989). Este efecto se ve favorecido por una congelación lenta; en cambio en condiciones de congelación rápida, se forman numerosos cristales de hielo y son mínimas las migraciones de agua, por lo que la desnaturalización de proteínas resulta mínima (Cheftel y col., 1989).

La deshidratación va unida a una disminución de su capacidad de retención de agua después de la rehidratación y un endurecimiento de su textura. Esto es resultado de las interacciones entre las moléculas de actomiosina por medio de numerosas uniones salinas (Cheftel y col., 1989; Battaner Arias, 2012).

Capacidad de emulsificación y formación de espumas

Las propiedades en cuanto a textura de un alimento dependen del tamaño, forma y distribución de las partículas coloidales que lo componen. Muchos alimentos se presentan en forma de emulsiones o espumas, que son sistemas bifásicos en los que una de las fases (oleosa o gaseosa, o ambas) se encuentra dispersa en una fase continua. Debido a que las interfases aceite/agua y aire/agua poseen una energía muy alta, las emulsiones y las espumas se desestabilizan tan pronto como se forman, a menos que se añada un agente emulsionante o espumante. Su estabilidad frente a la separación de fases durante el almacenamiento depende del tipo de emulsionante o espumante presente en las interfases. Este agente (tensioactivo o proteína) gracias a su naturaleza anfifílica se adsorbe y orienta con los grupos lipofílicos hacia la fase apolar y

los grupos hidrófilos hacia la fase acuosa. Esta disposición produce una disminución de la tensión interfacial, lo que facilita la formación continua de interfase conforme el sistema aceite-agua o gas-agua se va mezclando. En general, los alimentos son sistemas multifásicos compuestos de proteínas, polisacáridos, grasas, agua, otros nutrientes menores y aditivos. En función de su concentración relativa y límites de solubilidad, y de la limitada compatibilidad termodinámica existente, los lípidos y macromoléculas aparecen generalmente como partículas y agregados coloidales (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986; Romero García, 2008).

El estado multifásico de los alimentos se debe principalmente a la incompatibilidad termodinámica entre sus componentes principales. Las grasas tienden a formar una fase separada a causa de su interacción desfavorable con el agua. Debido a la tendencia de los principales componentes alimentarios a separarse en diferentes fases, especialmente en líquidos, los coloides alimentarios son inherentemente inestables. Las capacidades de emulsificación, espumado y batido son requisitos funcionales primarios en varias proteínas alimentarias. Las propiedades tensioactivas están relacionadas con la capacidad de las proteínas para reducir las tensiones interfaciales entre los componentes hidrofóbicos e hidrofílicos en un alimento, y esta función refleja la composición y conformación de las proteínas. Generalmente, las propiedades surfactantes están asociadas con la solubilidad de las proteínas en fases acuosas (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986; Romero García, 2008). Algunos estudios realizados por Meyer y col. (1964) y Townsend y col. (1968) sugieren que las proteínas miofibrilares parecen formar una membrana estabilizadora alrededor de las gotas de grasa.

Las proteínas espumantes ideales tienen la capacidad de formar membranas extendidas alrededor de las gotas de aire, de sufrir cierto grado, quizás crítico, de desnaturalización espontánea (que estabiliza la espuma y forma la estructura de la espuma) y, en casos específicos, de coagularse sobre calentamiento (cocción), conservando así la estructura original de la espuma. Esto puede contribuir al aumento de la viscosidad observado tras la formación de la misma (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986).

1.3 Los hidrocoloides

Los hidrocoloides son polímeros de cadenas largas y alto peso molecular, que se solubilizan en agua proporcionando un efecto espesante (Tiwari y Troy, 2015). Un hidrocoloide o goma puede ser definida en sentido amplio, como cualquier polisacárido soluble en agua, que puede ser extraído a partir de vegetales terrestres o marinos, de microorganismos, o de origen animal. Gomas vegetales de uso generalizado son las galactomananas de las semillas de guar y locuste (*Ceratonia siliqua*), los exudados como la goma arábiga y el tragacanto, y las de las algas como las carrageninas y los alginatos. Todos ellos son muy utilizados en el procesamiento de muchos alimentos. Las gomas realizan al menos tres funciones en el procesamiento de los alimentos: emulsificantes, estabilizantes y espesantes. Además, algunas también son agentes gelificantes, formadoras de cuerpo, agentes de suspensión y aumentan la capacidad para la dispersión de gases en sólidos o líquidos (Siccha y Lock de Ugaz, 1992; Tiwari y Troy, 2015).

Los hidrocoloides se comercializan generalmente en forma de polvo y, para realizar una efectiva hidratación, es imperativo asegurarse de que cada unidad forme una partícula individual con el agua, lo cual previene la formación de grumos o aglomerados (Siccha y Lock de Ugaz, 1992; Tiwari y Troy, 2015).

Los hidrocoloides se pueden agrupar en tres categorías principales: hidrocoloides naturales, hidrocoloides semisintéticos e hidrocoloides sintéticos. Entre los primeros podemos encontrar exudados de plantas, tales como la arábica, tragacanto, karaya y ghatti, entre otras; las provenientes de semillas de plantas, como la garrofín, o la guar; aquí mismo encontramos los extractos de algas marinas, entre los cuales se enumeran el agar, los alginatos y la carragenina; luego encontramos los almidones y los subproductos vegetales, tales como la pectina y el arabinogalactano; por último podemos enumerar aquellos productos de origen animal, tales como la gelatina, la albúmina y caseína. Entre los hidrocoloides semisintéticos encontramos los derivados de la celulosa, tales como la carboximetilcelulosa (CMC), la metilcelulosa, o la hidroxipropilcelulosa; las gomas de fermentación microbiano, como la xantana y el gelano; entre los almidones modificados están el carboximetil almidón e hidroxipropil almidón; por último en este grupo, podemos considerar aquellos extraídos naturalmente y modificados luego químicamente, tales como el alginato de propilenglicol (PGA) y pectina metoxilada. Por último, en el grupo de los hidrocoloides sintéticos se encuentran los polímeros vinílicos, tales como polivinilalcohol (PVOH) y polivinilpirolidina (PVP); y los polímeros de óxido de etileno como el polyox (Tiwari y Troy, 2015; Rodríguez Sandoval y col., 2003).

1.3.1 Variedad y composición de hidrocoloides presentes en algas

Entre las algas pardas (*Phaeophyceae*) que se encuentran en la región de la patagonia Argentina, podemos encontrar las *Ectocarpales* (tal como *Hincksia granulosa*) que comprenden formas pequeñas, filamentosas, frecuentemente epífitas, de color pardo claro; las *Sphacelariales* (*Halopteris funicularis*, *Sphacelaria*, *Cladostephus*) de talos filamentosos, desde pequeños hasta de unos 15 centímetros de alto, muy ramificados; las *Dictyosiphonales* que abarca una gran cantidad de formas variadas, desde filamentosas hasta laminares, cilíndricas o en forma de vesículas (*Adenocystis utricularis*); del orden *Dictyotales* (*Dictyota dichotoma*); las *Chordariales* (*Ralfsia australis*, *Myriogloia major*) se caracterizan por crecer a través de numerosos filamentos formado tejidos laxos, los que mantienen algo de cohesión por medio de sustancias gelatinosas; las *Desmarestiales* comprenden algas asexuales (esporofitos) generalmente grandes, muy ramificadas que alternan con gametofitos microscópicos (*Desmarestia ligulata*); del orden *Scytosiphonales* son algas laminares, cilíndricas o esféricas, con gametangios pluriloculares, que suelen alternar con la generación asexual en forma de costra (*Scytosiphon lomentaria*, *Petalonia fascia*, *Colpomenia sinuosa*); las *Laminariales* (*Lessonia vadosa*, *Macrocystis pyrifera*, *Undaria pinnatifida*) comprenden a especies con esporofitos muy grandes y gametofitos microscópicos, las que integran comunidades submareales donde viven y se refugian infinidad de organismos; las del orden *Sporochneales* son una adición reciente a la flora de la Patagonia por introducción involuntaria (*Sporochneus pedunculatus*); las *Durvilleales* (*Durvillaea antarctica*) propias de la zona austral, se parecen externamente a la *Laminarial* pero difiere en su constitución anatómica interna, en el ciclo de vida y en el tipo de reproducción (Boraso y col., 2004).

Las algas pardas y rojas presentan, entre los principales constituyentes estructurales de sus paredes celulares, ciertas sustancias que tienen capacidad de formar geles en soluciones acuosas. Entre ellas cabe mencionar al ácido alginico y sus sales, en las algas pardas, y al agar-agar y carragenano en las algas rojas (Ferrario y Sar, 1995). Se conoce que los alginatos extraídos de algas jóvenes están mayormente compuestos de residuos de ácido manurónico, lo cual presenta varias especies de algas diferentes. En contraposición, los tejidos de mayor madurez presentan acumulación de alginatos con alta o baja concentración de ácido glucónico, que es responsable de las diferencias de especies bien conocidas en la composición y propiedades de los alginatos (Usov y col., 2005).

Las algas marinas se clasifican en 4 grupos principales en función de sus pigmentos, a saber, rojo, marrón, azul y verde azulado; sólo las algas rojas y marrones son fuentes importantes de hidrocoloides. Los hidrocoloides derivados de algas comúnmente utilizados se denominan alginato, agar y carragenina (el primero se desarrolla en la próxima sección, mientras que los últimos dos tienen su espacio en este punto), que se extraen principalmente de géneros y especies seleccionados de algas pardas (*Phaeophyceae*) y rojas (*Rhodophyceae*). Sin embargo, existen otros hidrocoloides de algas, que son menos significativos pero que vale la pena mencionar además de los hidrocoloides de algas comunes (alginato, agar y carragenina) como fucoidan, laminarin, manitol y funoran. Actualmente, algunos de ellos, como el fucoidan, también han sido reconocidos como uno de los compuestos de polisacáridos bioactivos de algas marinas más intensamente estudiados (Abdul Khalil y col., 2018).

La importancia y utilidad de los hidrocoloides se fundamenta en sus propiedades funcionales (la estabilización, el espesamiento y la gelificación). Estas propiedades se deben principalmente a las interacciones de los polisacáridos con el agua, encontrándose dos aplicaciones diferentes: como espesantes por la retención de agua o como gelificantes por la construcción de una red tridimensional macroscópica de cadenas interconectadas, dentro de la cual se conserva un sistema acuoso. Las investigaciones más novedosas en los hidrocoloides se enfocan principalmente en las interacciones y efectos que presentan estas moléculas con un componente de un sistema o con un sistema alimenticio en particular (Rodríguez Sandoval y col., 2003).

La carragenina fue descubierta por el farmacéutico británico Stanford en el año 1862, quien la extrajo del musgo irlandés (*Chondrus crispus*). La carragenina se puede extraer de varias especies de algas rojas, incluidas *Kappaphycus*, *Gigartina*, *Eucheuma*, *Chondrus* e *Hypnea*, en las cuales representa hasta el 50% del peso seco. *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma denticulatum* y *Betaphycus gelatinae* son las algas rojas más importantes para la producción comercial de carragenina. La fuente original de este hidrocoloide procedía del alga roja salvaje *Chondrus crispus*, que se sigue utilizando hasta el día de hoy, pero en cantidades limitadas. La creciente demanda de la materia prima a lo largo del tiempo condujo a la introducción de especies de cultivo originalmente *E. cottonii* y *E. spinosum*, ahora denominadas *Kappaphycus alvarezii* y *Eucheuma denticulatum*, respectivamente. Entre todos los hidrocoloides de uso común (agar, alginato), la carragenina es la más difícil de caracterizar porque diferentes especies de algas rojas poseen diferentes tipos y composiciones de esta (Abdul Khalil y col., 2018).

La denominación de carragenina incluye todos los polisacáridos lineales sulfatados de D-galactosa y 3,6-anhidro-D-galactosa, extraídos de numerosas especies de algas marinas rojas de la clase *Rhodophyceae*, que consiste principalmente en sales de potasio, sodio, magnesio y calcio de ésteres sulfatados de galactosa y copolímeros de 3,6-anhidro galactosa (Abdul Khalil y col., 2018). Existen tres tipos de mayor importancia en la industria, la denominada kappa, iota y lambda carragenina, según el número y la posición de los grupos sulfato en las unidades repetitivas. Las dos primeras son empleadas usualmente como gelificantes mientras que la última es usada mayormente como espesante (Siccha y Lock de Ugaz, 1992; Rodríguez Sandoval y col., 2003). Las carrageninas son solubles en agua caliente (generalmente a 70°C), mientras que en agua fría sólo es soluble la lambda carragenina. Se ha encontrado que las carrageninas son solubles también en leche caliente, pero tienden a gelificar durante su enfriamiento. La kappa e iota carragenina forman geles prácticamente reversibles bajo calentamiento y enfriamiento de soluciones acuosas (Rodríguez Sandoval y col., 2003).

Hoy en día, la kappa-carragenina se extrae principalmente de *Kappaphycus alvarezii*, mientras que la iota-carragenina se produce principalmente a partir de *Eucheuma denticulatum*. La lambda-carragenina, que no gelifica pero forma una solución de alta viscosidad, se cultiva a partir de las especies *Gigartina* y *Chondrus*, respectivamente. Con respecto a *Cunha* y *Grenha*, tanto *Kappaphycus alvarezii* como *Eucheuma denticulatum* son más preferibles en la extracción de kappa e iota carragenina respectivamente, en comparación con *Chondrus crispus* que contiene una mezcla de kappa y lambda-carragenina porque, según estudios, es difícil separar las mezclas (kappa/lambda) durante la extracción comercial. Si se mezcla kappa o iota-carragenina con lambda-carragenina durante las aplicaciones, se producirá una reducción de la fuerza del gel, lo que dará como resultado un gel más débil; que suele ser menos preferible a las industrias (Abdul Khalil y col., 2018).

La carragenina se emplea principalmente en sistemas basados en agua y leche. Se hace una distinción particular en el sistema lácteo, a pesar de ser un sistema acuoso, debido a la singular interacción entre la carragenina y las micelas de caseína, cuyas aplicaciones en la industria láctea son específicas. Puede unir el agua de manera eficiente mientras se espesa, estabiliza y mejora la apariencia y aceptabilidad de los alimentos. En algunas aplicaciones, la carragenina también se ha agregado a la carne procesada como sustituto de la grasa para mejorar la retención de humedad y restaurar la ternura en la carne procesada baja en grasa, como las hamburguesas. La carragenina tiene la habilidad para interactuar con las sustancias proteicas de la carne roja y de las aves (Siccha y Lock de Ugaz, 1992; Rodríguez Sandoval y col., 2003; Abdul Khalil y col., 2018). Una nueva aplicación de la carragenina en la industria alimentaria es su uso como recubrimiento protector en alimentos envasados recién cortados, en la que la carragenina actúa como barrera contra los gases, cambiando las superficies cortadas de la fruta y reduciendo la respiración, lo que en consecuencia ralentiza la decoloración y mantiene la textura durante toda la vida útil. La carragenina posee varias propiedades farmacéuticas tales como efectos anticoagulantes, antitrombóticos, antivirales, antitumorales, reductores del colesterol, actividad inmunomoduladora y actividades antioxidantes. La aplicación de la carragenina en el campo farmacéutico se basó principalmente en estos aspectos (Abdul Khalil y col., 2018).

El agar consiste en una mezcla de dos polisacáridos, agarosa y agarpectina, y donde la agarosa constituye aproximadamente el 70% de la mezcla. Esta es responsable de la gelificación, mientras que la agarpectina es responsable de las propiedades espesantes. El agar es el hidrocoloide de algas utilizado más antiguo, descubierto por Minoya Tarazaemon en 1658 en Japón, donde se llama kanten, que literalmente significa 'cielo congelado', pero también puede denominarse con muchos nombres como 'gelatina de hierba', 'gelatina de algas marinas' y 'gelatina vegetal' (Abdul Khalil y col., 2018).

El agar se extrae comercialmente de algas rojas (*Rhodophyceae*), específicamente *Gracilaria*, *Gelidium* y *Pterocladia/Gelidiella*. Químicamente, el agar contiene galactanos hidrofílicos que consisten en unidades de galactopiranosas con enlaces alternantes α -1,3 y β -1,4, por lo que la galactopiranosas con enlace α está formada por L-galactopiranosas 6-sulfato. El agar se puede obtener de forma fácil y natural a partir de algas simplemente hirviéndolas en agua caliente. Alrededor del 80% del agar producido a nivel mundial se utiliza para aplicaciones alimentarias, mientras que el 10-20% restante se utiliza en las industrias farmacéutica y biotecnológica. Algunos agares, especialmente los extraídos de *Gracilaria chilensis*, se pueden usar en productos de confitería con un contenido de azúcar muy alto, probablemente dulces de frutas. Se dice que estos agares son "azúcar activos" porque el azúcar (sacarosa) aumenta la fuerza del gel. A diferencia de algunas gomas de la competencia que requieren la adición de sales de potasio y calcio para formar gel, los agares parecen ser los candidatos más preferibles en los productos alimenticios.

Aproximadamente una sexta parte de agar en EE.UU. se usa normalmente como medio de cultivo porque no es fácil de metabolizar, no es digerible y tiene buena firmeza de gel, elasticidad, claridad y estabilidad. Este tipo de agar, generalmente denominado agar de calidad media, se puede usar para obtener anticuerpos monoclonales, interferones, esteroides y alcaloides, además de actuar como agentes de carga, laxantes, supositorios, cápsulas, tabletas y anticoagulantes en campos medicinales/farmacéuticos. Mientras tanto, el agar más altamente purificado, generalmente obtenido de una fracción de agar llamada agarosa, se usa para la separación en biología molecular (electroforesis, inmunodifusión y cromatografía en gel). El agar posee una excelente fuerza de gel (700-1000 g/cm²), 2-10 veces mayor que la carragenina (100-350 g/cm²) (Abdul Khalil y col., 2018). En los países asiáticos, el agar es un componente popular de las jaleas; mediante el cual las algas marinas se someten a ebullición, agregando sabor y enfriando las gelatinas formadas. Se ha informado que las aplicaciones de agar se basan en su calidad funcional, como la fuerza del gel. El agar de baja calidad se utiliza básicamente en productos alimenticios (alimentos congelados, glaseados de panadería, merengues, geles para postres, dulces, etc.) mientras que algunos pueden extenderse a aplicaciones industriales para encolado de papel, recubrimiento, adhesivos, estampado/teñido de textiles, fundición e impresión. El agar tiene una importancia fundamental en los estudios farmacéuticos y biotecnológicos. Puede actuar como un buen material de impresión biomédico en odontología, debido a sus propiedades termorreversibles; se derrite y licua a alta temperatura y se solidifica mientras se enfría. Además, también se utiliza para producir medios de crecimiento de grado farmacéutico para fines de laboratorio. Forman un gel fuerte y rígido a temperatura ambiente y aún se mantienen firmes a temperaturas de hasta 65°C debido a su alto punto de fusión (85–95°C) cercano al punto de ebullición del agua asociado adecuadamente al menor contenido de sulfato aniónico. A diferencia

de los geles de gelatina que se funden alrededor de los 37°C, los geles de agar que poseen un alto punto de fusión (>85°C) se consideran preferibles industrialmente, ya que muchas de las aplicaciones aprovechan esta diferencia. Como ejemplo, se encuentra que el agar tiene usos específicos en rellenos y glaseados de pasteles, que se pueden aplicar antes de hornear los pasteles sin fundirse en el horno. Los agares con una fuerza de gel superior a 750 g/cm² en una solución al 1,5% se denominan agar de alta calidad y tienen demanda en el mercado internacional (Rioux y col., 2017; Abdul Khalil y col., 2018).

1.3.2 Hidrocoloides en algas pardas

Muchas de las algas pardas son empleadas en la producción de ácido algínico y alginatos, los cuales son utilizados con mayor frecuencia en la industria textil por sobre la alimentaria. En esta última, el alginato se comercializa como una sal, la mayoría de las veces una sal sódica del ácido poliurónico, el ácido algínico (FAO, 2002; Fennema y col., 2010). Todas las algas pardas contienen alginato, pero hay grandes diferencias en la cantidad y calidad del mismo presente. Un alga comercial debe contener en torno al veinte por ciento de su peso seco de alginato. La calidad del alginato se basa en la viscosidad que producirá disuelto en agua al uno por ciento; cuanto mayor es la viscosidad mayor se considera la calidad. Las algas pardas que crecen en aguas frías suelen producir un alginato de buena calidad, mientras que las que crecen en aguas entre templadas y tropicales producen a menudo un alginato de poca viscosidad (FAO, 2002).

Los alginatos se utilizan como espesantes de alimentos y productos farmacéuticos, y en el estampado de tejidos. Si se añade una sal de calcio a una disolución de alginato sódico, se forma un gel, y esta propiedad tiene aplicaciones en la industria alimentaria y en otras ramas de producción. También se puede obtener alginato cálcico en forma de fibras que se utilizan para fabricar vendajes quirúrgicos (FAO, 2002).

Las algas o sus extractos se pueden incorporar como ingredientes en diferentes tipos de alimentos, utilizándose como pigmentos, preservantes, mejoradores del valor nutricional, aportadores de compuestos beneficiosos para la salud; además pueden mejorar características tecnológicas de los alimentos procesados. Las propiedades funcionales y tecnológicas que presentan las algas, (como la WHC y la capacidad de gelificación entre otras, son debidas al contenido de proteínas, fibra dietética e hidrocoloides presentes en su matriz) permiten su incorporación como ingrediente en diferentes tipos de alimentos, tales como productos cárnicos, pastas y de panificación, etc. (Morales y col., 2019; Ayarza Leon, 2014). Respecto de las propiedades físico-químicas, la retención de aceites es baja, mientras que la hinchazón, la retención de agua y la capacidad de intercambio catiónico es mayor en algas pardas, lo cual está relacionado con los altos valores de ácido urónico y el contenido de sulfatos (Rupérez y Saura-Calixto, 2001).

Alginatos en la industria alimentaria

Los alginatos fueron descritos por primera vez en 1881, por el científico Stanford, y su nombre es empleado hoy en día para describir un conjunto de sales de ácido algínico, que son empleados en alimentos. Los alginatos son utilizados con fines espesantes, estabilizantes, gelificantes y formadores de films. En general, las aplicaciones de los

alginatos se relacionan con su hidrofiliidad, su capacidad de formar geles y su biocompatibilidad. Tres de sus derivados son de importancia comercial: el alginato de sodio, el alginato de calcio y el alginato de propilenglicol. No obstante, también se producen en bajas cantidades las sales de amonio, potasio, magnesio y trietanolamina.

Existen diferentes estudios que indican la seguridad del uso de los alginatos en los alimentos. Los alginatos de sodio, potasio, calcio y amonio, ácido algínico y el alginato de propilenglicol, son aditivos alimenticios reconocidos como inocuos y seguros, según la Food and Drug Administration de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés). De la misma manera, están enlistados en el *Codex Alimentarius* que provee la *Food and Agriculture Organization* (FAO por sus siglas en inglés) y la *World Health Organization* (WHO por sus siglas en inglés) de las Naciones Unidas, donde se establece que los límites de ingesta diaria de ácido algínico y de sus sales derivadas para los humanos, es de 50 mg/kg de peso corporal, y del alginato de propilenglicol de 25 mg/kg de peso corporal (FAO/WHO, 2001).

El alginato, al ser un material polimérico biocompatible, no tóxico y biodegradable, resulta adecuado para muchas aplicaciones en la industria de alimentos. Diversas investigaciones demuestran que al ser un material natural disponible con múltiples ventajas y de fácil obtención, su aplicación para elaborar diferentes productos alimenticios es amplia y variada. La ventaja principal es que puede mantener sus propiedades funcionales durante el procesamiento y almacenamiento sin alterar el producto. Por esto, se encuentra como ingrediente en una amplia variedad de productos y sigue siendo evaluado en el desarrollo de nuevos alimentos (Avendaño-Romero y col., 2013). Las habilidades únicas de gelificación a bajas temperaturas junto con la buena estabilidad al calor hacen que el alginato sea ideal para usar como espesantes, estabilizadores y agentes reestructurantes (Qin y col., 2018).

El 30% de la producción industrial de alginatos se utiliza en la industria alimenticia. Entre los usos más comunes se encuentra la elaboración de gelatinas, postres lácteos, jaleas, rellenos de torta, cubiertas de embutidos, comidas semi artificiales, para estabilizar helados (impidiendo la formación de cristales de hielo), para dar cuerpo a bizcochuelos, tortas, salsas, jarabes, para retener agua en alimentos congelados para la elaboración de frutas artificiales y para el relleno de aceitunas con ají, entre otros. Los mismos principios se han utilizado para industrializar camarones, carne, anillos de cebolla y una variedad de comidas semiartificiales, en base a pastas homogeneizadas con alginatos de sodio, a las que se dan formas más o menos naturales. Cabe destacar su uso como aditivo en la producción de postres, flanes, en la imitación de purés de tomate y de frutas, etc.

Dentro de otros usos y desarrollos de los alginatos se pueden encontrar la microencapsulación y el desarrollo de películas biodegradables del mismo. El alginato ha sido uno de los polímeros más empleados en la microencapsulación, ya que este forma una matriz altamente versátil, biocompatible y no tóxica para la protección de componentes activos, células o microorganismos sensibles al calor, pH, oxígeno y luz, entre otros factores, a los que son expuestos los alimentos durante el procesamiento y almacenaje (Lupo Pasin y col., 2012). Las películas obtenidas a partir de geles de alginato pueden emplearse para reducir la pérdida de agua de un alimento, como barrera que limita la difusión y un soporte físico contra la deformación. En pastelería se emplea

como barrera para evitar que las masas se difundan sobre las masas; en postres helados se emplea para evitar que se adhiera al envase y como agente que evita la ruptura de la masa.

Otras aplicaciones de alginatos en alimentos están relacionadas con su capacidad aditiva, esto hace referencia a su capacidad de alargar la vida útil de productos de panadería tales como panes, muffins, magdalenas, galletas y masas, entre otros. Esta capacidad se debe en mayor medida a su propiedad de hidrofiliidad, que une y retiene agua, manteniendo el producto húmedo y suave por más tiempo. Así mismo, se ha visto una mejora en la viscosidad de las masas, siendo muy sencilla su mezcla con otros ingredientes durante la preparación. Se cree que el alginato produce una red que evita la retrogradación del almidón, lo que contribuye a retardar el envejecimiento de los productos panificados. El alginato es empleado también en productos de panadería libres de gluten, debido a su capacidad de unir y retener agua, proporcionando así una vida útil aceptable para el mismo.

Aplicaciones de los alginatos en la industria alimentaria

Cuando un gel de alginato se forma a valores de pH por encima de 3,5, el valor de pKa del ácido algínico, el alginato y los agentes gelificantes deben estar presentes. En orden de obtener un gel de alginato óptimo, el proceso de gelificación debe ser controlado. Los cambios químicos y físicos involucrados son bastante complejos, y se requiere el conocimiento de las propiedades del alginato y la liberación del catión con la combinación de secuestrante elegido y la fuente del mismo (Donati y Paoletti, 2009).

- Reestructuración de alimentos

Casi cualquier materia alimenticia puede ser reducida a pulpa y luego reestructurada, recombinada o reformada, proveyendo varios beneficios para el productor. La reestructuración permite el empleo de materiales crudos baratos, por ejemplo pulpa de frutas y verduras, cortes de carne y procesado de pescado. Permite el uso de un proceso automatizado y estandarizado que hace uso de las propiedades mecánicas consistentes, por ejemplo, resistencia a la manipulación, para dar un producto estándar en términos de la forma, reproducibilidad, resistencia a la calor y estabilidad frente al proceso de congelación-descongelación. La cantidad de alginato usualmente empleada suele ir entre el 1 y 2% del peso del producto final (Donati y Paoletti, 2009).

- Cremas de pastelería y pastas de frutas

Gran parte de las aplicaciones del alginato son empleadas en el área de la panadería. Una de las aplicaciones que hace demostración de las propiedades gelificantes del alginato es el espesamiento de las cremas de panadería preparadas en frío. El alginato garantiza que la crema sea estable al horneado y al proceso de congelado-descongelado.

Los geles de alginato son usualmente empleados en pastas a base de frutas, aportando estabilidad frente al horneado para evitar que gotee fuera del producto durante la cocción. Estos pueden procesarse tanto en frío como en caliente, según se desee. Con la creación de una solución viscosa o una pasta con propiedades gelificantes, el alginato reduce la transferencia de humedad desde el relleno hacia la masa. La pectina y el calcio

presente naturalmente en la fruta contribuye a la formación del gel, como un proceso sinérgico común entre ambos hidrocoloides. El espesamiento de las pastas es otra aplicación común. El alginato genera un mejor control sobre la manipulación de la pasta, de modo que la producción en maquinarias es más sencilla. Finalmente, las propiedades retensoras de agua propias del alginato proporcionan una retención adicional de humedad en estos preparados (Donati y Paoletti, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

- Gelatinas y *mousses* de postres

Las gelatinas de postre instantáneas son un buen ejemplo de gelificación interna con alginato en medio ácido. El producto es usualmente presentado como una mezcla polvo seco con alginato, un catión (usualmente calcio), el secuestrante, un regulador de acidez y los componentes aromatizantes que se pueden disolver en agua fría para formar una gelatina en pocos minutos. El calcio y otros cationes divalentes presentes en el agua corriente presentan un desafío para los productores, ya que pueden generar una gelificación prematura.

Las *mousses* instantáneas y 'listas para consumir' pueden prepararse con base de alginato. Este es agregado para estabilizar el batido de la espuma y le da estructura al alimento. En un producto instantáneo, se emplea la propiedad de gelificación en frío, mientras que para la versión 'lista para consumir' es posible generar el gel sin la necesidad de secuestrantes en la fórmula, al utilizar como reemplazo las moléculas propias de la leche, con capacidad de auto-secuestro (Donati y Paoletti, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

- Espesantes y estabilizantes

Como está descrito previamente, el alginato desarrolla viscosidad cuando este es hidratado en soluciones acuosas y gelifica bajo la acción de un catión divalente. En la práctica es bastante complicado distinguir entre la función de espesamiento y gelificación cuando hay otras moléculas presentes en el producto. Los tres parámetros más importantes son el peso molecular, el perfil de bloques M:G en las cadenas (ver sección 2.1.2) y la concentración disponible del catión de reticulación. Un gel muy débil puede aparecer como una solución espesa y el espesamiento a menudo puede ser un resultado de una limitación en la gelificación del alginato por parte del catión de reticulación.

Muchas veces el alginato es empleado en salsas de queso para aumentar la viscosidad de las mismas. Igualmente importante, le aporta a la salsa de queso la adherencia deseada para permanecer en los alimentos, tales como las pastas. Soluciones de alta viscosidad, con gran cantidad de bloques M, es usualmente empleado para obtener el espesamiento deseado a la vez que se evita una interacción fuerte con el catión de reticulación (calcio), presente en los ingredientes de la salsa, que puede inducir posteriormente la gelación.

Las propiedades de espesamiento del alginato se pueden emplear en salsas de dos formas contrastantes: como un agente de suspensión temporal o como agente de efecto espesante retardado. Un ejemplo del primer proceso es el uso de alginato para prevenir que la carne se asiente en la salsa antes del llenado de latas. Tras el llenado de las mismas, el tratamiento térmico (por calor) reduce el efecto de espesamiento proporcionado por el alginato, que no es requerido ya, por degradación térmica de las

cadena del polímero. El efecto opuesto puede emplearse para facilitar el intercambio de calor; este efecto se obtiene por el uso de una mezcla del alginato y una sal de calcio de baja solubilidad. La combinación de la baja solubilidad de la sal y el calor retrasan la formación del gel, hasta que el tratamiento térmico haya tenido lugar. Una gran velocidad de transferencia de calor en un sistema de baja viscosidad permite un ciclo térmico más corto que en productos pre-gelificados (Donati y Paoletti, 2009).

Los alginatos solubles en agua pueden actuar como estabilizantes en sistemas constituidos por partículas o gotitas dispersas en agua. Estos sistemas incluyen aquellos formados por emulsiones de aceites en agua, tales como helados y aderezos para ensaladas; y sólidos suspendidos en agua, tales como jugos de fruta. El alginato actúa como estabilizante para prevenir la separación por medio de un aumento de la viscosidad de la fase acuosa y produciendo películas cargadas en la interfase, de tal forma, que las partículas o gotitas tienden a repelerse entre ellas evitando la fusión y, por lo tanto, favoreciendo la separación de fases. El helado fue el primer producto en el cual se aplicó el uso de alginato en la industria de alimentos. La adición de alginato reduce el tamaño de los cristales de hielo, aporta cuerpo y da una textura más lisa. Así mismo, el hidrocoloide previene la sinéresis y retrasa el derretimiento. En el helado, así como en tantos otros sistemas lácteos donde el calcio está presente naturalmente, el alginato es combinado con una baja concentración de fosfato de sodio, considerado agente secuestrante para evitar la gelificación prematura.

Las emulsiones alimenticias, incluyendo ciertas salsas y aderezos para ensaladas, pueden ser espesados y estabilizados para prevenir la separación por medio de la adición de alginato a la fase acuosa. El alginato también es usado en productos para untar bajos en grasa para proporcionar la textura deseada y estabilizar la emulsión. Los productos para untar bajos en grasa son sistemas emulsionados de agua en aceite. El alginato es utilizado para estabilizar y gelificar de forma débil las gotitas de agua finamente distribuidas en la fase lipídica. Un gel suave basado en una cantidad relativamente alta de bloques M es necesario para lograr una textura que imite los productos para untar con toda la grasa (Donati y Paoletti, 2009; Imeson, 2009).

Estabilización y espesamiento empleando alginato de propilenglicol (PGA)

En comidas y bebidas de pH bajos, con valores inferiores o iguales a 3,5 (el pKa del ácido algínico) un alginato regular no sería efectivo para espesar o estabilizar. A medida que el pH disminuye, el alginato se protona parcialmente perdiendo su carga negativa. Por debajo del valor de pKa, el ácido algínico eventualmente precipita. En estos casos, el PGA posee una funcionalidad valiosa incluso en condiciones de pH bajo, debido a que una parte de los grupos de ácido carboxílico están esterificados y no pueden protonarse.

Como se explica posteriormente, la producción de PGA se lleva a cabo tras hacer reaccionar ácido algínico con óxido de propileno. La presencia de grupos éster de propilenglicol liofílicos proporciona PGA con buenas características de emulsificación y lo hace menos reactivo frente a los cationes de reticulación que el alginato de sodio. Los grupos ácidos no esterificados remanentes conservan su carga negativa, aún con valores de pH inferiores a 2,75. Estos grupos participan en un enlace, débil pero significativo, con iones de reticulación y proteínas, que en estos valores de pH, por debajo de su punto isoeléctrico, usualmente tienen cargas netas positivas. Las propiedades del PGA son

empleadas en la estabilización de proteínas de leche bajo condiciones ácidas. Muchas veces se usa para estabilizar la espuma de algunas cervezas, por medio de la interacción con proteínas. Es particularmente efectivo para estabilizar y espesar mayonesas y aderezos para ensaladas (Imeson, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

- Productos lácteos

El alginato es empleado como estabilizante, espesante y agente gelificante en todo tipo de productos lácteos, tales como nata espesa, mousse de chocolate, yogurt, cremas de panadería, batido de leche, helado y queso. Dado que la leche contiene calcio naturalmente, el sistema necesita un secuestrante de modo que se pueda garantizar la hidratación correcta del alginato, de lo contrario se forma una capa gelificada en la superficie de las partículas de alginato no hidratadas, fenómeno conocido como 'ojos de pez'. La hidratación correcta puede lograrse por adición de un secuestrante con el alginato, para asociarse con el calcio libre antes de que este interactúe con el mismo. Otra forma de evitar que el sistema gelifique tempranamente, es calentando la leche; las proteínas de la leche pueden unir calcio con más fuerza con el aumento de la temperatura. Por encima de los 70°C, aproximadamente, el calcio se une aún con más fuerza a las micelas, permitiendo la correcta hidratación del alginato, sin interactuar con éste. La gelificación ocurre luego de que se lleve a cabo un enfriamiento, entonces un gel simple de leche de alginato puede obtenerse evitando el uso de otros aditivos (Donati y Paoletti, 2009; Imeson, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

- Formación de Films

Un film o película es formado cuando una capa fina de gel o solución de alginato se seca. Este tipo de películas proporciona grandes beneficios a la industria de los alimentos, por ejemplo, en la reducción de la pérdida de agua, en propiedades de barrera para el control de la difusión y control de la forma. Un film de alginato puede usarse en glaseados de pasteles para evitar la adherencia al envoltorio y, simultáneamente, actuar como un agente anti-craqueo. Las películas de alginato pueden actuar como materiales solubles en agua o insolubles en agua. Tradicionalmente, se preparaban films de alginato-calcio insolubles in situ por medio del rocío de una solución de alginato de sodio sobre la comida, o introduciendo ésta en un baño de alginato de sodio. Posteriormente una solución de cloruro de calcio es rociada o se sumerge el alimento en un segundo baño con dicha solución. Este tipo de película se emplea para proteger el pescado congelado de la oxidación y la pérdida de agua estabilizando la capa de hielo que recubre la pieza y haciéndola más impermeable al oxígeno. Esta técnica también permite la adhesión de hierbas y especias a una superficie, por ejemplo, de carnes. Muchos beneficios, tales como la reducción en la pérdida de agua, reducción del tamaño y menos mal olor, han sido reportados. Los atributos sensoriales también se mejoran aplicando una película de alginato sobre hamburguesas de cerdo. Más recientemente, el alginato se ha utilizado como formador de películas (simil tripas) para embutidos elaborados a partir de materias vegetales.

Otro uso para el alginato de sodio está dentro del campo de películas que se disuelven rápidamente, como las tiras respiratorias. En estos casos, el film porta agentes aromatizantes fuertes, por ejemplo mentol, o incluso puede contener activos farmacéuticos (Donati y Paoletti, 2009; Imeson, 2009).

- Encapsulación

Los alginatos son usados cada vez más en numerosas aplicaciones de encapsulación, como en la encapsulación de probióticos, sabores, olores y aceites alimentarios funcionales. En todas estas aplicaciones, las suaves condiciones de fraguado de los alginatos son de especial beneficio, ya que los productos sensibles pueden encapsularse sin deteriorarse.

Existe un número considerable de posibles técnicas de encapsulación para aplicar en el área de alimentos, las más comunes empleadas con el alginato son la extrusión, emulsificación y recubrimiento. En la encapsulación de probióticos, se ha encontrado que el uso de alginatos es sumamente efectivo en la protección de la bacteria frente al entorno ácido del estómago. Estas bacterias encapsuladas pueden agregarse a los productos lácteos como yogurt o quesos, proporcionando una mayor estabilidad y productividad de las mismas. La encapsulación de agentes de sabor u olor, tales como aceites aromatizantes, pueden obtenerse mediante la extrusión o el goteo de una emulsión del alginato y el aceite en una solución del ión de reticulación (como suele ser el calcio). Sin embargo, otra técnica consiste en usar una boquilla de doble tubo, en el cual el material a ser encapsulado es extrudado por la boquilla interna, mientras que la solución de alginato es extruida por el tubo externo. La encapsulación de aceites alimenticios funcionales, tales como el aceite de pescado, aceite de germen de trigo y aceites de onagra, también se realiza con éxito para mejorar las propiedades como el sabor, la estabilidad y la oxidación (Donati y Paoletti, 2009; Imeson, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

- Otras aplicaciones

Los alginatos, además de las aplicaciones ya mencionadas, se usan cada vez más en aplicaciones más nuevas, desde encapsular enzimas activas y bacterias vivas, hasta actuar como recubrimientos protectores de frutas y verduras preenvasadas, cortadas o preparadas. Con ciertas modificaciones químicas y biológicas para alterar sus estructuras y propiedades, existen posibilidades de aplicaciones novedosas de alginatos específicas para la industria alimentaria que tienen interesantes bioactividades a bajas concentraciones. Por lo tanto, los fabricantes de alimentos, los productores de alginato y los científicos de alimentos y nutrición deberán trabajar más estrechamente para desarrollar usos más novedosos del alginato en la industria de alimentos y bebidas (Qin y col., 2018).

Beneficios nutricionales

Estudios significativos llevados a cabo, tanto en industria como en investigación, apuntan hacia los efectos beneficiosos sobre la salud humana el consumo de alginato en la dieta. Como polisacárido no digerible, el alginato también puede verse como una fuente de fibra dietética. Las fibras dietéticas pueden proteger contra la aparición y continuación de una serie de enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales (Brownlee y col., 2005). Estos efectos incluyen una reducción de las tasas de absorción intestinal, reducción de la toxicidad luminal colónica, alteración de la microflora colónica y mejoras en la barrera de la mucosa colónica. Como el alginato es una fibra dietética soluble, proporciona el efecto de aumentar la viscosidad intestinal, lo que puede reducir

los niveles sanguíneos de glucosa y colesterol (Imeson, 2009). Sin embargo, los alimentos viscosos tienen baja palatabilidad. La incorporación de alginato de calcio en polvo en panes o salsa de soja permiten que se agreguen altas concentraciones de alginato a los alimentos sin ningún efecto significativo sobre la palatabilidad. La viscosidad se desarrolla posteriormente a que el alginato de calcio se exponga al medio ácido del estómago y se neutraliza en el intestino.

El efecto que tiene el alginato sobre la sensación de saciedad y la ingesta de alimentos es mayor cuando se consumen bebidas que contengan este hidrocolóide (Hoad y col., 2004). Estudios adicionales han demostrado que incorporando fibras de alginato-pectina gelificadas con calcio en estas bebidas aumenta la sensación de saciedad a la vez que reduce la cantidad de calorías ingeridas, lo que representa un beneficio para aquellos que controlan sus dietas estrictamente (Pelkman y col., 2007).

El interés tecnológico y las propiedades fisiológicas derivadas de la fibra dietaria están directamente relacionados con las propiedades fisicoquímicas de los hidrocoloides, que en definitiva depende de la estructura constitutiva del polisacárido. Tecnológicamente hablando, las fibras son empleadas como agentes texturizantes y de carga, particularmente en la producción de alimentos bajos en calorías. Estas propiedades dependen esencialmente de la habilidad de las fibras para retener agua. Desde un punto nutricional, la resistencia de las fibras dietarias a los procesos de digestión permite un intercambio de iones y la unión a moléculas orgánicas.

Un gran número de beneficios potenciales para la salud relacionados al alginato están indicados en diversas fuentes científicas de literatura. Las moléculas de bajo peso molecular tienen propiedades prebióticas además de alterar la microbiota colónica de forma favorable (incrementa el número poblacional de bifidobacterias) al mismo tiempo que reduce los niveles de toxina bacteriana en el lumen del colon (Imeson y col., 2009). Los alginatos ricos en ácido poli-manurónico tienen propiedades para la salud gastrointestinal y sistémica que no se han observado en otras fibras sintéticas que pueden promover su uso como ingredientes alimentarios funcionales (Imeson, 2009; Avendaño-Romero y col., 2013).

Productos sin TACC

El alginato ha encontrado aplicabilidad en productos sin TACC, debido a su capacidad de unir y retener agua, al mismo tiempo que aporta un alargamiento en la vida útil de estos. Las premezclas sin gluten para panes, pan crujiente y tortas de chocolate son ejemplos típicos de productos que contienen alginato (Imeson, 2009).

Aplicaciones en comidas gourmet

El uso de alginato en comidas gourmet es un pequeño mercado creciente. Algunos productos naturales (tales como el caviar o los huevos de pescado) son posibles de imitar desarrollando perlas de alginato. Estas pueden ser consumidas en restaurantes como guarniciones de platos novedosos (Imeson, 2009).

1.4 Sistemas cárnicos e hidrocoloides

Dentro de las aplicaciones en desarrollo se encuentra el uso de hidrocoloides provenientes de algas en productos cárnicos. La funcionalidad de algas en estos productos cárnicos procesados, como hamburguesas, salchichas y emulsiones cárnicas han mostrado múltiples beneficios desde el punto de vista tecnológico. Las algas pueden influir en el pH debido a componentes ácidos como fucoidanos y ácido algínico; en la estabilidad gracias a los antioxidantes que retardan el enranciamiento de los productos. Como las algas son ricas en sales minerales, al incorporarlas en cecinas, la adición de sal se puede disminuir (Quitral y col., 2019). Se ha observado que el agregado de algas marinas, completas o partes de ellas, en productos cárnicos con base en emulsiones, presentan una mejora en el rendimiento de cocción, textura, unión grasa/agua, estabilidad de emulsión y se observa una disminución de los costos de formulación (Morales y col., 2019).

La industria cárnica en la actualidad incorpora en sus diversas formulaciones mezclas de hidrocoloides a fin de mejorar las características físicas, reológicas y de textura en sus productos. La textura se define como todos los atributos mecánicos, geométricos y superficiales de un producto perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles, y si es apropiado, visuales y auditivos. Evidentemente, la textura de un alimento trata de la percepción, haciéndola por encima de todas las cosas una experiencia humana. Los hidrocoloides, gracias a sus propiedades texturales, se utilizan para formular gran variedad de alimentos permitiendo el desarrollo de nuevos productos y la optimización de costos, convirtiéndose en un aditivo de relevante interés en la industria; lo que a su vez beneficia al consumidor ya que puede encontrar en el mercado una amplia variedad de productos con diferentes texturas y precios diversos.

La interacción proteína-polisacárido juega un rol importante en la estructura y estabilidad de varios alimentos procesados. Las propiedades funcionales de las proteínas alimenticias, tal como la solubilidad, formación de gel y capacidad emulsificante son afectadas por su interacción con polisacáridos. En el caso de productos cárnicos formulados y cocidos las proteínas miofibrilares juegan un rol clave durante el procesamiento por su capacidad de formar geles tridimensionales luego de su calentamiento y subsecuente enfriamiento, el cual tiene una significativa influencia sobre lo sensorial, y las propiedades texturales de los productos procesados.

Se ha observado en múltiples estudios que los hidrocoloides son de gran utilidad en el reemplazo de la materia grasa propia de los diversos cortes de carne, permitiendo reproducir la terneza propia del sistema original, así como aumentar la capacidad de retención de agua entre otras propiedades. Así mismo, se observa que el empleo de uno o varios hidrocoloides en estos sistemas (cuyo principal componente son proteínas miofibrilares solubles en soluciones salinas) permite modificar las condiciones en las cuales estas proteínas deben encontrarse para producir geles o emulsiones de modo que es posible reducir la temperatura, la concentración salina e incluso el pH para obtener el producto deseado. Bajo estas condiciones se puede asegurar la obtención de productos más saludables capaces de satisfacer las condiciones de los consumidores.

La reducción de grasa afecta principalmente a las propiedades de textura y rendimiento. El uso de ingredientes que mimetizan la función de la grasa ha sido

ampliamente estudiado, y abarca desde proteínas no cárnicas de diferentes tipos, como harinas, féculas y dextrinas, y polisacáridos. Sin embargo, el cambio en las especies iónicas del medio ambiente puede ser ventajoso, ya que muchos de estos sustitutos de grasa que se utilizan actualmente en la industria cárnica son polisacáridos aniónicos, con una fuerte dependencia sobre el tipo y concentración de ion para poder formar un gel (De Freitas y col., 1997; Cegiela y Tambor, 2012; Totosaus, 2007).

Por otro lado, en la actualidad hay un gran número de estudios realizados sobre diversas fuentes de carne, con el objetivo de encontrar las mejores condiciones para reestructurar cortes cuya calidad es menor en el mercado, para dar como producto final una carne (gel) que presente características de alta calidad. Para ello se han desarrollado numerosas investigaciones que tienen como base el análisis de las propiedades reológicas y fisicoquímicas derivadas de la interacción de hidrocoloides de diversas fuentes con las proteínas miofibrilares (Rivera Ruiz, 2012; Añorve y col., 2019).

Dado el interés tecnológico que presenta la aplicación simultánea de esos dos tipos de componentes en el sector alimentario, en este trabajo se abordarán aspectos relevantes en torno a los geles de hidrocoloides de algas pardas y proteínas miofibrilares en la ciencia y tecnología de alimentos. Se desarrollará a continuación una guía para conocer ambos sistemas individualmente, enfocando en las propiedades funcionales, especialmente la gelificación, para luego profundizar en diferentes trabajos publicados en relación a geles mixtos de alginatos y proteínas miofibrilares, analizando tanto sus propiedades estructurales a nivel macro y micro, así como sus propiedades tecnofuncionales y las interacciones que se establece entre ellos, para poder entender el sistema y las mejores condiciones en las que se aprovechan estas propiedades.

Sección 2:

Propiedad de gelificación. Características de geles de alginatos y geles de proteínas miofibrilares. Técnicas utilizadas para el estudio de estos sistemas

2.1 Geles

Se considera a los geles como redes tridimensionales de moléculas o partículas (semejantes a las redes cristalinas, las emulsiones o los agregados moleculares), cuyo sistema se caracteriza por estar comprendido por grandes volúmenes de fase líquida. Estas moléculas (o macromoléculas) retienen e inmovilizan una gran cantidad de dicho solvente. Por lo tanto, se trata de un sistema sustancialmente diluido, pero incapaz de fluir. Una de las peculiaridades más relevantes de los geles radica en sus características físicas, comprendiendo propiedades tanto de los sólidos como de los líquidos. Las moléculas de los polímeros, o las fibrillas formadas a partir de las mismas, son capaces de interactuar entre ellas para formar zonas de unión, estableciendo una red tridimensional, permitiendo así que una solución fluida cambie para ser un material que posee una estructura del tipo de la de una esponja y que puede mantener su forma. La estructura de la red ofrece una resistencia significativa a las fuerzas aplicadas sobre la misma, comportándose en ciertos aspectos como un sólido elástico. Sin embargo, la fase continua líquida, en la que las moléculas son completamente móviles, hacen que el gel sea menos rígido que un sólido ordinario, lo que provoca que este sistema se comporte en ciertos aspectos como un líquido viscoso. De este modo, se puede observar que el comportamiento de un gel frente a la aplicación de fuerzas externas sobre el mismo da como resultado la respuesta típica de un material semisólido viscoelástico, lo que significa que la respuesta de un gel a las fuerzas que se aplican sobre él es en parte característica de un sólido elástico y en parte característica de un líquido viscoso (Fennema y col., 2010).

Desde un enfoque termodinámico, los geles se encuentran en un estado metaestable, por lo cual no siempre son estáticos y pueden modificarse con el tiempo, ya sea espontáneamente o como consecuencia de la aplicación de fuerzas externas (Mellema y col., 2002).

En muchos alimentos, el gel está constituido por moléculas de un polímero (polisacárido y/o proteína) o por fibrillas formadas a partir de moléculas de polímero unidas en las zonas de unión por enlaces de hidrógeno, asociaciones hidrofóbicas, fuerzas iónicas, o enlaces covalentes; de este modo, la fase líquida puede definirse como una solución acuosa de solutos de bajo peso molecular y porciones de las cadenas de polímero (Boraso y col., 2004; Fennema y col., 2010). De acuerdo con el tipo de interacciones que predominan en la estabilización de la estructura del gel, se los clasifica en dos grandes grupos: químicos y físicos. La gran mayoría de los geles alimenticios constituidos por polisacáridos están estabilizados por uniones físicas, mientras que los constituidos por proteínas se pueden hallar mayor diversidad de uniones (Lozinsky y col., 2003; Renard y col., 2006). A pesar de que los geles de polisacáridos contienen en general sólo alrededor de un 1% de polímero (es decir, pueden contener hasta un 99% de agua) pueden llegar a ser bastante fuertes (Fennema y col., 2010).

Cada gel posee propiedades particulares dependiendo de las partículas o moléculas que lo formen, por lo cual es importante conocer las propiedades reológicas, el pH del sistema, la viscosidad o fuerza de la red, las temperaturas de trabajo, la interacción con otros componentes del sistema alimentario, la textura resultante y los costos de producción, a la hora de elegir una macromolécula específica para una determinada aplicación. Adicionalmente, también hay que considerar las características funcionales

deseadas, entre las cuales cabe destacar su capacidad como ligante, espesante, clarificante, formador de turbidez, agente de recubrimiento, inhibidor de la cristalización, floculante, estabilizador de espuma, desmoldeador, formador de películas, reemplazante de grasas, estabilizador de suspensiones, aumentador de volumen, inhibidor de la sinéresis y coadyuvante del batido, y como agente para facilitar la absorción y retención de agua (control de la retención y migración de agua), adhesión, emulsificación y encapsulación (Fennema y col., 2010).

2.1.1 Comportamiento y propiedades de moléculas de alginato en soluciones y sistemas gelificados.

Un hidocoloide puede formar geles cuando su estructura está formada por una parte capaz de producir una conformación ordenada con posibilidades de complejarse con zonas similares de otras moléculas, y otra parte con configuraciones flexibles que unen las zonas rígidas. Entre las sustancias de interés industrial que se pueden obtener de algas marinas se destacan los hidocoloides formadores de geles, que abarcan los alginatos de algas pardas (*Laminariales* y *Fucales*), los carragenanos de algas rojas (*Gigartinales* y *Cryptonemiales*) y los agares de algas rojas (*Gelidiales* y *Gracilariales*) de todos los cuales existen gran variedad y pueden obtenerse en distintos tipos y calidades (Boraso y col., 2004).

El ácido algínico está compuesto de dos unidades monoméricas, ácido β -D-manopiranosilurónico y ácido α -L-gulopiranosilurónico. Estos dos monómeros pueden encontrarse en regiones homogéneas, compuestas exclusivamente de una unidad o de la otra, o en regiones en las que están mezclados. Las regiones que contienen sólo unidades de ácido β -D-manopiranosilurónico se les conoce como bloques M, y aquellas que contienen sólo unidades de ácido α -L-gulopiranosilurónico, como bloques G. Las moléculas del bloque M se encuentran en conformación 4C_1 , mientras que las pertenecientes al bloque G lo están en la conformación 1C_4 (véase Figura 5), lo que proporciona a los bloques de las cadenas conformaciones completamente diferentes. Las regiones de bloques M son planas y en forma de cinta, debido a que el tipo de enlace es siempre ecuatorial-ecuatorial. Las regiones de bloques G poseen una conformación plegada, como resultado de los enlaces de tipo axial-axial. Porcentajes diferentes de los dos tipos de bloques dan lugar a que los alginatos de algas distintas posean propiedades diferentes. El alginato derivado de las diferentes especies de algas pardas contienen proporciones variables de secuencias de residuos M y G, lo que determina el peso molecular y las propiedades físicas del alginato y sus estructuras derivadas (Fennema y col., 2010; Draget y Taylor, 2011, Ching y col., 2017).

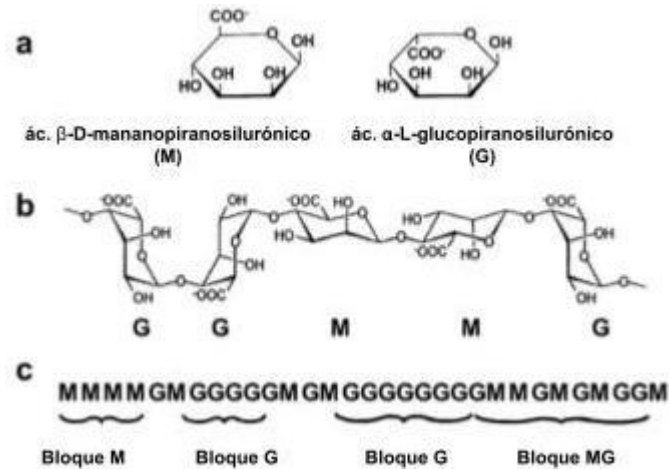


Figura 5. Características estructurales del alginato: (a) se observan las unidades monoméricas de ácido β -D-manopiranosilurónico (M) en conformación 4C_1 y α -L-gulopiranosilurónico (G) en conformación 1C_4 ; (b) se observa la posible conformación de una cadena; y (c) se observa la posible distribución de bloques. Figura obtenida de Draget y Taylor, 2011.

Entre las sales de ácido algínico más comunes empleadas, se pueden encontrar la sódica, cuyas soluciones son muy viscosas; y la sal cálcica, que es insoluble en agua (esta insolubilidad resulta de la reacción autocoooperativa entre los iones calcio y las regiones de bloques G de la cadena). Los huecos formados entre dos cadenas de bloques G constituyen cavidades que ligan iones calcio. El resultado es una zona de unión donde los iones calcio se encuentran fijados en los huecos de dichos bloques. La fuerza del gel depende no sólo del contenido de bloques G en el alginato utilizado, como fue mencionado anteriormente, sino también de la concentración de iones calcio (Fennema y col., 2010). Los geles de alginato de calcio pueden ser obtenidos por tres mecanismos de asentamiento diferentes. El asentamiento por difusión se emplea para preparar alimentos estructurados. El asentamiento interno es empleado muchas veces en productos a base de frutas y sus análogos, es un proceso que requiere la liberación lenta de los iones calcio en la mezcla. El asentamiento por enfriamiento se obtiene disolviendo una sal de calcio junto con un ácido ligeramente soluble y un agente quelante, en agua caliente, para después disminuir la temperatura del sistema. Estos últimos geles son muy estables (Fennema y col., 2010).

Los alginatos de propilenglicol se preparan haciendo reaccionar ácido algínico húmedo con óxido de propileno, para producir un éster parcial con un 50-85% de los grupos carboxílicos esterificados. Las soluciones de los alginatos de propilenglicol son mucho menos sensibles a los bajos valores de pH y a los cationes polivalentes, incluidos los iones calcio y las proteínas, que las soluciones de los alginatos no esterificados, debido a que los grupos carboxílicos esterificados no se ionizan. El grupo propilenglicol introduce también una protuberancia en la cadena que impide el contacto cercano de las mismas. En consecuencia, las soluciones de PGA son muy estables. A causa de su tolerancia a los iones calcio, los PGA pueden ser utilizados con éxito en los productos lácteos. Los grupos hidrófobos del propilenglicol confieren a la molécula una ligera actividad interfacial, o, lo que es lo mismo, propiedades espumantes, emulsificantes y estabilizantes de emulsiones (Fennema y col., 2010; Imseon, 2009). El alginato de propilenglicol son empleados cuando se desea estabilidad frente a los ácidos, cuando se

busca que no reaccionen con el calcio del medio, o debido a su actividad tensioactiva (Fennema y col., 2010).

Los alginatos son muy usados en soluciones para aumentar la viscosidad, con bajas concentraciones. Se puede ver un aumento de la viscosidad, en esfuerzos de corte bajo, cuando se añade iones calcio en pequeñas cantidades al sistema ya mencionado. Esto da lugar al espesamiento de las soluciones, más que a su gelificación

Influencia de la composición de las cadenas de alginato. La correlación entre la composición química del alginato y sus propiedades físicas es de sumo interés, tanto en el área práctica como en la teórica. Se ha establecido que existe una estrecha relación entre la proporción de residuos de ácido manurónico-ácido glucurónico dentro de las cadenas de alginato y sus propiedades de intercambio iónico, de disociación ácida y capacidad de formación de geles. La disolución del alginato en soluciones ácidas también ha demostrado una dependencia con la composición de las cadenas con respecto al ácido urónico (Haug y col., 1967). Los alginatos con un elevado contenido en bloques G producen geles muy fuertes (Draget y Taylor, 2011; Ching y col., 2017).

La influencia de la composición del alginato, considerada y debatida, en la flexibilidad de la cadena del polisacárido ha sido analizado y debatido durante muchos años. Los primeros estudios revelaron que la extensión de la cadena del polisacárido depende de su composición, con la flexibilidad intrínseca de los bloques disminuyendo en el orden $MG > MM > GG$ (Smidsrød y Whittington, 1969). Este resultado experimental fue apoyado por diversos estudios modelados en computadora, los cuales a pesar de presentar algunas variaciones numéricas al predecir la longitud de la cadena, aseguran que el orden de los bloques mencionados anteriormente tiene influencia directa sobre la flexibilidad de las moléculas. Las investigaciones de modelos moleculares confirmaron las diferencias de rigidez entre los bloques presentes en el alginato (Donati y Paoletti, 2009).

Influencia del peso molecular y estabilidad de las moléculas de alginato según el medio en el que se encuentren. Las muestras de alginatos naturales son polidispersas con respecto al peso molecular. Esto puede remontarse a dos razones principales: (1) la producción de polisacárido no está codificado en los genes, pero está bajo control enzimático; (2) el proceso de extracción causa la degradación parcial del mismo. Como consecuencia directa, la variación en los pesos moleculares de los polímeros es más común que encontrar muestras de pesos constantes.

Típicamente, los alginatos comerciales tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 200.000, pero es posible encontrar muestras con pesos mayores, alrededor de 400.000-500.000. El peso molecular del alginato nativo no ha podido ser revelado desde que la degradación ocurre durante la extracción (Donati y Paoletti, 2009).

La estabilidad de las moléculas de alginato depende fuertemente de las condiciones en las cuales se encuentran, como el pH, temperatura, fuerza iónica o la presencia de contaminantes. Los enlaces glucosídicos establecidos entre los monómeros de azúcares son susceptibles a condiciones extremas de pH, tanto ácidas como alcalinas. Bajo condiciones ácidas (pH inferiores a 5) se observa una notable reducción del peso molecular del polímero, debido a que se inicia un proceso de hidrólisis ácida de los

enlaces glicosídicos. En contraste, en condiciones alcalinas se produce una escisión de la cadena mediante una reacción de β -eliminación en el enlace glicosídico. Se ha encontrado que la velocidad de hidrólisis ácida para el alginato alrededor de un pH 3 o 4 es mucho más alta que la de los polisacáridos neutros debido a la catálisis intramolecular del grupo carboxilo no disociado que puede formar un anillo favorable de seis miembros. En lo respectivo a los medios alcalinos, se ha encontrado que, además de los iones hidroxilo, los grupos fosfato y carboxilo funcionan como catalizadores de la reacción de β -eliminación, debido a la naturaleza de la misma. Tanto en condiciones ácidas como alcalinas, la degradación de las cadenas del polímero siguen una cinética de primer orden (Haug y col., 1967).

Las cadenas de alginato son sumamente sensibles a los radicales libres que pueden ser producidos por contaminantes en las muestras comerciales como los polifenoles. Estos radicales son conocidos por degradar el polímero mediante reacciones de oxidación-reducción. El mecanismo de degradación involucra la auto oxidación de compuestos reductores con la subsecuente formación de peróxidos (-ROOH). Estos, posteriormente, forman especies radicalarias hidroxilo que pueden disminuir la polimerización de las cadenas de alginato a velocidades altas. Se ha observado una reducción en el peso molecular del alginato cuando la muestra es tratada con oxidantes tales como el periodato de sodio (Donati y Paoletti, 2009).

Bajo todas estas consideraciones, lo más seguro es trabajar con el alginato en condiciones neutras de pH y calentamiento limitado, ya que se sabe que todas las reacciones de despolimerización son impulsadas por la temperatura. De ello se deduce que la esterilización empleando autoclave debe evitarse. Como la radiación puede provocar un deterioro en la molécula, se recomienda la filtración de la dispersión con poro de 0,22 mm para su esterilización (Haug y col., 1967; Donati y Paoletti, 2009).

In vivo, la biodegradación viene dada por endoliasas, que catalizan la división del enlace glicosídico 1-4 por medio de una reacción de β -eliminación. Modificaciones en la cadena de alginato, como la acetilación, conduce a una reducción neta de la actividad enzimática. Las endoliasas están ampliamente distribuidas en la naturaleza, tanto en microorganismos procariontes como en eucariotes y en bacteriófagos que usen alginato como fuente de carbono (Donati y Paoletti, 2009).

Soluciones de alginato

- Solubilidad

El alginato de sodio, como básicamente todas las sales monovalentes de alginato, es altamente soluble en agua debido a la contribución entrópica favorable de los contraiones libres (no condensados). Esta consideración conduce inmediatamente a la identificación de la presencia de una gran cantidad de sal de soporte como condición limitante para la solubilización del polianión. La adición de sales 1:1, como el cloruro de potasio, desfavorece progresivamente la solubilidad de la cadena de alginato, lo que eventualmente conducirá a la separación de fases. Este efecto de salado se puede utilizar de manera eficiente para el fraccionamiento de alginatos. Además, la presencia de iones podría tener un efecto fuerte negativo sobre la cinética de disolución del alginato, ya que actúan reduciendo la diferencia de potencial químico del agua entre la partícula

de alginato y el líquido circundante. Las concentraciones de sal de soporte incluso a niveles inferiores a 0,1 M ralentizan la cinética de disolución de las partículas de alginato y limitan su solubilidad. Además de este papel inespecífico de las sales añadidas que contribuyen a la fuerza iónica total del medio, la presencia de iones divalentes o multivalentes específicos puede afectar drásticamente la solubilidad del alginato. Los iones divalentes podrían inducir una agregación de cadena a gran escala mediante los contactos físicos entre las cadenas de polímero. Esto da como resultado una formación de red extendida que conduce a la separación de fases y, posiblemente, a la formación de hidrogel.

La solubilidad del alginato también puede verse limitada debido a la modificación de las condiciones ambientales que no implican variación en la fuerza iónica. De hecho, el pH de la solución es un parámetro crítico que controla la solubilidad del polisacárido. Se sabe que los grupos carboxilo tanto del ácido manurónico ($pK_a = 3,38$) como del ácido gulurónico ($pK_a = 3,65$) pueden protonarse mediante la adición de ácidos inorgánicos. Por tanto, si el pH de la solución que contiene alginato se reduce por debajo del pK_a de los ácidos constituyentes, se produce la separación de fases o la formación de hidrogel. Varias investigaciones se han centrado en la dependencia del pH de la precipitación con ácido algínico. Se encontró que el peso molecular y la composición juegan un papel importante en la determinación del pH de la precipitación del polisacárido. En particular, los alginatos ricos en bloques de MG muestran una tendencia reducida a la separación de fases a valores de pH ácidos en comparación con los alginatos ricos en G y M, probablemente debido a su mayor grado de "desorden conformacional" de los enlaces glucosídicos (Hartmann y col., 2006).

-Viscosidad

La viscosidad, medida por medio de un reómetro o viscosímetro, depende de la composición del sistema acuoso. Diferentes factores tienen influencia en la viscosidad final de un sistema alimenticio, por ejemplo la adición de sales no gelificantes, altos niveles de azúcares o polioles. Respecto a la viscosidad intrínseca de las soluciones de alginato, la misma está determinada por la longitud de las moléculas involucradas, ya que es una medida del volumen hidrodinámico de las cadenas del polímero (es decir, depende indirectamente de algún promedio del peso molecular) y las condiciones utilizadas (solvente, temperatura, fuerza iónica), que conjuntamente influyen tanto en la extensión (expansión) y flexibilidad de la muestra del polisacárido. Cuando una muestra de alginato sódico es disuelta en agua pura, la viscosidad intrínseca puede correlacionarse directamente con el peso molecular (Tam y col., 2011; Imeson, 2009).

Un incremento en el peso molecular promedio del alginato generará un incremento en la viscosidad de la solución del polisacárido, proporcionando ciertas propiedades benéficas en diversas aplicaciones, sobre todo en la industria alimentaria y la textil. Sin embargo, el uso de alginato de alto peso molecular resulta en una solución que es difícil de manejar (Donati y Paoletti, 2009; Costa y col., 2018). Las soluciones viscosas de alginato exhiben propiedades de deformación por esfuerzo de corte aplicado. Esto es consecuencia de la gran longitud de las cadenas del polímero y de la rigidez que presentan las mismas al estar hidratadas. El alginato es un polisacárido lineal altamente cargado, propiedad que aporta rigidez a la molécula. A bajos esfuerzos de corte, tales como el almacenamiento o bajo agitación a muy baja velocidad, las moléculas están

acomodadas de forma aleatoria. Al incrementar el esfuerzo de corte, las moléculas comienzan a dirigirse de forma más paralela entre ellas. Como resultado, la viscosidad aparente disminuye cuando la velocidad de corte aumenta más allá del área newtoniana primaria del sistema. Este efecto se ve influenciado directamente por la concentración y tipo de sales disueltas, ya que los iones protegen la carga de la molécula de alginato, y por lo tanto, reducen la rigidez de la misma (Imeson, 2009).

Para una determinada aplicación, puede obtenerse la viscosidad apropiada seleccionando entre una amplia gama de alginatos comerciales. Los alginatos de alto y bajo peso molecular proporcionan texturas ligeramente diferentes, pudiendo ajustarse la concentración para obtener características texturales determinadas. La Figura 6 presenta diferentes muestras de alginato de diferente peso molecular en diferentes concentraciones (Imeson, 2009). Para realizar una formulación deseada, se puede emplear mayor concentración de un alginato de grado de viscosidad más baja o menores concentraciones de un alginato de grado de viscosidad más alta. Los alginatos de pesos moleculares inferiores exhiben una vida útil más larga debido al menor efecto de rotura de la cadena sobre la viscosidad aparente.

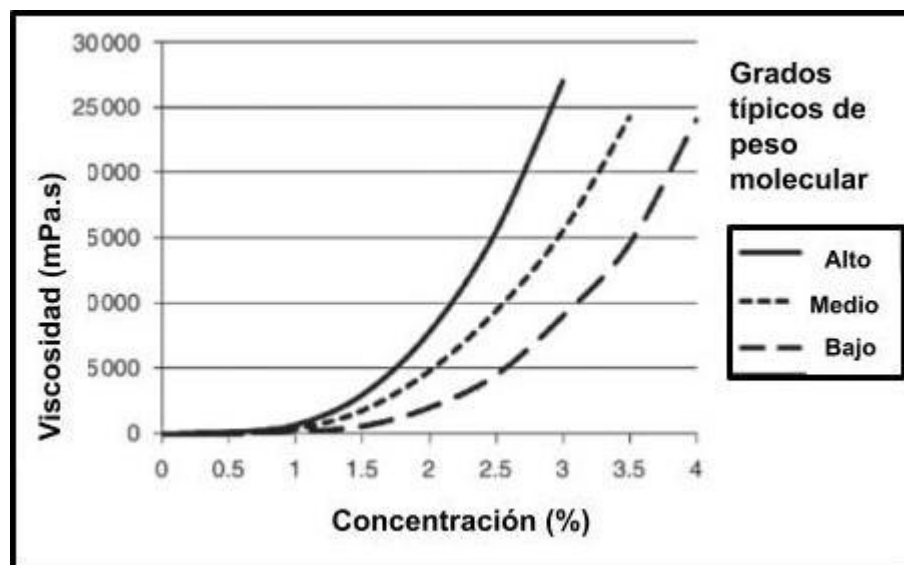


Figura 6. Dependencia de la viscosidad de las soluciones de alginato con respecto a la concentración y al peso molecular (Qin y col., 2018).

Propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales de geles de alginatos

Los geles producidos a base de alginatos generalmente son termoestables en el rango de 0-100°C, con una ligera o nula sinéresis. Comparado con otros polisacáridos, tales como el agar, o la gelatina, el alginato es capaz de formar geles independientemente de la temperatura. La formación de dichos geles está asociado a dos métodos clásicos: entrecruzamiento iónico con cationes multivalentes, a excepción del magnesio (también conocidos como geles iónicos) o la precipitación con ácido (dando como resultado geles ácidos) (Ching y col., 2017).

En la industria de alimentos, el calcio es el catión gelificante más utilizado en sistemas de formación de geles de alginato. El proceso de gelificación puede ser controlado mediante la liberación controlada del agente de inducción a gelificación, dentro de la

solución de alginato. Ambos geles, tanto los ácidos como los articulados por cationes son termoirreversibles y se forman en un amplio rango de temperaturas. Los geles termorreversibles pueden obtenerse bajo condiciones de pH por debajo de valores 4,0 y preferentemente alrededor de un pH de 3,4, mediante el uso combinado de alginato y una pectina esterificada con alto contenido de metilo. Sin embargo, la propiedad más relevante del alginato está en la capacidad de formar geles termoestables en sistemas fríos.

Como regla general, el alginato debe estar hidratado de forma apropiada antes de someterlo al ion gelificante, para aprovechar al máximo el potencial gelificante. Los mecanismos de gelificación pueden agruparse en categorías según el ion gelificante y el mecanismo por el cual entran en contacto, ya sea por difusión desde una fuente externa, por difusión controlada desde una fuente interna o por enfriamiento.

- Geles de ácidos algínicos

Estos geles ácidos son formados cuando el pH de la solución desciende por debajo de la constante de disociación (pKa) del polímero. Los residuos M y G tienen valores de pKa de 3,38 y 3,65 respectivamente; por lo tanto, el alginato tiene carga negativa en un amplio rango de pH. La tasa de disminución en el pH afecta de dos formas a las soluciones de alginato; por un lado, una disminución rápida provoca la precipitación de las moléculas de alginato en forma de agregados, mientras que una disminución lenta resulta en la formación continua de un gel de alginato ácido. A diferencia de los geles iónicos, los geles ácidos de alginatos están estabilizados por puentes de hidrógeno y por medio de los residuos de los bloques M. En semejanza con los geles iónicos, la fuerza de los geles ácidos también depende de los bloques G en la cadena del polímero. Los geles de alginato ácido son menos estudiados que los geles iónicos, debido a las limitaciones en sus aplicaciones tecnológicas (Ching y col., 2017).

- Geles iónicos de alginato

El tratamiento en una solución semidiluida de alginato (1-2%) con un catión divalente apropiado resulta en la formación de un gel liotrópico. La capacidad de unión de iones del alginato es la característica básica que controla la formación del hidrogel. En general, un gel de alginato se puede representar como una red continua hinchada con agua donde los enlaces cruzados físicos, representados por las zonas de unión inducidas por iones, mantienen juntas diferentes cadenas de polisacáridos. La Figura 7 muestra la representación esquemática del modelo de 'caja de huevos' para el gel de alginato. La cinética de gelificación depende en gran medida del método utilizado para la introducción del ion de reticulación y, por lo tanto, se puede obtener un hidrogel homogéneo o no homogéneo.

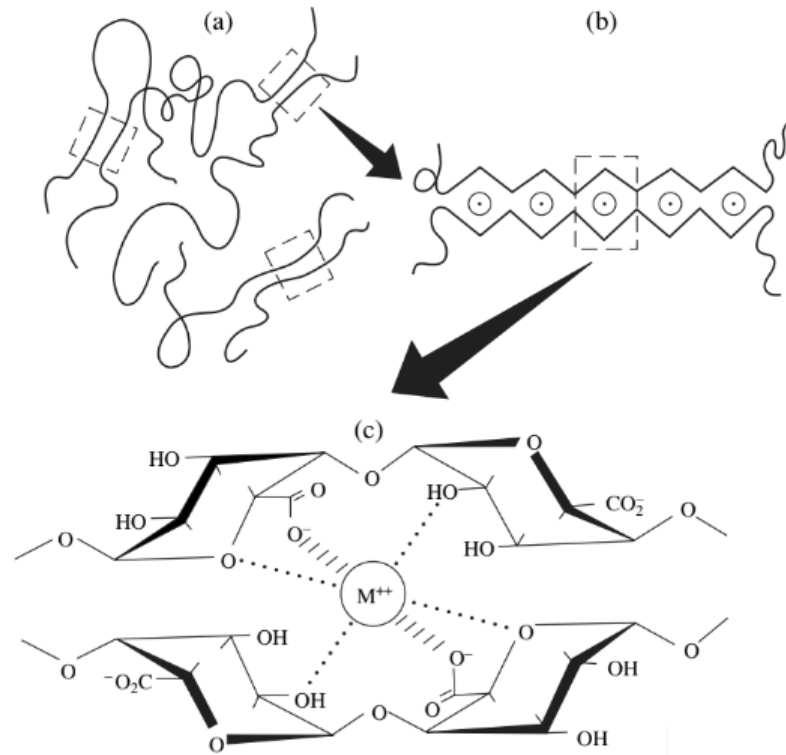


Figura 7. Representación esquemática del modelo de 'caja de huevos' para el gel de alginato. (a, b) Zonas de unión entre moléculas de alginato; (c) Celda elemental de la zona de unión. Las líneas punteadas indican los puentes de hidrógeno entre los átomos de oxígeno de los ciclos pirasónicos y el ión metálico; las líneas discontinuas indican enlaces iónicos entre los grupos carboxilo y el ión metálico (adaptado de Khotimchenko y col., 2001).

- Geles de alginato por enfriamiento

En este tipo de procesos, el alginato, una sal de un catión divalente y un secuestrante son disueltos en agua caliente. La elevada temperatura previene la gelación del alginato, debido a que las cadenas están en constante movimiento, lo que evita la asociación entre cadenas y por lo tanto la formación de enlaces. La formación de estos comenzará cuando la temperatura del sistema comience a disminuir, resultando en la formación de una red estable térmicamente establecida por las cadenas y el catión. Este tipo de geles muestran menor sinéresis que los geles antes descritos. Mediante una formulación cuidadosa, los geles pueden formarse en un rango entre 0 y 50°C, pero este proceso se limita a texturas relativamente blandas.

- Hidrogeles de alginato homogéneos

Para lograr una distribución homogénea del alginato dentro del hidrogel, debe lograrse una introducción o liberación controlada del ión de reticulación. A lo largo de los años, el método de gelificación interna se ha establecido como un procedimiento confiable para lograr una liberación de iones de calcio de manera controlada. Esto se basa en el uso de una forma inactivada de calcio ($CaCO_3$, Ca-EDTA, citrato de calcio) que se mezcla con la solución de alginato. La liberación controlada del ión de reticulación se obtiene habitualmente mediante una disminución del pH provocada por la adición de una molécula de hidrolización lenta como la δ -gluconolactona (GDL). El uso de carbonato de calcio y GDL, una vez que se mantiene una relación molar de GDL a $CaCO_3$ de 2,

garantiza un pH ligeramente ácido en el hidrogel final. Por el contrario, cuando se usa Ca-EDTA, no se puede descartar la presencia de algún gel ácido. Generalmente, los geles endurecidos internamente se preparan en condiciones de calcio limitado para favorecer el manejo y la preparación de geles homogéneos. De ello se deduce que sus rendimientos mecánicos serán inferiores en comparación con los de los geles saturados de alginato de calcio.

Según Draget y col. (1991) y Draget y col. (2000), variables como la concentración de alginato, la composición y el tamaño de partícula de la sal de calcio, tienen influencia en la cinética del proceso de gelificación, así como también las secuencias alternas. En particular, se ha informado que cuanto más largos son los bloques MG en las cadenas de alginato, más rápido es el endurecimiento del gel.

- Hidrogeles de alginato inhomogéneos

Aquellos hidrogeles caracterizados por distribuciones no-homogéneas de polisacáridos pueden ser obtenidos mediante el ajuste del proceso de difusión. Esto se realiza permitiendo que un ion de reticulación (como podría resultar con cualquier catión divalente) se difunda desde un depósito exterior más grande a una solución de alginato. En este caso, se produce una cinética de gelificación muy rápida en la parte delantera del ion de difusión, lo que da como resultado una formación instantánea del hidrogel. El gradiente de polímero dentro del gel se puede controlar mediante una selección cuidadosa del peso molecular, la concentración y la composición del alginato, así como del ion de reticulación utilizado y de su concentración. Generalmente, moléculas de alginato de bajo peso molecular y concentraciones (relativamente) pequeñas del ion de gelificación da el gradiente de polisacárido más alto en todo el hidrogel. En contraste, un alginato de alto peso molecular y una alta concentración de iones de gelificación proporcionan un gel más homogéneo. En general, una alta inhomogeneidad del hidrogel es preferible en preparaciones como microcápsulas, donde se busca que la porosidad sea baja y una alta resistencia contra la hinchazón (Draget y Taylor, 2011; Donati y Paoletti, 2009).

Desde el punto de vista teórico, la unión fuerte y virtualmente irreversible del sitio del ion de reticulación por dos bloques G enfrentados en la cadena de alginato se ha considerado como la principal causa de la distribución desigual del alginato dentro del gel. La adición de un ion no gelificante, al depósito que contiene el ion reticulante reduce la difusión del contraíón de alginato hacia la parte de menor concentración. Como consecuencia, la difusión acoplada entre los contraíones y la macromolécula se ve obstaculizada y el gel resultante es homogéneo con una distribución uniforme del polisacárido por toda la red.

- Sinéresis

Macroscópicamente, la sinéresis se detecta como una liberación de agua del gel con la consecuente disminución de sus dimensiones y aumento de la concentración de polímero. Este colapso parcial de la red aumenta la estabilidad del hidrogel y reduce su porosidad. La sinéresis aumenta con el aumento de la concentración de calcio, el tiempo de gelificación y el peso molecular del alginato. Se ha informado que la contracción del gel de alginato depende de la composición del alginato. De hecho, los alginatos que

contienen bloques G largos se encogen menos que los alginatos con bloques G más cortos debido a la formación de fuertes uniones irreversibles, lo que dificulta la reorganización de la estructura de la red.

Se ha encontrado una correlación entre la frecuencia de las secuencias alternas del polisacárido y la pérdida de agua en el hidrogel. Esto se relaciona con la mayor flexibilidad de los bloques MG, con respecto a los otros bloques presentes en el alginato, lo que permite un empaquetamiento más denso de la red del gel (Donati y Paoletti, 2009; Costa y col., 2018), lo cual pone de manifiesto el importante rol que juegan los bloques MG en la contracción del gel. También se ha demostrado que la longitud de los bloques MG, más que su cantidad total, influencia el colapso del gel.

Propiedades de unión a iones

Una de las propiedades más valoradas del alginato en la industria de los alimentos, es la habilidad de formar geles iónicos en presencia de iones multivalentes. Los geles formados bajo estas condiciones son utilizados hace ya varias décadas en la encapsulación de componentes bioactivos en la industria de alimentos, drogas en la industria farmacéutica y la inmovilización de células en la industria biotecnológica (McHugh, 1987). La interacción de cationes divalentes y el alginato es un proceso altamente selectivo, y la molécula de alginato presenta una afinidad a los cationes que aumenta en el orden $Mn < Zn, Ni, Co < Fe < Ca < Sr < Ba < Cd < Cu < Pb$. Esta afinidad es directamente proporcional a la cantidad de bloques G presentes en la estructura de la molécula del hidrato de carbono. El uso de cationes de alta y media toxicidad están reservadas a estudios determinados y reducidos. El calcio es un elemento no tóxico y, por lo tanto, se usa ampliamente para formación de geles de alginato iónico, siendo los geles más comunes y empleados. Entre sus mayores limitaciones podemos encontrar que este sistema se desestabiliza en presencia de quelantes de Ca^{+2} , tales como el citrato, fosfato, carbonato y lactato (Ching y col., 2017).

El proceso de gelación es provocado por una vinculación cooperativa entre los cationes divalentes y las regiones G del polímero. Estudios empleando inhibidores competitivos, han permitido demostrar el mecanismo por el cual los bloques G dimerizan en presencia de estos cationes. El agregado de cationes divalentes (iones Ca^{+2}) al polímero de alginato provoca que dos cadenas G en posiciones opuestas se unan. Esta alineación establece un agujero en forma de diamante cuyas propiedades hidrofílicas le permiten unir iones Ca^{+2} por medio de una coordinación múltiple, empleando los oxígenos de los grupos carboxílicos. Esta configuración de polímero fuertemente unido resulta en la formación de una zona de unión con forma de “caja de huevos”, modelo propuesto para representar la unión entre iones y cadenas de polímero (Grant y col., 1973), representado en la Figura 8. Cada Ca^{+2} se une a cuatro residuos G dentro de esta “caja”, lo que permite el desarrollo de una estructura tridimensional estable (Ching y col., 2017; Ayarza León, 2014).

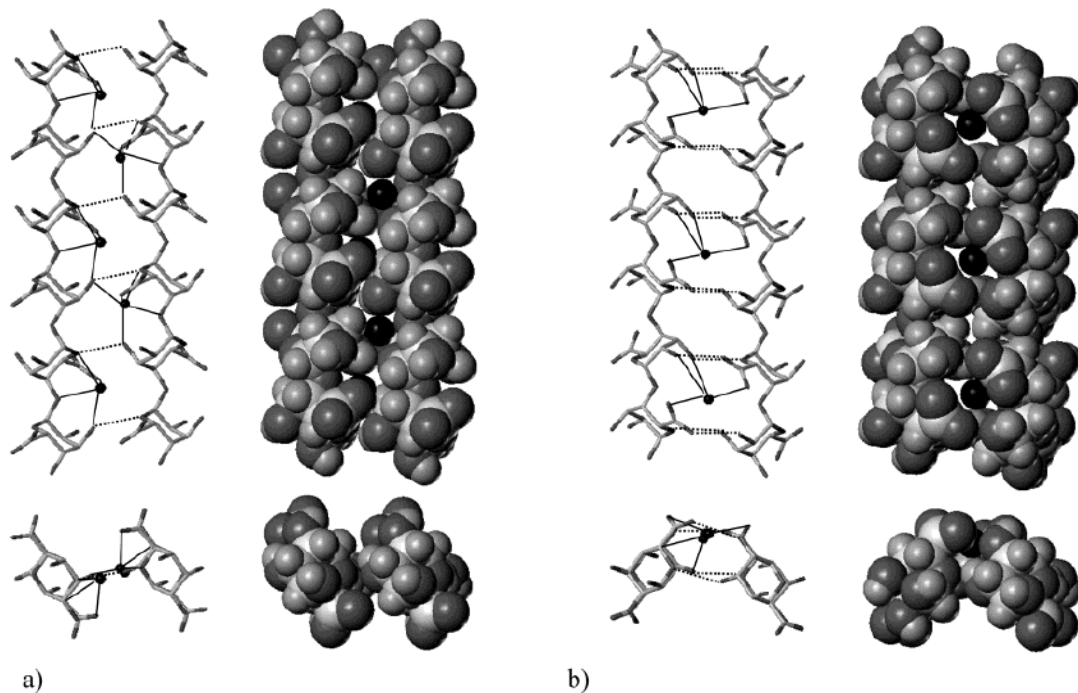


Figura 8. Representaciones (estructuras de barra y de van der Waals) de las asociaciones [cadena-Ca²⁺-cadena] de cadenas de alginato dobles: (a) disposición paralela; (b) arreglo antiparalelo. Los círculos oscuros representan iones de calcio. Clave: (—) coordinación del calcio; (- - -) enlaces de hidrógeno. Obtenida de Braccini y Pérez, 2001.

Generalmente es reconocido que la mayoría de los cationes divalentes son capaces de formar esta estructura de “caja de huevo” con el alginato. Sin embargo, escapa a los conocimientos actuales, si estos otros cationes divalentes presentan las mismas etapas y mecanismos de formación de dicha estructura. Estudios más recientes han demostrado que estos cationes divalentes pueden unir no sólo bloques G, por ejemplo, el Ca⁺² también puede unir regiones MG; el Ba⁺² puede establecer uniones con bloques G y MG, entre otros (Ching y col., 2017; Ayarza León, 2014).

Se ha reportado que la relación de la fuerza de unión de los iones divalentes con los tres fragmentos de alginato son:

Bloques G-G: Ba > Sr > Ca >> Mg

Bloques M-M: Ba > Sr >> Ca >> Mg

Bloques M-G: Ba >> Sr >> Ca >> Mg

La formación de la unión, y posterior formación del hidrogel, tras la adición del ión divalente puede describirse como un proceso cooperativo, con una unión desfavorable del primer ión y una unión más favorable de los siguientes. Estudios recientes de rayos X han demostrado que las uniones entre las hebras del polisacárido y los iones divalentes es ligeramente diferente; sin embargo, a los fines prácticos de estudio, la conformación de ‘caja de huevo’ sigue siendo válida. En adición, se ha observado que las interacciones del alginato y los iones están asociadas a un cambio de volumen positivo. Esto proviene de una liberación de una gran cantidad de moléculas de agua (proceso de desolvatación) de las esferas de solvatación tanto del ión divalente como de la cadena del polímero

quelante, lo que provoca un aumento favorable de la entropía (Ching y col., 2017; Haug y Smidsørd, 1962).

Estos estudios tienen un profundo impacto en el campo del alginato, ya que ahora está claro que el conocimiento detallado de la composición y las propiedades de unión de los iones es fundamental para la selección del alginato con el fin de tener las propiedades del material deseadas (Ching y col., 2017; Ayarza León, 2014).

Es interesante destacar que el alginato también presenta propiedades de gelificación frente a cationes trivalentes tales como el Al^{+3} y Fe^{+3} . Las asociaciones con cationes trivalentes suelen ser mejores y más fuertes en comparación con los cationes divalentes; esto se debe a que los primeros pueden establecer interacciones con tres grupos carboxílicos provenientes de biopolímeros de alginato diferentes, al mismo tiempo, formando una estructura de unión tridimensional que resulta en una red de gel más compacta (Ching y col., 2017; Yang y col., 2013).

Estabilidad del hidrogel

Como se mencionó previamente, los hidrogeles de alginato son bastante sencillos de obtener mediante el uso de un ión de reticulación adecuado, que al ser quelado por las secuencias G en las cadenas del polímero, induce la formación de la red tridimensional. Como tal, la presencia de un estado semisólido está garantizada por las interacciones físicas entre el ión y algunos de los restos urónicos que componen la cadena del polisacárido. Estas interacciones son, por mucho, menos resistentes que las uniones químicas y su debilidad afecta marcadamente a la estabilidad del hidrogel. De esto se deduce que la mayor limitación del uso de geles de alginato viene dada por la presencia de sustancias en el medio, capaces de quelar iones divalentes así como la presencia de iones competidores. Tratamientos del gel de alginato con alguno de estos dos sistemas genera hinchazón del gel, variaciones en su porosidad y eventualmente la disolución (Donati y Paoletti, 2009; Draget y Taylor, 2011).

Es bien conocido que el volumen de un hidrogel de polielectrolito en un solvente está determinado por el equilibrio entre la presión osmótica (Π_1^{osm}), que tiende a incrementar las dimensiones generales del gel, y la fuerza de retracción elástica (Π_1^{el}), que en contraste, actúa para impedir la expansión del mismo (Ec. 2):

$$\Pi_1^{osm} + \Pi_1^{el} = 0. \quad (2)$$

Desde el punto de vista teórico, el mismo concepto puede adaptarse afirmando que, bajo condiciones de equilibrio (Ec. 3), el potencial químico del solvente dentro del gel (μ_{sol}^{in}) equipara al potencial químico fuera del mismo (μ_{sol}^{out}), es decir, en la solución circundante. Para un gel de polielectrolito se puede definir:

$$\mu_{sol}^{in} = \mu_{sol}^{out} \rightarrow \Delta\mu_{sol} = \Delta\mu_{mix} + \Delta\mu_{ion} + \Delta\mu_{el}. \quad (3)$$

Donde el término para la mezcla del polímero y el solvente se llama $\Delta\mu_{mix}$, que básicamente depende de la interacción entre el solvente y el polímero (hidratación del polímero), cuyo aporte se ha descrito como insignificante en el caso de geles de alginato (Donati y Paoletti, 2009; Draget y Taylor, 2011).

Una contribución osmótica que facilita el hinchamiento del gel surge de la diferencia de potencial químico del agua, debido a la distribución desigual de iones entre el interior y el exterior del gel $\Delta \mu_{\text{ion}}$. En este caso, la fuerza de hinchamiento osmótica resulta de la presencia de contraiones de las cargas fijas del alginato. Estas cargas móviles no pueden salir de la matriz del gel debido a que siempre debe mantenerse la electroneutralidad, por lo que su concentración siempre será mayor dentro del gel que en el exterior. De esta manera, se genera una presión osmótica en la membrana semipermeable del gel, provocando un aumento de su volumen. El hinchamiento del mismo es un proceso que se opone a los enlaces físicos establecidos entre los bloques y los iones, que causa una fuerza de retracción elástica de la red, $\Delta \mu_{\text{el}}$.

El volumen de equilibrio general del hidrogel de polielectrolitos está determinado por todas estas contribuciones. En vista de esta consideración, es fácil comprender que la presencia de iones competidores, al igual que los agentes quelantes, actúan en dos formas, ambos contribuyendo al hinchamiento del hidrogel. En el primer caso, los iones divalentes son retirados de la matriz, provocando un decrecimiento del número de uniones físicas y reduciendo la fuerza de retracción elástica de la red. En el segundo caso, el reemplazo de los iones divalentes de reticulación, involucrados en las uniones entre cadenas, por iones monovalentes incrementan el número de contraiones disociables (un ión divalente por dos iones monovalentes) por lo que también aumenta la presión osmótica.

Después de todo lo reportado, es claro que los fosfatos, citratos, lactatos y EDTA deben ser evitados a la hora de emplear hidrogeles de alginato con calcio, desde que la presencia de estos agentes quelantes removerán los iones de reticulación de la red. De esta manera, las altas concentraciones de iones competidores, como sodio (Na^+) soluciones salinas fisiológicas (concentraciones del orden 0.15 M NaCl) obstaculizarán la estabilidad de la red (Donati y Paoletti, 2009; LeRoux y col., 1999).

Otro enfoque para estabilizar geles de alginato comprende la introducción de enlaces covalentes cruzados además de los físicos (inducidos por iones). Se han intentado diversas técnicas químicas, incluido el injerto covalente de alginato con polímeros sintéticos, una combinación de enlaces cruzados covalentes e iónicos en el polisacárido, así como también la articulación directa con poli-L-lisina en alginato. Un inconveniente en la modificación química directa del alginato es la falta de selectividad; de hecho, la mayoría de las modificaciones se dan en los bloques G de la cadena de polímero, dificultando la posterior formación del gel. Estudios recientes han demostrado que es posible modificar los bloques M, estableciendo un posible precedente para mejorar este problema (Donati y Paoletti, 2009).

Finalmente, se ha encontrado que la composición de las cadenas de alginato tiene un profundo impacto en la estabilidad. Particularmente, las cadenas largas con secuencias alternadas conducen a un gel de alta estabilidad, que incluso puede resistir al hinchamiento bajo condiciones de mayor salinidad.

Características reológicas

Es muy importante comprender claramente las características moleculares que controlan la rigidez y elasticidad de la red, para poder seleccionar la muestra de alginato adecuada en cada aplicación.

Generalmente, la caracterización reológica de los geles de alginato se realiza para cuantificar el módulo de rigidez aparente basado en pequeñas deformaciones en la dirección longitudinal (compresión o elongación) o en pequeñas deformaciones de esfuerzo cortante. La naturaleza viscoelástica de las redes basadas en alginato, así como de algunos otros polisacáridos, puede ser explorada por medio de medidas dinámicas que permiten la determinación de los módulos elástico (G') y viscoso (G'').

Los geles de alginato son consideradas redes físicas de gelificación en frío y este proceso no depende de la temperatura. Sin embargo, como los geles de alginato pueden ser consideradas redes de no-equilibrio, la cinética de la gelificación, así como las propiedades del sistema final, dependen del historial térmico, como ya fue explicado anteriormente. La transición sol-gel, en el caso de los geles de alginato, se consigue mediante la adición de iones divalentes, siendo también un proceso independiente de la temperatura (Draget y Taylor, 2011; Donati y Paoletti, 2009).

Cuando se habla de un *rango corto de deformación* se hace referencia a la parte de la curva de deformación del alginato en la cual se puede observar una relación lineal entre la tensión en la red y la tensión aplicada (siguiendo la ley de Hooke). El módulo elástico es frecuentemente usado para medir la fuerza de la red de alginato. Desde un punto de vista técnico, las propiedades mecánicas del alginato dependen del promedio de deformación, el grado de deformación y la eventual ruptura del gel.

Generalmente, el módulo elástico se ve afectado por la cantidad de uniones entre cadenas mediadas por iones, la concentración y composición del alginato y en cierto grado, por el peso molecular. La dependencia de las propiedades mecánicas respecto del número de enlaces entre cadenas mediados por iones es fácilmente comprensible, una mayor cantidad de uniones (lo cual establece un mayor número de cadenas elásticamente activas por unidad de volumen) se formarán cuanto mayor sea el número de iones divalentes dentro del sistema. Bajo este mismo concepto (es decir debido al número de cadenas elásticamente activas por unidad de volumen) la concentración del polisacárido tiene un fuerte impacto en el módulo elástico del gel de alginato.

El tipo de catión divalente empleado en la gelificación muestra también un notable impacto en las propiedades mecánicas del hidrogel. Se ha reportado que el mínimo de bloques G requeridos para la formación de uniones disminuye cuando aumenta la afinidad de los iones por las cadenas de alginato (Stokke y col., 1991). Como consecuencia, los cationes que se unen más fuertemente a los restos urónicos presentes en el polisacárido forman un mayor número de uniones (por lo tanto más cadenas elásticamente activas) por unidad de volumen. Este efecto, combinado con un aumento de la fuerza en la unión, lleva a un aumento en las propiedades mecánicas del hidrogel. Desde un punto de vista genérico, la rigidez de los geles de alginato disminuye según el orden $Pb > Cu, Ba > Sr > Cd > Ca > Ni > Zn > Co > Mn$ (LeRoux y col., 1999). Asimismo, la composición del polisacárido juega un papel fundamental en las propiedades mecánicas

de los geles. Particularmente, la fortaleza del gel tiene una correlación directa con la cantidad de bloques G presentes en las cadenas, más que relacionado a la cantidad de residuos de ácido urónico.

El estudio de las propiedades de los geles de alginato sometidos a *grandes esfuerzos de deformación* son indudablemente los más importantes en el área de desarrollo en ingeniería en alimentos, donde procesos típicos como corte/rebanado y masticado deben ser considerados. Sin embargo, un claro entendimiento del comportamiento de deformación de la red del gel tiene un gran impacto en el desarrollo de productos a base de alginato usados como biorreactores en el área de medicina regenerativa.

Es de amplio conocimiento que la curva de esfuerzo-deformación (Figura 9) de los geles de alginato tiene una región lineal que se extiende aproximadamente hasta una deformación del 10-12% de la muestra original. Sin embargo, en aquellos geles que se encuentren más saturados, esta linealidad entre el esfuerzo y la deformación puede extenderse hasta un valor del 6-8%. La región lineal viene seguida por una región no lineal que usualmente se describe como 'endurecimiento por deformación', lo cual es bastante común en geles de biopolímeros y consiste en un repunte de la curva esfuerzo-deformación. Se ha encontrado que en algunos geles de alginato saturados en cationes (tales como los del calcio), existe una región de comportamiento plástico, donde se producen enormes deformaciones con la aplicación de pequeños aumentos en el esfuerzo aplicado. Se sabe que la extensión de esta zona de comportamiento plástico está relacionada con la presencia de secuencias alternantes de los bloques que conforman la cadena.

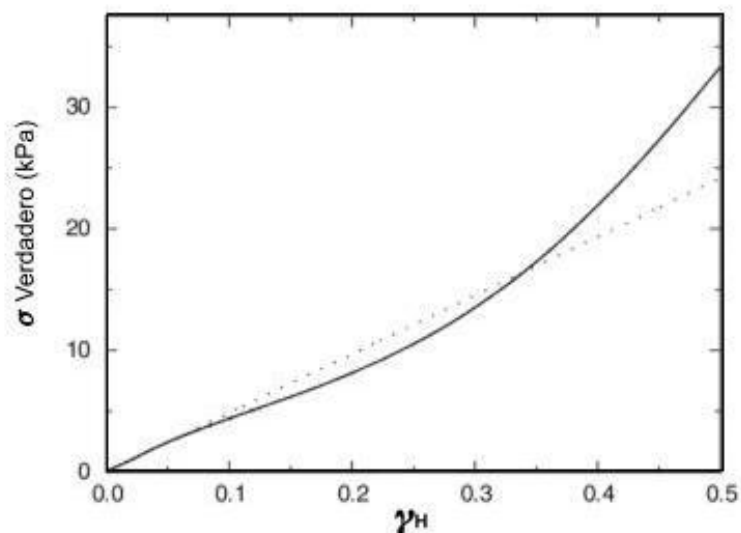


Figura 9. Dependencia del esfuerzo real con la deformación de Hencky para hidrogeles saturados. La línea punteada representa la continuación de la relación lineal esfuerzo-deformación. Figura obtenida de Donati y Paoletti, 2009.

Existen diversas teorías sobre la zona no lineal de la función; algunos autores afirman que este efecto es provocado por una cristalización inducida por deformación. En contraste, otros autores establecen que esta región no lineal sigue el comportamiento de elasticidad de red no Gaussiana, que se basa en la elasticidad finita de las cadenas poliméricas, lo cual explica perfectamente el comportamiento.

Diferentes investigaciones se han enfocado en el estudio de las propiedades de los geles de alginato sometidas a deformaciones; en todas ellas, la presencia de iones que inducen las uniones es considerada como el factor más importante responsable de la zona no lineal de la gráfica tensión-deformación de las redes de alginato. En la última década, algunos investigadores propusieron la posible participación directa de las uniones en el endurecimiento por deformación de los geles de alginato. De acuerdo a este modelo, la tensión absoluta (σ) puede ser descrita (Ec. 4) como una composición de dos contribuciones:

$$\sigma = \sigma_c + \sigma_j \quad (4)$$

donde σ_c es la tensión que surge de la deformación (entrópica) de las cadenas elásticamente activas, y σ_j es la tensión producida por la deformación (energética) de las uniones.

En la práctica, a bajas tensiones las uniones físicas (inducidas por iones) no se verán deformadas y el sistema se ve completamente descrito por un enfoque entrópico. En contraposición, cuando el sistema es sometido a un rango de tensión grande, esta tensión será transmitida a las uniones de la red, deformándolas y eventualmente causando una ruptura de las mismas. En el caso de la red de alginato, la tensión de fractura, es decir, la tensión requerida para causar la ruptura de la estructura, puede correlacionarse de forma directa con la fuerza y el número de uniones por unidad de volumen. Sin embargo, no existe una relación directa entre la tensión de ruptura y el módulo elástico. Tras la ruptura de una unión, la tensión será transferida a las uniones vecinas, acelerando el proceso de fractura.

Es interesante relatar que la fractura por tensión de los geles de alginato depende tanto de los cationes de articulación, así como también de la concentración del polisacárido, mientras que la fractura por deformación no parece estar afectada por ninguno de estos dos parámetros. Es destacable que los hidrogeles de alginato, al ser considerados materiales visco elásticos, presentan características de fractura afectadas por el índice de deformación (Donati y Paoletti, 2009).

Influencia de diferentes factores sobre las propiedades de difusión de geles de alginatos

Todas las propiedades de difusión de los hidrogeles de alginato están determinadas por el tamaño del poro y la distribución de estos en la red del gel. La difusión de moléculas pequeñas se ve poco afectada por el hidrogel de alginato. Sin embargo, la difusión de moléculas más largas, como las proteínas, está restringida de cierta forma, ya que depende del peso molecular y la forma.

La difusión de moléculas a través del gel de alginato depende tanto de la concentración de los iones de reticulación como de la concentración y composición del polímero. El empleo de concentraciones altas de iones divalentes induce la formación de un gel más compacto con la posibilidad de que algunas uniones colapsen. Esto conduce a la obtención de tamaños mayores de poros, lo que permite una mayor difusión de las moléculas, como proteínas (Donati y Paoletti, 2009).

Un incremento en la concentración del polisacárido induce a una reducción del tamaño de los poros, mientras que un incremento de los bloques G en la cadena de polímero tiene el efecto opuesto. Este último efecto tiene correlación con la condensación de las uniones tras la adición de los iones divalentes, que se ve favorecida por la presencia de largos bloques G (Donati y Paoletti, 2009).

2.1.2 Geles de origen proteico

Otro sistema bien conocido de geles es el proporcionado por proteínas obtenidas de origen animal. Las características de composición y configuración de las moléculas proteicas les confieren propiedades funcionales, especialmente relacionadas con la textura, de gran interés. Debido a la posibilidad de rotación de los carbonos α en relación con el enlace peptídico y de la diversidad estructural que introducen las cadenas laterales de los aminoácidos, son variables los tipos de interacciones que pueden producirse entre ellas o con otros componentes de los alimentos en función de las características del entorno. El comportamiento de una determinada proteína viene determinado por la secuencia aminoacídica, la conformación tridimensional, la carga neta y por su peso molecular. Estos factores primarios definen el carácter hidrofóbico o hidrofílico de la molécula, lo cual es fundamental para comprender el tipo de interacción que puede establecer.

Una discusión de la gelificación requiere la definición de algunos términos asociados al fenómeno y que involucran la interacción entre proteínas en competencia con la interacción proteínas-disolvente. Estas pueden clasificarse según si se producen entre proteínas únicamente; si lo hacen entre proteínas y moléculas de agua o iones; entre proteínas, moléculas de agua, iones y otras macromoléculas; o si se llevan a cabo en interfases.

- Agregación: término general en el que participan diferentes tipos de interacción proteína-proteína incluyendo la floculación, coagulación y gelificación.
- Floculación: agregación al azar de proteínas sin cambios estructurales. La interacción entre proteínas ocurre por lo general por una disminución de las fuerzas de repulsión electrostática entre las cadenas.
- Coagulación: agregación al azar de proteínas desnaturalizadas. Conduce a la formación de un entramado de gel heterogéneo o coágulo.
- Gelificación: agregación ordenada de proteínas con importantes cambios conformacionales. Las moléculas desnaturalizadas se agregan para formar una red proteica ordenada.

Las interacciones entre proteínas se estudian en su mayoría debido a las propiedades de texturización (formación de una matriz proteica) o según su capacidad para fijar aromas, si las moléculas empleadas son volátiles. Entre las interacciones de las proteínas en interfase (*fase acuosa - proteína - fase oleosa o líquido - proteína - gas*) podemos encontrar las emulsionantes y espumantes.

Cuando la interacción se da entre proteínas y agua se pueden observar propiedades de solubilidad y retención de agua, así como de gelificación. Los factores más

importantes de estos sistemas están asociados con la estructura, la capacidad de disociación, agregación, hidrofobicidad, fuerza iónica, coagulación, pH y concentración mínima de macromoléculas en el medio (Boatella y col., 2004).

Aunque no se conoce el mecanismo exacto y las interacciones relativas a la formación de la red proteica tridimensional característica de los geles, los estudios señalan la necesidad de una desnaturalización y desdoblamiento de la proteína, como pasos previos para la interacción ordenada proteína-proteína y agregación (Cheftel y col., 1989).

La formación de la red proteica se considera como el resultado de un equilibrio entre las interacciones proteína-proteína, las interacciones proteína-solvente (usualmente agua) y fuerzas atractivas y repulsivas entre las cadenas polipeptídicas próximas. Se sabe que las fuerzas atractivas están dadas por las interacciones hidrofóbicas, que se ven favorecidas a altas temperaturas; las interacciones electrostáticas; enlaces de hidrógeno, favorecidos por las bajas temperaturas; y/o uniones disulfuro. Las repulsiones electrostáticas (sobre todo a pH alejados del punto isoeléctrico) y las interacciones proteína-agua, tienden a mantener las cadenas peptídicas alejadas. Las atracciones proteicas, y por lo tanto la gelificación, se producen más rápidamente a concentraciones elevadas de proteínas, dada su mayor probabilidad de contactos intermoleculares. El establecimiento de uniones covalentes disulfuro conduce, a menudo, a la formación de geles térmicamente irreversibles (Cheftel y col., 1989).

La gelificación térmica puede ocurrir durante el calentamiento (por ejemplo proteínas de soja, yema de huevo, proteínas de lactosuero) o tras un proceso de enfriamiento (por ejemplo gelatina, lisozima) dependiendo de la proteína y de las condiciones de gelificación. Se sabe que algunas proteínas de naturaleza diferente pueden formar geles cuando se calientan juntas, en el proceso de gelificación. Las proteínas también pueden formar geles por interacciones con agentes polisacáridos gelificantes. Las interacciones iónicas no específicas entre proteínas animales (aquellas con carga neta positiva) y los alginatos o pectinatos cargados negativamente, producen geles de alto punto de fusión (Cheftel y col., 1989).

Se ha reportado ampliamente que la dureza mecánica de los geles de muchas proteínas de origen animal aumenta con la temperatura de gelificación mientras que su capacidad de retención de agua se ve disminuida. Esto se debe a que las temperaturas elevadas favorecen las interacciones proteínas-agua, produciendo geles más heterogéneos, y desordenados, lo que provoca que la fase acuosa que se retiene pueda extraerse con mayor facilidad al comprimir. El ajuste del pH al punto isoeléctrico tiene el mismo efecto, debido a que se eliminan las repulsiones electrostáticas entre las cadenas (Cheftel y col., 1989).

Las proteínas miofibrilares de los músculos estriados de mamíferos y pescados, que gelifican bajo procesos de calentamiento, actúan como agentes ligantes en carnes procesadas (picadas, trituradas o reconstruidas por compresión); estabilizan emulsiones; dan consistencia homogénea, lisa y elástica. La obtención de las características reológicas deseadas y satisfactorias depende de la naturaleza de las proteínas, de su mantenimiento al estado natural antes de la fabricación del producto, de la presencia de sales neutras y de las condiciones de calentamiento establecidas para conseguir la

gelificación. Parece ser necesaria cierta extracción de la miosina por disolución salina (también conocido como '*Salting in*' usualmente llevado a cabo con cloruro de sodio) para obtener una gelificación conveniente (Cheftel y col., 1989).

Propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales de geles de proteínas miofibrilares

Además de su función nutricional, las proteínas juegan un papel importante en la expresión de los atributos sensoriales de los alimentos. Las preferencias alimentarias de los consumidores están basadas fundamentalmente en las propiedades organolépticas de los alimentos, como el color, el flavor o la textura. La proteína es uno de los ingredientes que más contribuye a las propiedades sensoriales de los alimentos. Las propiedades funcionales son influenciadas y varían de acuerdo con la fuente de proteína, el método de aislamiento, precipitación y secado/deshidratación, modificación (hidrólisis enzimática, hidrólisis alcalina o ácida, química) y varias condiciones ambientales tales como la temperatura, el pH y la fuerza iónica.

Kinsella y Melachouris (1976) definieron a las propiedades funcionales como "aquellas propiedades físicas y químicas que afectan el comportamiento de las proteínas en los sistemas alimentarios durante su procesado, almacenamiento, preparación y consumo". Estas propiedades de las proteínas son una consecuencia de sus propiedades físico-químicas tales como su tamaño, masa molecular, distribución de carga, hidrofobicidad, carácter hidrofílico, estructura (primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria), flexibilidad y rigidez molecular. Sin embargo, la predicción del comportamiento de las proteínas en sistemas alimentarios reales no es en absoluto una tarea simple. Una de las principales razones de esta dificultad es la desnaturalización de las proteínas durante el procesado y preparación de los alimentos. Una combinación de factores como el pH, la temperatura, el entorno iónico o la interacción con otros componentes del alimento (lípidos, carbohidratos, sales, entre otros) puede causar en la proteína cambios estructurales impredecibles, afectando así su comportamiento funcional (Romero García, 2008).

- Interacciones proteína-agua

El agua es un constituyente esencial de toda materia viva y por supuesto también de los alimentos. La estructura nativa que adquiere una proteína es consecuencia directa de su interacción con el agua que actúa como disolvente. Así, las diferentes propiedades funcionales de las proteínas pueden verse como manifestaciones de su interacción con el agua. Las moléculas de agua se unen tanto a los grupos polares como a los no polares (hidratación hidrofóbica) de las proteínas mediante interacciones tipo dipolo-dipolo, ión-dipolo, y dipolo-dipolo inducido. Por lo tanto, la capacidad de hidratación de las proteínas depende en gran medida de la composición de aminoácidos de la misma, de forma que cuanto mayor sea el número de residuos con carga, mayor será la capacidad de hidratación. Las condiciones de la disolución en la que se encuentra la proteína, como el pH, la fuerza iónica o la temperatura, afectan a la hidratación de las proteínas. La capacidad de hidratación es mínima en el punto isoeléctrico (PI) de la proteína, en el que la carga neta es cero y la interacción proteína-proteína es máxima.

En las aplicaciones alimentarias, la capacidad de retención de agua de una proteína es más importante que su capacidad de hidratación. La capacidad de retención de moléculas de agua se refiere a la habilidad de una matriz proteica para absorber y

mantener agua atrapada en el interior de la estructura en contra de la gravedad (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986; Romero García, 2008). Hamm (1961) determinó que no más del 44% del agua total del músculo puede unirse fuertemente a las proteínas musculares. Además, se demostró que la cantidad de agua estrechamente unida apenas se ve influenciada por los cambios en la estructura y las cargas de las proteínas. Concluyó que los cambios considerables en la capacidad de retención de agua de la carne causados por cambios en las cargas proteicas (pH, iones, etc.) no se debieron a ningún cambio de agua de hidratación fijada a los grupos polares. En contraste con el agua de hidratación estrechamente unida, la cantidad de agua "libre" inmovilizada dentro del tejido está fuertemente influenciada por la estructura espacial del tejido muscular. Según sus estudios, a ciertos valores de pH o en presencia de ciertos iones, el músculo puede tomar en forma "inmovilizada" 700-800 g agua por 100 g proteína. Autores como Zhang y col. (2015) encontraron un aumento de la capacidad de retención de agua relacionado directamente con un aumento en la presión ejercida sobre las proteínas miofibrilares en un proceso previo a la formación del gel, llegando a la conclusión de que la desnaturalización proteica favorece la interacción de éstas con el agua, frente a su estructura nativa.

- Solubilidad

Muchas propiedades funcionales de las proteínas, como la capacidad de espesamiento, formación de espumas, emulsiones o geles, se encuentran afectadas por su solubilidad. La solubilidad de la proteína está fundamentalmente relacionada con el equilibrio entre hidrofobicidad e hidrofilia. La solubilidad de la proteína en soluciones acuosas depende del pH. La solubilidad mínima ocurre en el punto isoeléctrico, donde la repulsión electrostática y la hidratación de los iones son mínimas y la interacción hidrofóbica entre los residuos no polares es máxima.

Las sales pueden promover la disolución (*salting-in*) o la precipitación de las proteínas (*salting-out*), en función de la concentración y la naturaleza de la sal empleada, así como de las características físico-químicas de la superficie de la proteína. Así, para proteínas con un alto contenido en residuos hidrofílicos, a un pH alejado del pI y una fuerza iónica alta, la solubilidad aumenta. Mientras que para proteínas con un elevado contenido de residuos hidrofóbicos, la solubilidad disminuye al aumentar la fuerza iónica (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986; Romero García, 2008). Las proteínas miofibrilares tienen una solubilidad menor a las proteínas sarcoplasmáticas, pero superior a las proteínas de estroma. Son casi siempre solubles en soluciones salinas de baja fuerza iónica ($\mu \approx 0,6$), pero aproximadamente la mitad de ellas son extraíbles en medio acuoso (Cheftel y col., 1989).

- Efectos de las sales

Generalmente, las sales neutras influyen en la estabilidad de las macromoléculas de dos formas: primero electrostáticamente y luego liotrópicamente. El efecto electrostático de los iones depende principalmente del signo y la magnitud de la carga iónica, mientras que el llamado efecto liotrópico (Hofmeister o ión específico) se origina por otras propiedades de los iones, independientes de la carga. Sin embargo, los mecanismos exactos no son tan simples. Así mismo, el efecto liotrópico también puede involucrar

algunos aspectos de la estructura iónica, incluidas características electrónicas como la densidad de carga, la polarización y el movimiento de dipolos (Asghar y col., 1985).

Dado que las interacciones proteína-proteína están controladas por el mismo tipo de interacciones que estabilizan la conformación intramolecular de proteínas nativas, los iones que favorecen el despliegue de macromoléculas nativas en solución acuosa (reductores de temperatura de transición) también pueden aumentar la exposición de los sitios de interacción proteína-proteína. Se espera que las sales que contienen iones como I^- , SCN^- , ClO_4^- y Ca^{+2} favorezcan la desestabilización de la conformación y la despolimerización de proteínas que implican equilibrios de asociación y disociación de subunidades. Por otro lado, aquellos iones (como F^- o SO_4^{-2}) que elevan la temperatura de transición deberían favorecer la estabilización de la conformación y la forma asociada, mientras que algunos iones (Na^+ , K^+ , Cl^-) no tienen efecto sobre la conformación de la proteína (Asghar y col., 1985).

Muchos científicos han intentado dar una explicación del efecto diferencial de diferentes sales sobre las proteínas, en general, basándose en principios fisicoquímicos que determinan las propiedades de los electrolitos. Se sabe que en solución acuosa los electrolitos y sus iones constituyentes están presentes como iones hidratados. La magnitud de la hidratación depende de la esteoquímica de los iones con carga opuesta, la densidad de carga y de si la intensidad del campo electrostático se extiende en las tres dimensiones o se limita a dos dimensiones. También se ha observado que las sales con iones débilmente hidratados, como SNC^- , se adsorben fuertemente de las soluciones acuosas, y aquellas con iones fuertemente hidratados, tales como Cl^- o SO_4^{-2} , muestran una adsorción negativa. Dado que los iones altamente hidratados, debido a sus grandes radios, se mantienen a una gran distancia de los grupos con cargas opuestas de una proteína, no se espera que seleccionen los grupos cargados con tanta eficacia como los iones menos hidratados (Asghar y col., 1985).

No hay duda de que la adsorción de iones H^+ (ácido) u OH^- (álcali) provoca el hinchamiento de algunas proteínas fibrosas debido a las fuerzas osmóticas del equilibrio de Donnan. En este caso, los iones correspondientes del ácido o álcali se mantienen por atracción electrostática en la vecindad de los iones H^+ y OH^- , respectivamente, para formar una doble capa eléctrica. La adición de sales neutras a un sistema ácido o alcalino disminuye el hinchamiento ya que los iones de la sal añadida se disponen de tal manera que neutralizan el campo electrostático de la capa adsorbida. Es probable que las sales que contienen iones polivalentes sean más efectivas para neutralizar el campo eléctrico existente y, por lo tanto, reduzcan el potencial de hinchamiento de una proteína más que los iones univalentes (Asghar y col., 1985).

Algunos estudios indican que la mayoría de las sales aumentan la exposición del enlace peptídico al disolvente, por desplegamiento, posiblemente debido a interacciones directas entre iones y grupos amida (Nandi y Robinson, 1972). Estas conclusiones pueden extenderse al efecto de las sales neutras sobre las proteínas (Von Hippel y col., 1973). Estudios posteriores demostraron que el efecto de las sales sobre los grupos peptídicos y no polares en una proteína es aditivo de forma independiente (Nandi y Robinson, 1972).

La unión de iones con proteínas no solo afecta las características de hidratación de las proteínas, sino que también influye en su temperatura de fusión. Se reportó que los componentes aniónicos y catiónicos de una sal afectan la temperatura de fusión de una proteína de una manera algebraicamente aditiva (Von Hippel y Wong, 1965). La unión "positiva" de los iones a los sitios potencialmente activos de una proteína provoca el desplazamiento del agua, mientras que la unión "negativa" aumentaría la interacción del agua con los sitios activos. Por tanto, parece haber una competencia entre las moléculas de agua y las sales neutras añadidas por los sitios de unión potenciales, y que la energía libre de transferencia y la temperatura de fusión, se reduce si la sal añadida desplaza preferiblemente el agua de la proteína. De lo contrario, la energía libre de transferencia y la temperatura de fusión aumentan si los iones agregados, de alguna manera, hacen que haya más agua disponible para la interacción con los sitios de unión que en ausencia de iones.

El mecanismo por el cual los iones afectan la temperatura de fusión de una proteína implica una competencia tripartita entre tres variables, a saber, los grupos no polares de la macromolécula, los iones y la red de agua. Todas estas variables tienden a imponer un orden particular a la red. Desde este punto de vista, los iones interruptores de estructuras de agua hacen que las estructuras dispongan de menos agua alrededor de los grupos expuestos no polares de las macromoléculas, de la que es posible en la red de agua no perturbada. Dado que las moléculas de agua tienen una capacidad de donación de H^+ relativamente mayor que el potencial de aceptación de H^+ , los aniones, al asociarse con los átomos de hidrógeno del agua fácilmente disponibles y orientados externamente, ejercen muchos menos efectos adversos sobre las asociaciones de agua existentes que los cationes. Es posible que los cationes necesiten un contacto directo con átomos de oxígeno relativamente inaccesibles de las moléculas de agua. Por lo demás, los cationes pueden considerarse como interruptores de la estructura y los aniones como formadores de la estructura del agua, particularmente aquellos aniones que son lo suficientemente pequeños para asociarse con átomos de hidrógeno de una molécula de agua (Asghar y col., 1985).

Todas estas consideraciones sugieren que varios factores explicarían el efecto de las sales añadidas sobre los cambios conformacionales en un biopolímero. Se pueden resumir como:

1. Efecto sobre la distribución de los contraiones hidratados en la proteína: la influencia de los contraiones depende en gran medida del tipo de campo eléctrico en los grupos cargados de la cadena lateral y en el grupo vecino en una proteína.
2. Efecto sobre las estructuras de agua y las tensiones interfaciales: por ejemplo, el NaCl agregado disminuye la aleatoriedad del agua y aumenta la tensión interfacial, lo que conduce a un aumento en la estabilidad de la estructura helicoidal de una proteína.
3. Efecto sobre el potencial hidrófilo de la proteína: las sales agregadas pueden reducir el número de sitios disponibles y su potencial para unirse a moléculas de agua. Un efecto inverso, es decir, un aumento en la hidratación, también puede ocurrir en el punto isoeléctrico de una proteína, donde los iones híbridos tienden a disociarse con los iones de la sal agregada, rompiendo así la estructura de iones

híbridos mínimamente hidratada y manteniendo las moléculas de agua dentro del recién formado campo electrostático.

4. Efecto sobre el potencial hidrófobo de la proteína: es probable que la adición de un compuesto que contenga grupos hidrófobos reduzca la tensión interfacial del agua, lo que conduce a una reducción de la adherencia hidrófoba y de la estabilidad conformacional de la proteína.

Diferentes investigadores tales como Hamm (1986) y Bello y col. (1966) han estudiado ampliamente la forma en que diversas sales inorgánicas afectan la capacidad de retención de agua de las proteínas de la carne. Se informó que las sales neutras aumentan la WHC de la carne en el lado básico del rango de pH, mientras que provocan una disminución en el lado ácido. Además, se reportó que la fuerza de unión relativa de diferentes iones con proteínas era responsable de su efecto diferencial sobre la capacidad de retención de agua. Probablemente, es por eso que el efecto de los aniones sobre la WHC fue más marcado en el lado alcalino del punto isoeléctrico. Se encontró el efecto opuesto en el lado ácido. La adición de NaCl no solo provoca un ligero aumento del pH, sino que también reduce el punto isoeléctrico de la proteína. El aumento del pH se atribuyó al hecho de que los grupos COO^- disociados son mejores aceptores de H^+ que los grupos carboxilo que están implicados en los enlaces salinos (Asghar y col., 1985).

Se ha informado que cationes divalentes, tales como calcio, magnesio y zinc (Ca^{+2} , Mg^{+2} y Zn^{+2} respectivamente) disminuyen la capacidad de unión de agua, presumiblemente debido a la condensación de la estructura muscular al formar puentes cruzados entre las cadenas de péptidos. El efecto de los cationes divalentes es más severo en el lado alcalino del punto isoeléctrico, lo que sugiere que los grupos ácidos ($-\text{COOH}$) están involucrados en la unión con cationes divalentes. Estos cationes divalentes pueden participar tanto en la coordinación de grupos carboxilo ($-\text{COOH}$), como de grupos sulfhidrilo ($-\text{SH}$) e hidroxilo ($-\text{OH}$) de proteínas y grupos fosfato ($-\text{PO}_4^{-3}$), grupos de nucleótidos, asociados con proteínas. Dado que la atracción electrostática de los cationes monovalentes por las proteínas es mucho más débil que la de los divalentes, los primeros tienen poco efecto sobre la capacidad de retención de agua de la carne. Se ha sugerido que un tipo de unión entre los enlaces de sal y péptidos conduce a un reordenamiento electrónico significativo dentro de los enlaces amida, que, a su vez, provocan una reducción en el carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico y, por lo tanto, "desbloquean" estos enlaces (con respecto a la isomerización cis - trans), lo que permite la rotación libre alrededor del enlace $-\text{N}-\text{C}-$. Eventualmente, esto da como resultado el colapso parcial de la conformación proteica organizada (Asghar y col., 1985).

En presencia de sales como cloruro de sodio o cloruro de calcio (por ejemplo, 2% NaCl + 0,3% pirofosfato de Na) que normalmente se añaden en productos cárnicos estructurados, las miofibrillas se hinchan significativamente. Se ha alcanzado una hinchazón máxima de éstas a concentraciones de cloruro de sodio tales como 0,8 M. Sin embargo, se ha encontrado que se produce un hinchamiento equivalente en condiciones 0,4 M de NaCl en presencia de pirofosfato de sodio en concentración 10 mM (Asghar y col., 1985). Sin embargo, con un contenido de sal muy bajo ($<0,1$ M de NaCl), el espacio entre los filamentos disminuye debido a un efecto de cribado de los aniones que se establecen en una capa compacta cerca de los grupos cargados de la proteína. Se

supone que los aniones se mantienen a una distancia mayor de los grupos cargados en la doble capa eléctrica difusa a una concentración iónica muy baja, pero a una concentración alta los cationes comprimen la doble capa que rodea al carboxilo, por tanto aumenta la fuerza repelente de éste último. Esto da como resultado un aumento de la capacidad de retención de agua por el sistema.

- Capacidad de absorber agua

Además de la solubilidad de las proteínas, hay otra gran cantidad de interacciones con el agua importantes, que incluyen propiedades de unión, absorción, viscosidad, gelificación, sinéresis y tensión superficial. La absorción de agua y la unión al agua se emplean muchas veces como sinónimos; el primero se define como el agua absorbida por un polvo de proteína seca, después del equilibrio contra el vapor de agua de una humedad relativa conocida. La unión al agua connota el agua retenida por una proteína después de la filtración y la aplicación de una presión suave o fuerza centrífuga. La medida de la hinchazón de las proteínas es otra forma de medida de agua retenida. Este proceso de retención de agua es una propiedad funcional importante en alimentos como salchichas, postres de nata y masas. En estos alimentos, las proteínas absorben agua, pero no se disuelven debido a falta de esta. En consecuencia se hinchan e imparten características como espesamiento, cuerpo y viscosidad (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986; Romero García, 2008).

- Viscosidad y capacidad espesante

La aceptación por parte del consumidor de los alimentos líquidos o semisólidos depende en gran medida de la viscosidad o consistencia del producto. La viscosidad de las soluciones proteicas usualmente aumenta de manera exponencial con la concentración de proteínas. Esto se atribuye a la mayor interacción entre las moléculas hidratadas de proteína. Además, la capacidad de las proteínas para absorber agua y aumentar de volumen afecta su viscosidad. La desnaturalización parcial y/o la polimerización inducida por calor producen un aumento del tamaño hidrodinámico de las proteínas, aumentando la viscosidad. La viscosidad específica de las soluciones de proteínas, η_{sp} (Ec. 5) se ve afectada principalmente por dos factores, la forma hidrodinámica y el tamaño de las moléculas, siguiéndose la siguiente relación:

$$\eta_{sp} = \beta C(\nu_2 + \delta_1 \nu_1) \quad (5)$$

donde β es un factor de forma, C es la concentración, ν_1 y ν_2 son los volúmenes parciales específicos del solvente y de la proteína, respectivamente, y δ_1 son los gramos de agua ligados por gramo de proteína (Romero García, 2008).

Las condiciones del medio, como pH, fuerza iónica y temperatura, afectan la viscosidad de las soluciones proteicas. La viscosidad de las soluciones de proteínas globulares generalmente decrece conforme el pH disminuye hacia el punto isoelectrico de la proteína. El aumento de la fuerza iónica normalmente produce una disminución de la viscosidad, ya que afecta a su capacidad de hidratación (Kinsella y Melachouris, 1976; Romero García, 2008).

- Flavor

La capacidad de las proteínas para captar sabores está relacionada con la interacción de flavorizantes de bajo peso molecular con pequeños huecos hidrofóbicos que hay en la superficie de la proteína. Esta capacidad será mayor o menor en función del número de huecos hidrofóbicos. Los flavorizantes de carácter polar también pueden unirse a la proteína mediante puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas. Esta capacidad permite el uso de las proteínas como transportadores o modificadores del flavor, aunque siempre hay que tener en cuenta que las proteínas no tienen la misma afinidad por todos los flavorizantes.

Irónicamente, el aspecto flavorizante de las proteínas ha sido estudiado más debido a los problemas de flavor desagradables que a los relacionados con los aspectos positivos. Para estas aplicaciones, la habilidad de enmascarar flavors y mantener el sabor de la carne deseado está marcadamente determinada por la capacidad de unión de las proteínas (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986).

- Capacidad de unión a otros componentes

La habilidad de las proteínas para unir, absorber y adsorber otros componentes de los alimentos es un atributo muy importante. Respecto al término 'unión' hace referencia a la capacidad de las proteínas de mantener juntos los componentes de un alimento en estado sólido, semisólido o fluido, y en algunos casos implica la prevención o retraso de la pérdida de componentes volátiles tales como agua o componentes de aroma. Esta capacidad de unión es una muy importante característica funcional relacionada con los sabores, aromas, lípidos, agua y otros componentes de la matriz; así mismo es importante cuando se habla de adhesión, capacidad de formar películas, la formación de fibras y la viscosidad. Esta capacidad junto con sus características está influenciada por el pH (o la carga de la molécula), la fuerza iónica (contraiones, conformación, grado de hidratación), los cuales afectan las propiedades de superficie, y el área de superficie de las moléculas de proteína, la presencia de carbohidratos y lípidos, el grado (y finura) de la grasa emulsionada, tamaño de partícula de proteína, grado de agitación mecánica, modificación por enzimas o productos químicos, y por supuesto, tratamientos térmicos. El hecho de que la unión se mida en las interfases aire-agua o lípidos-agua, también influye en las características de unión. Generalmente, cuanto mayor sea la hidrofobicidad de la proteína, la cual reducen la tensión superficial, mayor es la unión de materiales lipófilos, es decir, emulsionantes, flavors y lípidos.

Las proteínas solubles en soluciones salinas (SSP de su nombre en inglés Salt-Soluble Protein) son importantes para mantener unidos los componentes de la carne, así como también, dan estructura y aportan textura a los procesados de carne. La capacidad adhesiva o aglutinante de estas proteínas se ejemplifica por su capacidad para unir firmemente los trozos de carne molida y homogeneizados deshuesados para formar rollos o panes adecuados para rebanar luego de ser calentados bajo presión (Kinsella y Melachouris, 1976; Hamm, 1986).

Gelificación

Gran parte de las características que presentan una gran variedad de alimentos están determinadas por la propiedad de gelificar de las proteínas durante su calentamiento. Por

ejemplo, la textura, propiedades organolépticas, rendimiento y calidad de productos como embutidos, quesos, yogur, tofú, huevo duro y postres de gelatina están vinculados a la formación de un gel proteico. Los geles proteicos son estructuras altamente hidratadas, que contienen de 85 a 98% en peso de agua, en función de la concentración de proteína utilizada. En la industria alimentaria la gelificación normalmente consiste en un proceso de calentamiento-enfriamiento de una dispersión proteica de concentración apropiada. Las condiciones de temperatura y tiempo a utilizar son propias de cada proteína y estarán determinadas por la temperatura de desnaturalización de la misma en las condiciones del ensayo (Romero García, 2008).

Los geles exhiben propiedades microestructurales y mecánicas muy diversas de tal forma que es difícil definirlos. Las proteínas pueden formar dos tipos de geles: coágulos o geles transparentes. El tipo de gel formado por una proteína depende fundamentalmente de su composición aminoacídica, aunque las condiciones ambientales (pH, fuerza iónica) también influyen. Las proteínas con alto contenido en residuos apolares forman a menudo geles débiles tipo coágulo, mientras que las proteínas que tienen un elevado contenido en residuos hidrofílicos tienden a formar geles transparentes (Romero García, 2008). La concentración de proteínas es uno de los factores más importantes que determinan las características finales de los geles. La mayoría de las proteínas exhiben una concentración mínima, por debajo de la cual no gelifican. El tipo y las propiedades de los geles se ven afectados por el pH, el tipo y concentración de sales, azúcares y otros componentes como lípidos y polisacáridos.

Los geles inducidos por calor de proteínas solubles en sal (SSP), tales como lo son las miofibrilares, exhiben una red estructural repetitiva y ordenada, compuesta de finas hebras de espesor uniforme que contienen pequeños huecos distribuidos por toda la matriz. La gelificación mediante tratamiento térmico no es el único método. En algunos casos la gelificación de las proteínas ocurre por hidrólisis enzimática moderada, por la adición de iones Ca^{2+} (micelas de caseína, proteínas de soja) y por tratamientos a altas presiones (Kinsella y Melachouris, 1976).

- Propiedades termodinámicas

Relación con el pH

Las condiciones gelificantes de las proteínas miofibrilares dependen del pH. En el punto isoeléctrico, las proteínas tienen carga neta cero y retienen la menor cantidad de agua. La mayoría de las proteínas sufren de un fenómeno de agregación y son menos solubles en dicho punto de pH. Esto da como resultado geles deficientes o incluso se ve impedida la formación de geles. La agregación de las proteínas antes del calentamiento inhibe la formación de gel de las proteínas miofibrilares, y su extensión depende básicamente de la carga electrostática de las moléculas que a su vez se ve afectado por el pH y la fuerza iónica (Sun y Holley, 2010).

Se ha sugerido que durante la desnaturalización térmica y el despliegue de las moléculas proteicas miofibrilares a valores de pH variables, la naturaleza de las interacciones electrostáticas cambia. Se ha observado que a un pH cercano al punto isoeléctrico (para proteínas miofibrilares este valor es pH 5,3), la atracción electrostática entre las moléculas, a pesar de la carga neta casi neutra, interfirió con la gelificación

proteica (Sun y Holley, 2010). Wang y col. (1990) indican que el pH óptimo para la gelificación de la miosina, actomiosina o miofibrillas purificadas, en bajas concentraciones de sal (0,1-0,3 M) inducidas por calor es aproximadamente 6.

La gelificación de las proteínas miofibrilares generalmente ocurre por calentamiento, pero se pueden formar geles proteicos a valores de pH más bajos sin calentamiento. Se encontró que si el pH disminuye lentamente por diálisis a un valor en la región de 2,5 a 5,5, las soluciones de miosina a 10 mg/mL formaban geles a 5°C (Fretheim y col., 1985). La calorimetría diferencial de barrido (DSC) reveló que, cuando se calienta, la miosina de los geles inducidos por ácido no absorben energía térmica, lo que implica que la desnaturalización inducida por ácido es la base para la formación del gel (Sun y Holley, 2010).

Estudios sobre la estructura secundaria de la miosina porcina a diferentes valores de pH realizados mediante dicroísmo circular y reometría dinámica, mostraron que las propiedades de gelificación fueron fuertemente dependientes del pH. Se demostró que esto está directamente relacionado con las proporciones de hélices α y láminas β , y su comportamiento frente al calor y pH. Estas investigaciones concluyen que tanto el despliegue de las hélices α como la formación de láminas β desempeñan un papel importante en la formación del gel. Basado en la información disponible, una representación esquemática de cómo los elementos más importantes podrían interactuar durante la formación de la red miofibrilar es mostrada en la Figura 10 (Sun y Holley, 2010).

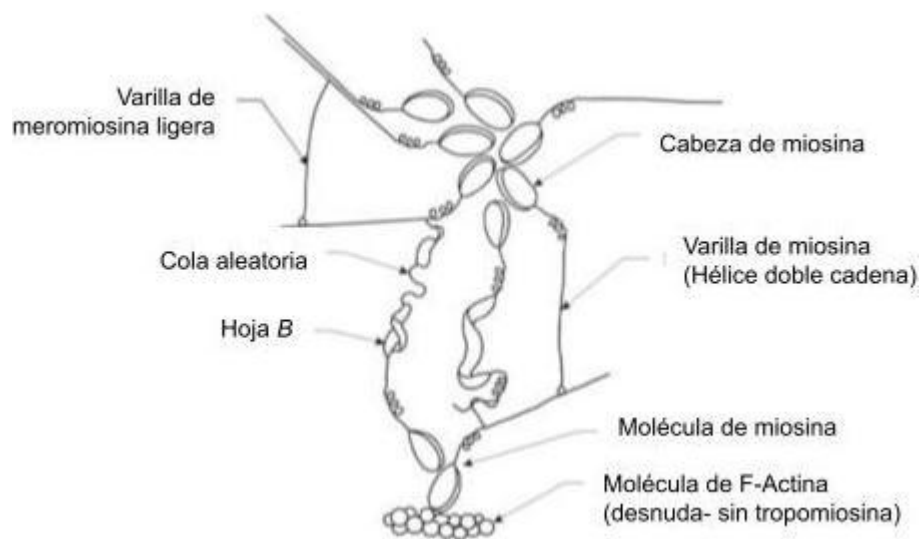


Figura 10. Representación de la formación de redes de gel por miosina. La actina contribuye a la viscosidad, pero no parece estar involucrada en la estructura de la red. Las cabezas de miosina se unen mediante enlaces disulfuro y pueden perder forma durante la desnaturalización.

Relación con la fuerza iónica

Como se mencionó previamente, entre los factores que afectan las propiedades de gelificación de las proteínas miofibrilares, la fuerza iónica se ha considerado durante mucho tiempo muy importante porque influye en la solubilidad de dichas proteínas. El cloruro de sodio es la sal más comúnmente utilizada en carnes reformuladas comerciales. En general, se requiere una alta concentración (2 a 3%) de cloruro de sodio

para solubilizar las proteínas miofibrilares y desarrollar completamente sus propiedades funcionales en los alimentos cárnicos (Xiong y Brekke, 1991), sin embargo, estudios posteriores demostraron que no es necesario solubilizar las proteínas para que el gel pueda formarse (Chang y col., 2001; Feng y Hultin, 2001). Suponiendo que el músculo esquelético de la carne magra contiene 75% de agua, las concentraciones molares de sal calculadas a partir de esos porcentajes (2 a 3%) dan 0,47 a 0,68 M. Dentro de este rango de concentración, se ha encontrado que la fuerza de los geles de miosina es casi independiente de la concentración de sal. Se ha informado que la fuerza iónica afecta el grado de hinchamiento de las proteínas miofibrilares (Wilding y col., 1986); también, a baja fuerza iónica (0,01 M), no se observó evidencia de formación de enlaces disulfuro reportados previamente para la asociación cabeza-cabeza de miosina (Stone y Stanley, 1994). Se formaron geles más elásticos al aumentar la fuerza iónica (0,31 y 0,61 M), demostrando que este factor también afecta la microestructura de los geles miofibrilares. Hermansson y col. (1986) encontraron que a baja fuerza iónica (KCl 0,25 M), se forman estructuras de gel de hebra fina, mientras que a alta fuerza iónica (KCl 0,6 M), se forman estructuras de gel de agregación gruesa en el rango de pH de 5,5 a 6. Estos estudios reflejan que, la estructura de hebras finas alcanzan una rigidez mayor que la de la estructura de agregados gruesos. Al comparar diferentes sales, se observó que con la adición de sodio, potasio y cloruro de calcio, la fuerza de gel de estas proteínas solubles en sal fue la más fuerte en presencia de potasio, seguida por el sodio y luego el cloruro de calcio (Comfort y Howell, 2003).

Una suspensión de miosina en KCl 0,2 M a pH 6 formó una estructura de red más fina que la de un gel de miosina inducida por calor en una solución de KCl 0,6 M al mismo pH. La mejor estructura de red obtenida a la fuerza iónica más baja podría explicarse por la formación de filamentos por monómeros de miosina. Una disminución de la fuerza iónica provoca un aumento relativo mayor en la rigidez de los geles de miofibrillas que de los geles de miosina pura, aunque los geles de miosina siempre son más rígidos que los geles de miofibrillas correspondientes (Sun y Holley, 2010).

También pudo observarse el efecto de la fuerza iónica sobre la formación del gel realizando un seguimiento del módulo G' durante el calentamiento. A bajas fuerzas iónicas (NaCl 0,2 M) existe un debilitamiento de la estructura a temperaturas entre 50 y 60°C, mientras que con NaCl 0,6 M, solo hay una reducción en la velocidad de desarrollo de la estructura. Esto refleja una desnaturalización escalonada de las diversas partes de la molécula de miosina (Sun y Holley, 2010).

Además de las sales de sodio, las sales de fosfato se utilizan comúnmente en productos cárnicos para mejorar la textura. Las propiedades observadas suelen asociarse a la disociación de la actomiosina en miosina y actina como consecuencia de la adición de pirofosfato, obteniendo así una mayor solubilidad de la actina. Por tanto, las interacciones proteína-polifosfato específicas son las principales razones del aumento de la solubilidad y la fuerza de unión de la miosina. El fosfato mejora el efecto de la sal y, con su adición, la capacidad de unión de agua se puede aumentar con un contenido de sal bastante bajo (1,5% de NaCl por ejemplo). Asimismo, el pH durante la formación del gel también influye en el efecto de la sal, Chawla y col. (1996) reportaron que, a pH bajos, la sal fue perjudicial para la formación del gel en músculo de pescado.

- Mecanismos de formación de geles

En la fabricación de geles proteicos se destaca principalmente la gelificación térmica, aunque cada vez está adquiriendo mayor importancia la gelificación a presión. Además existen otros tipos de gelificación como la provocada por cambios en el pH o la química. La gelificación térmica se produce en varias etapas: desnaturalización desde el estado nativo, agregación de proteínas desnaturalizadas y formación de enlaces intermoleculares (reticulación). Cuando la extensión de agregados y asociaciones entre agregados es suficiente se forma un entramado tridimensional que conduce a la formación del gel. Para que se produzca agregación sólo es necesaria una desnaturalización parcial. Algunas proteínas con múltiples dominios de diferente estabilidad térmica pueden presentar un mecanismo de gelificación mucho más complejo (Kinsella y Melachouris, 1976; Romero García, 2008).

El efecto de la presión (100-1000 MPa) sobre la estructura de las proteínas en disolución está suscitando un gran atractivo durante los últimos años debido al enorme interés de la industria alimentaria en la tecnología de mínimo procesado. La tecnología de alta presión hidrostática resulta atractiva por su potencial en el desarrollo de nuevos procesos de conservación y modificación de alimentos. Además de desnaturalizar las proteínas y solidificar los lípidos, esta tecnología contribuye a mejorar la calidad (textura y estructura) de geles alimentarios y puede emplearse para desestabilizar biomembranas e inactivar microorganismos sin usar tratamiento térmico, cuestión de máximo interés para la industria al no verse afectados por la presión las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos (contenido vitamínico, sabor, color, aroma, etc.) (Romero García, 2008).

Considerando lo anterior, se puede proponer y utilizar como punto de referencia un mecanismo general de gelificación. El primer paso es un cambio en la estructura de la proteína que favorece las interacciones intermoleculares en una cantidad limitada de superficie de la proteína. Esto puede ser causado por el calor o cualquier otro factor que cambie la estructura de las proteínas. Si las condiciones iónicas y de pH permiten interacciones, las moléculas se agregan. Cuando las concentraciones están por encima de un mínimo crítico para una matriz autosuficiente, se formará un gel y las concentraciones más bajas darán como resultado un precipitado o agregado soluble. Por lo tanto, la gelificación sólo se producirá en condiciones favorables de estructura, de concentración de proteínas y entorno de pH iónico (Kinsella y Melachouris, 1976; Romero García, 2008).

Enlaces involucrados en la formación de geles

En la formación del gel pueden participar distintos tipos de enlaces (Romero García, 2008):

- Puentes de hidrógeno entre los grupos carbonilo y amida de las cadenas peptídicas: al aumentar la temperatura se produce la rotura de un gran número de puentes de hidrógeno, perdiendo estabilidad la estructura de las proteínas. Además, al hidratarse, las cadenas polipeptídicas inmovilizan una gran cantidad de moléculas de agua.

- Interacciones electrostáticas: participan en gran medida en la formación de fibras de miosina. La adición de sal produce repulsiones entre filamentos de miosina que conducen

a su disociación, lo cual favorece la posterior formación del gel. La presencia de iones calcio, aunque no induce la gelificación, contribuye a la consistencia del gel formando puentes de calcio entre cargas negativas de segmentos proteicos adyacentes.

- **Interacciones hidrofóbicas:** o interacciones proteína-proteína en medio acuoso, que aumentan con la temperatura (al menos hasta 60°C). La formación de interacciones hidrofóbicas entre moléculas de proteína se produce como respuesta de su hidrofobicidad superficial, favorecida por la desnaturalización. Algunos de los grupos hidrofóbicos de la proteína, que en la configuración nativa estaban orientados hacia el interior, quedan expuestos al medio. Para minimizar su exposición al agua y reducir la entropía del sistema se produce la asociación de porciones hidrofóbicas de moléculas adyacentes dando lugar a la unión o enlace de las proteínas que conducen a la formación de agregados y en condiciones adecuadas a la formación de un gel. La formación de interacciones hidrofóbicas junto a la de puentes disulfuro constituye el principal mecanismo de formación de geles de surimi mediante procesado térmico o de alta presión.

- **Enlaces covalentes:** por encima de 40°C, los enlaces más importantes en la formación de geles son los puentes disulfuro intermoleculares, que se producen por la oxidación de dos grupos sulfidrilos (de moléculas de cisteína) de cadenas proteicas adyacentes. Existen aditivos que favorecen la formación de puentes disulfuro (como los compuestos oxidantes), o el intercambio de puentes disulfuro intramoleculares a intermoleculares (aminoácidos como la cistina o la cisteína, dependiendo de los grupos predominantes). En cambio otros aditivos (como el bisulfito sódico o el ácido ascórbico) actúan como reductores rompiendo puentes disulfuros. Otros enlaces covalentes entre moléculas de miosina que pueden contribuir al reforzamiento de geles con proteínas miofibrilares son los que se forman como consecuencia de la actividad enzimática de la transglutaminasa endógena. Su actividad está favorecida a baja temperatura y mediante la adición de iones calcio.

Tipos de estructura de geles

Se pueden clasificar los geles en cuatro tipos, basándose en criterios estructurales:

1. Estructuras lamelares bien ordenadas, incluidas mesofases de gel.
2. Redes poliméricas covalentes; completamente desordenadas.
3. Redes de polímeros formadas mediante agregación física; predominantemente desordenadas, pero con regiones locales de orden.
4. Estructuras desordenadas por partículas.

Si se clasifican los geles por consideraciones morfológicas, se tendría:

1. Geles de rejilla donde los enlaces cruzados, ya sean reversibles o covalentes, proporcionan los "puntos fuertes" de la estructura y están separados por hebras flexibles que aportan la elasticidad.

2. Geles de celosía donde la división de la estructura en enlaces cruzados y hebras es inapropiada, es decir, la distinción mecánica entre enlaces cruzados y hebras es oscura, pero no obstante, existe una estructura que llena el espacio.

Las redes inducidas por el calor varían ampliamente en la distribución del tamaño de los poros y el grosor de las hebras de la red, dependiendo del modo de agregación. Las distribuciones muy amplias surgen de procesos de agregación esencialmente aleatorios, pero se producen redes más uniformes donde el modo de agregación es más específico. La principal diferencia entre la agregación denominada "aleatoria" y "ordenada" surge del número de sitios de unión por monómero, su distribución espacial y su fuerza de unión relativa en un disolvente específico (Kinsella y Melachouris, 1976; Ziegler y Foegeding, 1990).

Los geles formados por una red de filamentos finos se caracterizan por estar conformados mediante una asociación ordenada de moléculas de proteínas y el grosor de los filamentos es muy pequeño de tal forma que estos geles son transparentes (Romero García, 2008).

La Figura 11(a) ilustra la microestructura de un gel de filamentos finos que involucran la asociación física (no covalente) entre las cadenas proteicas. Esta estructura típica de muchos polisacáridos, es poco común en los geles proteicos salvo para las gelatinas. Estos geles retienen mucha agua y son termorreversibles. La Figura 11(b) muestra la estructura de filamentos finos característicos de proteínas globulares. En este caso las moléculas se asocian de forma covalente y no covalente conformando un filamento de pequeñas partículas. La Figura 11(c) ilustra geles agregados o particulados. La formación de geles agregados ocurre a valores de pH cercanos al punto isoeléctrico, por desnaturalización parcial de la proteína o por la presencia de sales. Los geles agregados son opacos y tienen menor capacidad de retención de agua (Romero García, 2008).



Figura 11. Diagrama de los diferentes tipos de microestructura de geles proteicos. (a) Filamentos finos por asociación física; (b) filamentos finos de proteínas globulares; (c) geles agregados.

Propiedades mecánicas de los geles

Los geles exhiben propiedades microestructurales y mecánicas muy diversas de tal forma que es difícil definirlos.

Durante esa "polimerización" de las proteínas en una red tridimensional, el líquido viscoso se transforma en una matriz viscoelástica. Sin embargo debido a que los geles pueden presentar una estructura fácil de romper, pudiendo fluir bajo la aplicación de fuerzas muy pequeñas, una definición estricta es muy difícil. Por este motivo, se suelen

utilizar los términos fuerte y débil ("strong and weak") para una subclasificación de los geles (Kinsella y Melachouris, 1976; Romero García, 2008).

Los factores que aumentan la extractabilidad de las proteínas de las miofibrillas, como el aumento de la concentración de sal y los pirofosfatos, también aumentarán el módulo de almacenamiento de los geles elaborados a partir de esas suspensiones. Sin embargo, un simple aumento en la solubilidad de las proteínas no siempre se asocia con mejores propiedades de gelificación. Las miofibrillas aisladas de carne envejecida muestran una mayor solubilidad pero una disminución de las propiedades de gelificación (Kinsella y Melachouris, 1976; Ziegler y Foegeding, 1990).

Las proteínas solubles en sal o las miofibrillas del músculo esquelético blanco (pechuga de pollo y pavo) forman geles más fuertes y deformables que los hechos a partir de proteínas del músculo rojo. La explicación más simple para esta diferencia es que la variación asociada a isoformas en la miosina. Se ha demostrado que la miosina y la actomiosina de la pechuga y el muslo de pavo tienen transiciones térmicas muy similares mientras forman geles que varían mucho en las propiedades reológicas. Esto sugiere que alguna variación en el proceso de agregación es responsable de producir las diferencias en las propiedades reológicas (Kinsella y Melachouris, 1976; Ziegler y Foegeding, 1990).

- Geles irreversibles

En la gelificación térmicamente irreversible, la progresión de proteína nativa a proteína desnaturizada a gel ocurre durante el calentamiento. Después de enfriar, el recalentamiento no convierte el material de un sólido viscoelástico a un líquido viscoso y, por lo tanto, la gelificación se considera irreversible. Las razones de la irreversibilidad pueden explicarse en referencia a un marco teórico para la gelificación de proteínas para producir el conjunto de reacciones que se ven a continuación.

Proteína nativa → Proteína desnaturizada

Proteína desnaturizada → Agregado soluble

Agregado soluble → Agregado insoluble

Agregado soluble → Gel

Los geles son irreversibles porque (1) después de enfriar y recalentar no se "derriten" ni regresan al estado de agregado soluble, y (2) no se disocian ni se pliegan a su estado nativo al enfriarse. Sin embargo, esto no excluye los cambios en las propiedades reológicas asociadas con la temperatura. La textura de los geles no solo está asociada con el proceso de calentamiento utilizado para formar el gel, sino que también depende de la temperatura del gel cuando se miden las propiedades reológicas. La gelificación irreversible indica que las proteínas agregadas que forman la matriz del gel han perdido la capacidad de disociarse fácilmente, no es un estado reológico estático que es independiente de la temperatura (Kinsella y Melachouris, 1976; Ziegler y Foegeding, 1990).

Estabilidad de los geles

La estabilidad del gel formado depende de la naturaleza y número de entrelazamientos formados por cadena de polímero. Teóricamente, un gel será más estable cuando la suma de las energías de interacción de todas y cada una de las cadenas poliméricas sea mayor que su energía cinética a una temperatura dada. Esto explica que los geles formados a partir de largas cadenas poliméricas sean más estables que los formados a partir de cadenas cortas.

Velocidad y temperatura de calentamiento

La temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en las propiedades de gelificación de la proteína miofibrilar porque se requiere calor a valores de pH superiores a 5,3 para la desnaturalización y el despliegue de las moléculas de proteína necesarias para la formación de gel. Se sabe que la temperatura óptima para la gelificación inducida por calor de miosina a pH 6 es de 60 a 70°C (Sun y Holley, 2010). Además, la velocidad de calentamiento también juega un papel clave en la determinación de las propiedades del gel resultante. Así se determinó que si la agregación de proteínas ocurre más lentamente que la desnaturalización, se producen geles de mayor elasticidad que si la agregación aleatoria y la desnaturalización ocurren simultáneamente, o si la agregación aleatoria procede a la desnaturalización. Se ha sugerido que una velocidad de calentamiento lenta puede permitir que se produzcan interacciones proteína-proteína más favorables, produciendo un gel tridimensional más fuerte y mejor ordenado.

Relación con la presión

Los productos cárnicos se procesan normalmente a presión atmosférica, aunque la industria está adoptando rápidamente sistemas semicontinuos de alta presión hidrostática para la eliminación de *Listeria* de las carnes procesadas cocidas y envasadas al vacío. En los últimos años, ha aumentado el interés por comprender los efectos de la alta presión sobre los productos alimenticios, así como sus efectos sobre las propiedades de gelificación de las proteínas miofibrilares (Sun y Holley, 2010).

El procesamiento a alta presión puede despolimerizar actomiosina y actina, así como mejorar la solubilización de las miofibrillas; por lo tanto, modificar las propiedades de gelificación de las proteínas de la carne después del tratamiento a alta presión (Cheftel y Culioli, 1997). La gelificación inducida por presión de las proteínas cárnicas depende de la proteína y de las condiciones del tratamiento, como la presión aplicada, la duración y la temperatura bajo presión (Jiménez Colmenero y col., 1998; Jiménez Colmenero, 2002). El mecanismo de desnaturalización de las proteínas varía según las combinaciones de presión/temperatura, así como si la carne está cruda o precalentada. Un tratamiento a alta presión adecuado puede mejorar la elasticidad y la terneza de los geles de proteínas miofibrilares; por lo tanto, puede mejorar la aceptabilidad de los productos cárnicos.

Dado que la terneza es una de las propiedades funcionales más importantes de la carne cocida, los factores que influyen en ésta, se han estudiado ampliamente. Está claro que el ablandamiento de la carne post mortem por la actividad de las proteasas endógenas incluye los siguientes 4 efectos: debilitamiento de la interacción actina-miosina; debilitamiento del tejido conectivo; desintegración de las miofibrillas en segmentos cortos causada por la rotura de la línea Z; y degradación de las fibrillas

elásticas (Sun y Holley, 2010). Por ejemplo, los geles de hamburguesas de cerdo inducidos por calor están formados por hebras que consisten en haces de miofibrillas, mientras que los geles presurizados a 200 MPa antes del calentamiento consisten en una red de hebras finas. Esta red de hilos finos resulta en un aumento de la elasticidad aparente.

Posteriormente se informó que entre las características reológicas estudiadas, como la deformación a la rotura, la fuerza de rotura, la cohesión y la elasticidad, todas eran más altas en los geles inducidos por alta presión que en los geles inducidos por calor. El efecto de la alta presión hasta 800 MPa durante cortos períodos de tiempo produce la formación de estructuras que contienen puentes hidrógeno, efecto consecuente de la desnaturalización proteica, estabilizados por puentes disulfuro. En una comparación sobre la aplicación de diferentes tratamientos sobre geles se encontró que la aplicación de uno de alta presión da como resultado geles de mayor fuerza que si se mezclan tratamientos de presión y temperatura, o incluso frente a un proceso térmico único; esto lleva a la creencia de que la presión induce la formación de estructuras con enlaces de hidrógeno termolábiles, mientras que estructuras inducidas por tratamiento térmico que son estabilizadas principalmente por enlaces disulfuro e interacciones hidrofóbicas (Sun y Holley, 2010). Por otra parte, otros autores han informado, sin embargo, que el tratamiento a presión antes del calentamiento mejora las propiedades de gelificación térmica de la proteína muscular (Suzuki y MacFarlane, 1984; Ikeuchi y col., 1992).

No hay duda de que el tratamiento a alta presión induce ciertos cambios en las proteínas miofibrilares que afectan sus propiedades de gelificación (Sun y Holley, 2010). En general, las presiones por debajo de 200 MPa solo pueden dar como resultado cambios conformacionales en las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas, lo que implica interacciones débiles como interacciones electrostáticas, de enlaces de puente de hidrógeno, hidrofóbicas y de van der Waals. Estos cambios conformacionales son reversibles, mientras que presiones superiores a 300 MPa pueden conducir a la desnaturalización irreversible de las proteínas mediante la modificación y alteración de sus estructuras secundarias. En consecuencia, puede haber algunos cambios químicos clave involucrados en el proceso de alta presión, que están influenciados por el pH, la presión, la temperatura, el tiempo de tratamiento, la fuerza iónica y la adición de otros ingredientes diferentes en las muestras tratadas, como iones metálicos y otros radicales libres (Figura 12, Xu y Xu, 2020).



Figura 12. Principales reacciones involucradas en el proceso de alta presión

Aunque el tratamiento a altas presiones se considera una tecnología eficaz para mejorar la calidad de la carne, así como para la producción de alimentos cárnicos gelificados, se requiere un cierto umbral de intensidad del tratamiento para el procesamiento de la carne. Sin embargo, el cambio en la estructura de las proteínas miofibrilares se revela como el principal factor subyacente a la mejora en la calidad de los productos cárnicos. La conformación espacial de las MP cambia bajo el tratamiento UHP, lo que lleva a cambios en el color y la textura del producto, y los mecanismos demuestran la interdependencia de los procesos. Sin embargo, la carne es un sistema complejo que contiene no solo MP sino también otras proteínas macromoleculares, polisacáridos y moléculas pequeñas. Así, las interacciones entre los diferentes componentes bajo tratamiento UHP, junto con sus efectos sobre la calidad de los productos cárnicos, requieren una mayor investigación en profundidad, en particular con respecto al mecanismo molecular del proceso (Liu y col., 2021).

- Aditivos

Independientemente del motivo para incluir aditivos en los productos cárnicos, las propiedades de gelificación se verán afectadas. Para reducir el costo, mejorar el sabor y/o mejorar la textura de los productos cárnicos, se han desarrollado y utilizado varios aditivos en los productos cárnicos, incluidas las enzimas y los aditivos proteicos y no proteicos. Se han examinado estos aditivos proteicos funcionales: suero, caseinato, albúmina de huevo, soja, gluten de trigo, proteínas de cereales y proteínas de plasma sanguíneo y globina. Además de estos aditivos proteicos, se han utilizado en cárnicos algunos no proteicos, especialmente en carnes reestructuradas: almidón e hidrocoloides como carragenina, alginato, pectinas, goma xantana, goma de algarrobbilla y goma guar. (Sun y Holley, 2010).

Uno de los agentes más utilizados para formar geles de proteínas en sistemas cárnicos es la enzima transglutaminasa. Es una proteína γ -glutamyltransferasa, capaz de catalizar reacciones de transferencia de acilo e introducir enlaces cruzados covalentes entre proteínas (Figura 13). La transglutaminasa se ha extraído tanto de fuentes animales como microbianas. La transglutaminasa dependiente de calcio, extraída del plasma sanguíneo y del hígado de cobaya, ha sido investigada para su uso en la industria alimentaria. Sin embargo, la escasa disponibilidad, los complicados procedimientos de separación y purificación, así como el requerimiento de calcio, han hecho que la aplicación de la transglutaminasa de mamíferos en el procesamiento de alimentos a escala industrial sea muy difícil. La transglutaminasa microbiana (TG), por otro lado, se obtiene fácilmente por fermentación microbiana y se puede producir en cantidades suficientemente grandes para uso comercial. Además, esta transglutaminasa microbiana no requiere calcio para su activación, lo cual es una gran ventaja ya que muchas proteínas alimentarias precipitan en presencia de Ca^{2+} , haciéndolas menos sensibles a la reacción enzimática (Sun y Holley, 2010).

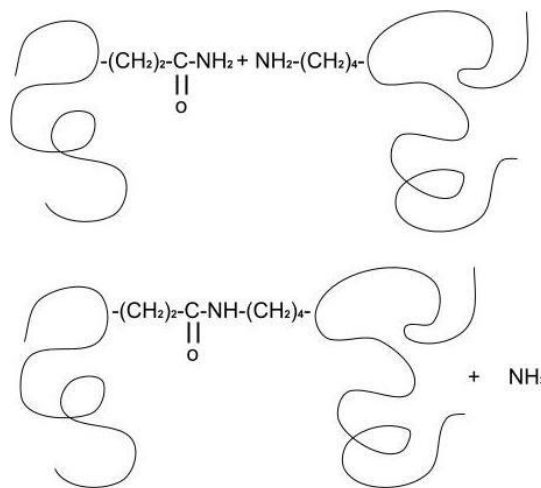


Figura 13. Reticulación por formación de transglutaminasa de ϵ - (γ -glutamina)-lisina entre residuos de lisina y glutamina.

La TG se ha utilizado en productos cárnicos reestructurados y extendidos, así como para la gelificación de proteínas de pescado y productos de surimi y para la gelificación de camarones. Algunos estudios han informado que el exceso de transglutaminasa puede dar lugar a resultados indeseables, como la reducción de la fuerza del gel de las proteínas del suero o la reducción de la cohesión de los geles de soja, no se han reportado efectos adversos con el uso excesivo de ésta en proteínas cárnicas. Algunos estudios realizados en las últimas décadas, revelaron que la transglutaminasa provoca la reticulación de la miosina y produce una red de gel con elasticidad mejorada al modificar las interacciones intra e intermoleculares. Se encontró que la adición de transglutaminasa microbiana producía un aumento significativo de dureza, elasticidad y cohesión en los sistemas cárnicos (Sun y Holley, 2010).

Los aditivos proteicos como la clara de huevo, la soja y el suero pueden mejorar las características del gel, siendo la clara de huevo la que muestra el mayor beneficio al producir el gel más duro; sin embargo, generalmente hay una falta de interacción entre las proteínas no cárnicas y las proteínas musculares en los productos cárnicos procesados. Como resultado, estas proteínas no cárnicas pueden no participar en la

estructura de la proteína y pueden afectar negativamente la textura al interferir con la gelificación de las proteínas miofibrilares (Sun y Holley, 2010).

También se han investigado varios aditivos no proteicos en relación con las propiedades de gelificación de las proteínas miofibrilares. Estos aditivos no proteicos incluyen δ -gluconolactona (GDL), polifosfatos y polisacáridos.

Se ha demostrado que la adición de δ -gluconolactona a la proteína miofibrilar induce la gelificación sin calor ya que provoca la desnaturalización ácida de la proteína (Ngapo y col., 1996a). Las investigaciones demostraron que la gelificación inducida por GDL de las proteínas miofibrilares bovina a bajas temperaturas (4°C) produce geles más elásticos que cuando se incluye cloruro de sodio, pero la adición de pirofosfato de tetrasodio resulta en una mejor elasticidad solo cuando el pH estaba por debajo de 4,1 (Ngapo y col., 1996b). Al observar los cambios microestructurales asociados con la gelificación inducida por GDL de estas proteínas se encontró que este compuesto se comporta como un ácido e induce una desnaturalización más rápida y extensa que la observada con valores de pH más altos (pH 5,8). Este estudio también concluyó que a pH reducido (3,8) hay despolimerización de la actomiosina y el gel resultante consiste principalmente en miosina con soporte de los filamentos proteicos miofibrilares restantes. Además se observó que con la adición de GDL e incubación a temperatura ambiente (22 a 23°C) durante 48 h, la gelificación inducida por ácido de la actomiosina natural ocurre sin calentamiento.

Los polifosfatos, por otra parte, se utilizan ampliamente en productos cárnicos reestructurados, en parte porque tienen un efecto ahorrador de NaCl, ya mencionado previamente. Esto probablemente se deba a diferencias en las fuentes y preparaciones de proteínas, las condiciones de gelificación e incluso la instrumentación utilizada para evaluar la formación de gel (Sun y Holley, 2010).

2.2 Caracterización de geles. Principales técnicas utilizadas para su estudio.

La caracterización de geles abarca el estudio de las condiciones de formación, composición, capacidad de retención de agua, solubilidad, reversibilidad térmica, y rango de temperatura de estabilidad, o características estructurales. Estas últimas se evalúan desde el punto de vista macroestructural o microestructural. Por lo general hace falta aplicar más de una metodología para caracterizarlos adecuadamente.

La evaluación macroestructural involucra la medida de propiedades físicas y químicas del sistema como un todo. La caracterización a nivel molecular del sistema requiere una medida de las propiedades relacionadas con las transformaciones moleculares durante la formación del gel. Entre la evaluación macroestructural y la molecular, se puede definir una región que podemos llamar "microestructural" que implica el seguimiento de reacciones y de cambios físicos que no pueden ser observados a simple vista. Las técnicas y determinaciones de propiedades más importantes y utilizadas de caracterización de geles son:

- Nivel macroestructural: viscoelasticidad, textura, propiedades de flujo, retención de agua, calorimetría diferencial de barrido, solubilidad.

- Nivel microestructural: microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), microscopía óptica, calorimetría diferencial de barrido, viscoelasticidad y electroforesis.

Si bien la estructura es determinante de las características de textura de un gel, la percepción de estas características durante la masticación y deglución se correlacionan mejor con ensayos en los cuales se aplican mayores esfuerzos o deformaciones que rompen la estructura de la muestra. Para ello pueden realizarse análisis de perfiles de textura o ensayos de compresión, que si bien implican la pérdida de la estructura original del gel, permiten conocer cómo se comportarán los mismos al ser sometidos a mayores esfuerzos (Steffe, 1996).

Reología

Las mediciones reológicas de los geles alimentarios se realizan por tres razones principales. En primer lugar, dado que el comportamiento gelificante de los polímeros naturales varía significativamente con la fuente, métodos y condiciones de extracción, es esencial que tanto el comprador como el fabricante de estos productos tengan una prueba confiable y reproducible para cuantificar el parámetro conocido como “resistencia del gel”; en segundo lugar, las mediciones reológicas pueden complementar otras técnicas utilizadas para dilucidar la estructura del gel; tercero, las mediciones instrumentales pueden correlacionarse con métodos sensoriales para proporcionar un medio objetivo para la evaluación de la textura de los geles (Ziegler y Foegeding, 1990).

Los métodos reológicos se han dividido en tres clases: ensayos fundamentales, que miden propiedades bien definidas del material, como el módulo elástico o la viscosidad; ensayos empíricos, cuyos resultados no pueden expresarse en términos de cantidades reológicas fundamentales y, por tanto, dependerán de la geometría de la muestra y de las condiciones de ensayo empleadas; y pruebas de imitación, diseñadas para simular las condiciones prácticas de estrés y tensión, por ejemplo, simulación de masticación en la boca. Es deseable emplear métodos de prueba fundamentales cuando el objetivo es utilizar experimentos reológicos para dilucidar la estructura del gel, o cuando se realizan estudios colaborativos, mientras que los métodos de prueba empíricos se utilizan comúnmente para el control de calidad debido a su simplicidad, rapidez y reproducibilidad (Ziegler y Foegeding, 1990).

- Reometría oscilatoria de baja amplitud de deformación

Es una técnica que se considera una excelente herramienta en la caracterización de materiales viscoelásticos que no son ni líquidos ni sólidos en sentido estricto. Como su nombre lo indica, consiste en la aplicación de deformaciones pequeñas que no rompen la estructura de la muestra evaluada. Los ensayos oscilatorios constituyen una de las herramientas fundamentales y de creciente uso para la caracterización fiable de las propiedades viscoelásticas de los alimentos (Bistany y Kokini, 1983). Esta técnica no destructiva permite relacionar los parámetros reológicos dinámicos con la estructura molecular en un estado de equilibrio próximo a una situación de reposo (Gunasekaran y Ak, 2000). Por lo tanto, un cambio en la estructura se reflejará en los valores de las funciones viscoelásticas dinámicas, e incluso en la dependencia de las mismas respecto a la frecuencia.

Los sólidos ideales se deforman instantánea y proporcionalmente a la magnitud del esfuerzo aplicado, pero también se recuperan inmediatamente al retirar la fuerza, cumpliendo con la ley de Hooke (Ec. 6):

$$\sigma = G \cdot \gamma \quad (6)$$

donde el esfuerzo de cizalla aplicado (σ) es proporcional a la deformación relativa (γ) y la constante de proporcionalidad es el módulo de rigidez (G). Un sólido elástico ideal se considera isotrópico y homogéneo, de tal modo que la tensión se reparte uniformemente entre todos los enlaces y sus propiedades varían de la misma manera en todas las direcciones.

Un fluido ideal, en cambio, se deforma continuamente bajo la acción de un esfuerzo de corte o cizalla (σ), siguiendo la ley de Newton (Ec. 7):

$$\sigma = \eta \cdot d\gamma / dt \quad (7)$$

El esfuerzo (σ), se vincula en este caso, con la velocidad de deformación ($d\gamma/dt$), a través de la viscosidad (η). A este fluido ideal se lo denomina newtoniano. Cuando el esfuerzo es removido no hay recuperación al estado original y la energía invertida se traduce en fricción con la consecuente generación de calor.

Cuando una muestra es evaluada mediante reología oscilatoria de pequeña amplitud de deformación, usualmente se coloca entre dos placas circulares. En este tipo de ensayos, la perturbación se realiza de manera sinusoidal, por lo que tanto el esfuerzo como la deformación pueden ser representados por funciones trigonométricas.

La deformación (γ) puede representarse con la siguiente ecuación:

$$\gamma = \gamma_0 \cdot \text{sen}(\omega t) \quad (8)$$

donde γ_0 es la máxima deformación aplicada a la muestra, t el tiempo y ω la frecuencia de la oscilación.

Al aplicarse una deformación sinusoidal dentro del rango de viscoelasticidad lineal pueden presentarse distintas respuestas en la muestra (Figura 14). Para un material perfectamente elástico, la onda de deformación se encontrará en fase con el esfuerzo aplicado. Considerando la respuesta de un sistema puramente viscoso, la tensión está exactamente desfasada 90° .

Por otro lado, cuando se realiza el ensayo sobre un material puramente viscoso, la vinculación esfuerzo-deformación presenta una respuesta sinusoidal. Para un líquido viscoso ideal la onda que representa la deformación oscilatoria se encuentra exactamente fuera de fase con un ángulo de 90° , con respecto a la correspondiente al esfuerzo (Steffe, 1996).

La gran mayoría de los alimentos son materiales viscoelásticos que como se mencionó previamente, tienen un comportamiento intermedio entre el correspondiente al sólido ideal y el del líquido ideal, por lo cual presentan ángulos de desfasaje (δ) entre 0 y 90° (Steffe, 1996; Schramm, 1994). Los geles, como la mayoría de los sistemas

poliméricos, suelen presentar un comportamiento viscoelástico pronunciado (Ziegler y Foegeding, 1990).

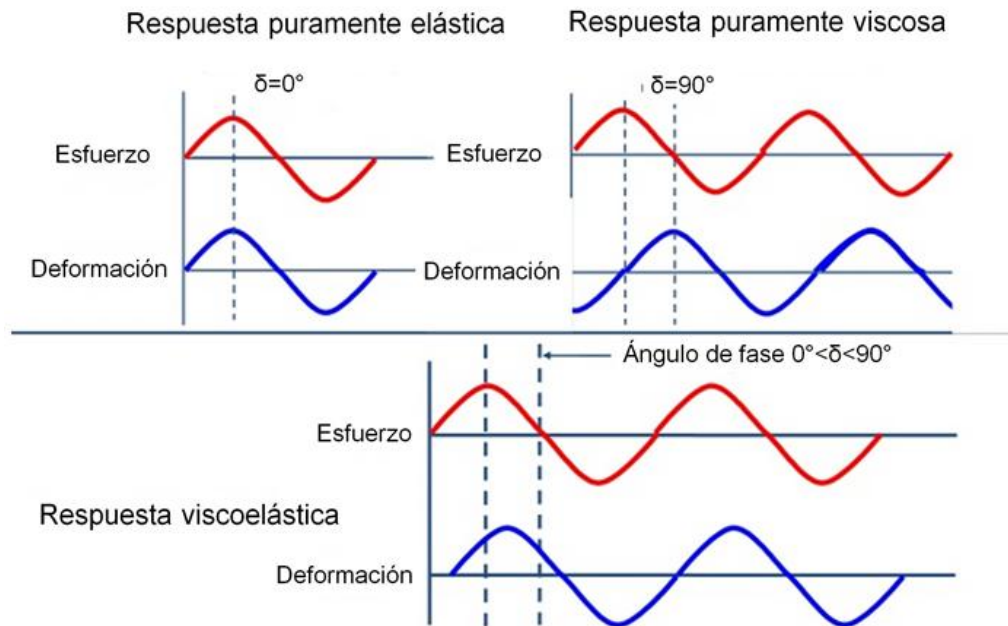


Figura 14. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante un ensayo oscilatorio dinámico.

Cuando se aplica un esfuerzo o deformación oscilatorios a un material se obtienen el módulo complejo (G^*) y el ángulo de desfase (δ). El módulo complejo queda definido por (Ec. 9):

$$G^* = \sigma_0 / \gamma_0 \quad (9)$$

A partir del módulo complejo y del ángulo de desfase pueden derivarse dos parámetros que caracterizan a los materiales viscoelásticos: el módulo elástico o módulo de almacenamiento (G') y el módulo viscoso o de pérdida (G''). El módulo elástico (G') describe el comportamiento elástico del sistema; se encuentra vinculado a la energía que se almacena elásticamente en el mismo y que puede ser recuperada cuando el esfuerzo aplicado es removido. El módulo de pérdida G'' es una medida de la energía perdida en forma de calor, asociada al comportamiento viscoso.

El esfuerzo con el cual un material viscoelástico responde a la deformación sinusoidal aplicada, puede representarse mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma = G' \cdot \gamma + (G'' / \omega) \cdot d\gamma/dt \quad (10)$$

Los módulos elástico (G') y viscoso (G'') son dependientes de la frecuencia y pueden representarse mediante las ecuaciones 11 y 12 respectivamente:

$$G' = (\sigma_0 / \gamma_0) \cdot \cos \delta \quad (11)$$

$$G'' = (\sigma_0 / \gamma_0) \cdot \sin \delta \quad (12)$$

Así, el módulo complejo G^* puede escribirse como: $G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2}$ (13)

Otros parámetros que pueden ser determinados a partir de los ensayos de reología oscilatoria de pequeña deformación, son la viscosidad compleja (η^*) (Ec. 14), la viscosidad dinámica (η') (Ec. 15) y la componente fuera de fase de la viscosidad compleja (η'') (Ec. 16) cuyas expresiones se detallan a continuación:

$$\eta^* = G^* / \omega = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (14)$$

$$\eta' = G'' / \omega \quad (15)$$

$$\eta'' = G' / \omega \quad (16)$$

Para la evaluación de sistemas mediante reología oscilatoria de pequeña deformación se debe determinar primeramente el rango lineal de viscoelasticidad. En dicho rango los módulos elástico y viscoso, no dependen del esfuerzo aplicado. Para determinar dicho rango se realiza un primer ensayo en el que se fija la frecuencia y se aplica un esfuerzo o una deformación sinusoidal (dependiendo del reómetro utilizado) de amplitud creciente. Trabajar dentro del rango lineal asegura que los esfuerzos o deformaciones son lo suficientemente bajos como para no romper la estructura de la muestra.

Una vez conocido el rango de viscoelasticidad lineal se escoge un esfuerzo o deformación dentro del mismo y se efectúan barridos de frecuencia determinándose los módulos elástico y viscoso, así como la tangente del ángulo de desfase. A la gráfica de los mismos, en función de la frecuencia, se la denomina espectro mecánico.

Para un gel, una gráfica típica (Figura 15) muestra que el módulo elástico (G') en función de la frecuencia exhibe un valor mayor al correspondiente al módulo viscoso (G'') y ambos módulos muestran una baja dependencia de la frecuencia (Bourne, 1982, Clark y Ross-Murphy, 1987).

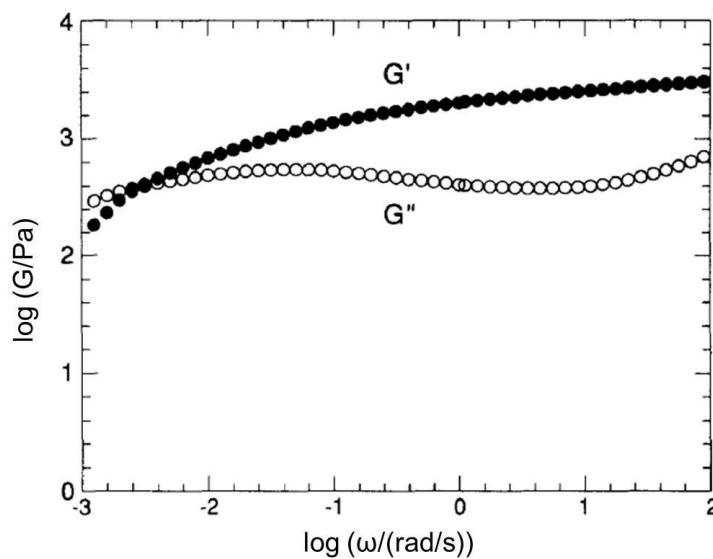


Figura 15. Gráfico típico de los logaritmos de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') en función del logaritmo de la frecuencia durante la gelificación de una solución de biopolímero. La frecuencia de medición es de aproximadamente 1 Hz y la deformación es $<0,01$. Obtenida de Almdal y col., 1993.

Esfuerzo de tracción y deformación

Los diversos métodos para procesar la pasta en un gel tienen fuertes efectos sobre la resistencia a la tracción (tensión), pero pocos o ningún efecto sobre la deformabilidad por tracción (deformación). Los geles preparados por presión o cocción posterior a la presión no son notablemente diferentes de los geles solo cocidos en tensión a la fractura, pero los geles formados bajo presión son más deformables que cualquiera de las muestras cocidas (Gilleland y col., 1997; Xiong y Blanchard, 1994).

- *Grandes rangos de deformación y propiedades de ruptura o falla*

Aunque el comportamiento de deformación pequeña, dentro de las regiones de viscoelasticidad lineal, puede ser el más fácil de describir sobre una base teórica, la respuesta a grandes deformaciones y propiedades de falla puede correlacionarse mejor con la evaluación sensorial de la textura en geles. Se puede obtener información diferente con respecto a la estructura de los geles a partir de pruebas de deformación pequeña en contraposición a las propiedades de falla. Los geles de fases separadas pueden exhibir un mayor módulo de cizallamiento dinámico pero una menor tensión y deformación a la falla que una red más homogénea. Una evaluación reológica completa de los geles incluiría propiedades tanto de deformación pequeña como de falla. Las propiedades de interés son la tensión verdadera y la deformación verdadera en caso de falla (fractura). Sin embargo, se utilizan comúnmente muchos términos menos definidos, por ejemplo, fuerza en la fractura y deformación en la fractura (Ziegler y Foegeding, 1990).

Existe una variedad de geometrías de prueba que pueden usarse para determinar las propiedades de falla. Si se emplea cizallamiento simple, compresión, extensión (tracción) y torsión se pueden determinar las propiedades de falla de los geles. Las pruebas de torsión ofrecen varias ventajas: (1) no ocurren cambios apreciables en el volumen, (2) producen fallas incluso en materiales altamente deformables, y (3) se crean tensiones de tensión, compresión y cortante de igual magnitud para que el material falle debido al estrés para el que tiene menos fuerza (Ziegler y Foegeding, 1990).

- *Compresión de geles y ensayo de relajación*

Cuando un gel se comprime a velocidad constante, puede observarse que al inicio el esfuerzo aumenta linealmente con la deformación aplicada. En una primera región se obtiene una respuesta lineal, a partir de la cual se puede calcular el módulo de elasticidad como la pendiente de la recta correspondiente a los puntos de esfuerzo-deformación. Se asume que las muestras mantienen constante su volumen a lo largo de todo el ensayo.

Teniendo en cuenta que durante la compresión la sonda desciende en función del tiempo, la altura de la muestra en un tiempo t , puede expresarse como la diferencia entre la altura inicial y la distancia recorrida por la sonda en dicho tiempo. A partir de todos estos datos se puede calcular el esfuerzo verdadero con el que responde la muestra. Así mismo, puede calcularse la deformación verdadera, lo que permite obtener parámetros que caracterizan al gel como el módulo de la elasticidad. Para la determinación experimental de estos parámetros se utiliza habitualmente un texturómetro en el modo de compresión. Los resultados del esfuerzo verdadero se grafican en función de la

deformación relativa verdadera; los puntos se ajustan a una recta cuya pendiente corresponde al módulo de elasticidad (Friedman y col., 1963).

Uno de los ensayos que se utilizan para caracterizar geles consiste en comprimir los mismos y evaluar su respuesta en función del tiempo manteniendo la deformación. Esto se conoce como ensayos de relajación y también se lleva a cabo en texturómetros, aunque puede desarrollarse en reómetros.

La relajación del esfuerzo por compresión se define como la disminución del esfuerzo con el tiempo sobre un material sometido a una deformación instantánea constante. Usualmente se comprimen cilindros de geles hasta un valor predeterminado de la altura en las mismas condiciones que para la determinación de los parámetros texturales y manteniéndose ésta constante en el tiempo se mide la relajación del esfuerzo en función del tiempo.

La compresión genera respuestas diferentes dependiendo de la naturaleza del material (Figura 16). Un sólido totalmente elástico ofrece una resistencia a la compresión que se mantiene constante en el tiempo mientras se aplique la deformación. En el otro extremo, un líquido viscoso disminuye instantáneamente la resistencia ofrecida hasta alcanzar un valor de cero. Los materiales viscoelásticos, ubicados en una posición intermedia, disminuyen la resistencia ofrecida con el tiempo. Se los clasifica como líquidos viscoelásticos cuando transcurrido suficiente tiempo la resistencia llega a cero y como sólidos viscoelásticos cuando se estabilizan en un valor mayor a cero. A la caída de la resistencia se le denomina relajación.

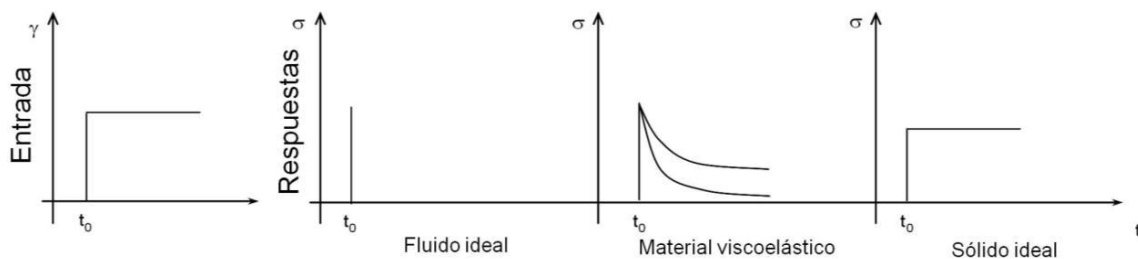


Figura 16. Esquema de la respuesta en función del tiempo de aplicación de una deformación determinada y cortante a distintos materiales.

Una ecuación (20) sugerida que se adapta, con buen ajuste, a muestras alimentarias tiene la siguiente forma:

$$\sigma_0 t / (\sigma_0 - \sigma) = k_1 + k_2 t \quad (20)$$

En la misma, σ_0 representa el esfuerzo inicial registrado, σ corresponde al esfuerzo a un determinado tiempo t , mientras que k_1 y k_2 son las constantes del sistema.

Análisis de perfil de textura (TPA)

Esta metodología objetiva, presenta buena correlación con las evaluaciones de textura realizadas por paneles sensoriales entrenados (Friedman y col., 1963). El análisis de perfil de textura es una evaluación que en cierto modo imita el proceso de masticación, permitiendo cuantificar y comprender las modificaciones (de temperatura, humedad,

sometimiento de esfuerzos y deformaciones) que el alimento sufre previo a su deglución. Por esta razón se considera un test imitativo (Szczeniak, 2002).

El ensayo experimental se lleva a cabo en un equipo denominado texturómetro (Figura 17) y consiste en realizar dos ciclos secuenciales de compresión a velocidad constante registrándose la fuerza durante el ensayo, sobre la muestra. A partir de los gráficos obtenidos (Figura 18), se analizan las curvas de fuerza-tiempo (o fuerza-distancia); esto determina los parámetros independientes tales como dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad y parámetros dependientes de los anteriores, tales como masticabilidad y gomosidad.



Figura 17. Analizador de textura o texturómetro

La **dureza** corresponde a la fuerza máxima registrada, lo que se traduce como la altura máxima del primer pico (H), y se vincula con la resistencia a la compresión. Es la fuerza necesaria para lograr la deformación predeterminada. La **cohesividad** es la relación entre las áreas del segundo y el primer pico ($A2/A1$) del perfil y está vinculada con el trabajo necesario para vencer las uniones internas del material. La **adhesividad** es el valor absoluto del área del pico negativo ($A3$) que aparece después del primer pico, corresponde al trabajo necesario para vencer las fuerzas atractivas entre la superficie del material y otros materiales, en este caso el sensor del texturómetro. Es mayormente una característica de superficie que depende de la combinación de los efectos de las fuerzas adhesivas y cohesivas, así como de la viscoelasticidad del material. La **elasticidad** está definida como la relación $d2/d1$ y se asocia con la recuperación del material al final de la primera compresión y el comienzo de la segunda. La elasticidad es una medida de la cantidad de estructura del gel que se pierde en la compresión inicial. La **gomosidad**, relacionada con la fuerza necesaria para desintegrar un alimento semisólido dejándolo listo para ser deglutido se obtiene a partir del producto de la dureza y cohesividad. La **masticabilidad** es una medida del trabajo requerido para masticar un alimento sólido preparándolo para la deglución. Se obtiene a partir del producto de la dureza, cohesividad y elasticidad. Entre estos últimos se obtiene uno u otro dependiendo del tipo de alimento (Bourne, 1982; Friedman y col., 1963).

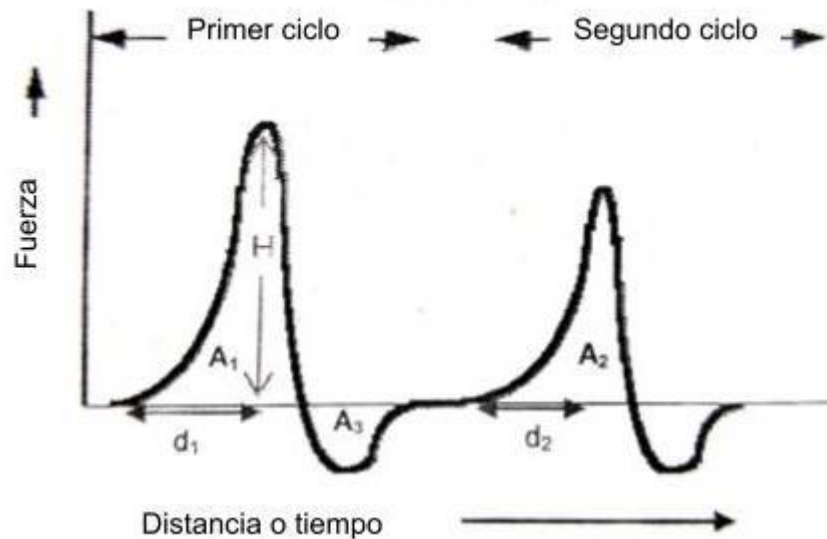


Figura 18. Esquema de un perfil de textura típico, adaptado de Friedman y colaboradores, 1963.

Capacidad de retención de agua (WHC)

Para evaluar la capacidad de retención de agua de un gel se emplean métodos basados en el uso de una fuerza externa (presión o centrifugación) y medición de la cantidad de agua liberada por el gel. Para cada tipo de gel deben estandarizarse las condiciones de centrifugación (fuerza y tiempo) y tamaño de la muestra a fin de asegurar la eliminación del agua no retenida sin daño de la estructura del mismo (Pilosoph, 2000).

La WHC es una de las propiedades fundamentales de los productos cárnicos, e influye mucho en los rendimientos del producto y la aceptabilidad sensorial. Relacionados con esta capacidad, se pueden diferenciar tres parámetros. Por una parte, la ya mencionada capacidad de retener el agua al aplicar una fuerza centrífuga (WHC), por otra, la capacidad de retenerla cuando se aplica un tratamiento térmico a temperatura cercana a los 100 °C (pérdidas por cocción) y finalmente el agua que se pierde, por gravedad, como consecuencia del proceso de conservación en refrigeración o descongelación (Rourke y col., 1996; Moreno Conde, 2010).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Siendo la desnaturalización una etapa necesaria en la gelificación de muchas proteínas, esta técnica permite estudiar los efectos de la composición del medio (sales, ácidos, azúcares, polisacáridos, etc.) en la desnaturalización de las mismas. También permite caracterizar el grado de desnaturalización logrado bajo diferentes condiciones de gelificación (Pilosoph, 2000). Así mismo, nos permite determinar la temperatura y entalpía de desnaturalización. Esta se observa como un pico endotérmico, siendo el área de la endoterma el cambio de entalpía del proceso y la temperatura de transición térmica la correspondiente al pico de la misma (Figura 19).

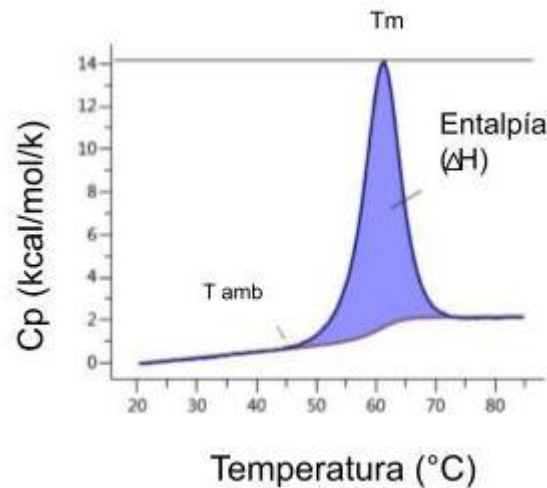


Figura 19. Los datos de DSC se presentan en forma de termograma, un gráfico de la capacidad calorífica específica frente a la temperatura, con el despliegue de proteínas asociado inicialmente con un aumento en la capacidad calorífica específica.

Si se realiza este estudio sobre una muestra cruda, es decir antes de la formación del gel, se pueden observar dos picos endotérmicos, uno con temperatura de fusión de $48,7^{\circ}\text{C}$ y una entalpía de desnaturalización de 0.025 cal/g y el otro con una temperatura de fusión de $71,7^{\circ}\text{C}$ y entalpía de 0.02 cal/g . Estos picos se asignaron a miosina ($48,7^{\circ}\text{C}$) y actina ($71,7^{\circ}\text{C}$) según algunos estudios realizados en la década del 90. Si a continuación se realiza un tratamiento de presión directa (por ejemplo a 300 MPa , y 57°C), solo se encuentra un pico a $48,7^{\circ}\text{C}$, con una entalpía de desnaturalización de 0.015 cal/g , lo que indica desnaturalización parcial de miosina. Como no se presenta ningún pico a $71,7^{\circ}\text{C}$, esto indica una desnaturalización completa de actina por tratamiento a presión (Gilleland y col., 1997; Xiong y Blanchard, 1994).

Microscopía electrónica

Es una técnica que da idea de la forma y grosor de los filamentos proteicos. No puede precisar estructuras moleculares o la forma que adopta cada molécula cuando forma parte del gel. Da idea del tamaño del poro.

El proceso de eliminación o fijación del agua puede modificar el gel de tal manera que lo que luego se observa no sea representativo. Se recomienda que cada gel sea estudiado por distintas técnicas de preparación para microscopía electrónica y que el investigador debe saber diferenciar la estructura real del gel de los artificios introducidos en la preparación (Pilosof, 2000; Cheftel y col., 1989).

El agua puede ser solidificada por congelación rápida, sin formación detectable de cristales de hielo. Sin embargo, la formación de redes proteicas artificiales inducidas por la formación de cristales de hielo es bastante común. Un método alternativo es fortalecer químicamente la estructura de la red del gel y reemplazar el agua con solventes que puedan ser secados en su punto crítico para microscopía electrónica de barrido (SEM) o polimerizados posteriormente y seleccionados finamente para microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Pilosof, 2000).

Según el tipo de gel establecido es conveniente emplear una técnica microscópica u otra. Por ejemplo, para geles muy agregados, la microscopía de barrido o de transmisión son las mejores. Usualmente cuando los geles presentan filamentos finos, la microscopía de transmisión permite obtener los mejores resultados. En geles compuestos por más de una macromolécula se recomienda emplear microscopía óptica, y electrónica, tanto de barrido como de transmisión.

La microscopía electrónica de barrido y transmisión se pueden utilizar en forma complementaria. En SEM se visualiza la superficie de fractura, en forma tridimensional y permite distinguir agregados de moléculas y espacios vacíos. En TEM se visualiza un plano de corte; la profundidad es poca pero da alta resolución de detalles estructurales. Asimismo, SEM es adecuado para geles opacos, como los formados por partículas agregadas. TEM es necesario para la visualización de geles transparentes para los cuales es necesario una mayor resolución (Pilosof, 2000; Cheftel y col., 1989).

Tanto en la microscopía de barrido como en la de transmisión, las muestras se fijan químicamente para preservar la estructura original y se deshidratan. Posteriormente, para la microscopía de barrido las muestras que se deshidrataron se fracturan para analizar el interior de las mismas. En microscopía de transmisión se lavan y deshidratan los preparados, posteriormente pasan por un proceso de embebido en resina, se tñen con metales pesados (para aumentar la resolución) y se observan.

Cromatografía

La cromatografía SDS-PAGE se emplea usualmente en macromoléculas para observar la polimerización o asociación de éstas por medio de la identificación de bandas corridas en un gel, contra un patrón. Este método permite reconocer de manera simple y práctica cómo las moléculas de mayor proporción en las soluciones respectivas, de proteínas o hidrogeles, se van asociando a medida que la red se forma. Asimismo, este método permite observar cómo afectan los cambios en el ambiente (pH, fuerza iónica, temperatura, quelantes, etc.) de estas macromoléculas a su disponibilidad para su posterior gelificación (Cheftel y col., 1989).

Espectroscopía

La espectroscopía Raman en geles suele emplearse como un método para determinar los porcentajes o fracciones de los componentes que forman las macromoléculas que establecen los mismos. Así mismo, permite reconocer los cambios en las estructuras terciarias de las proteínas antes, durante y luego de la formación del gel. De esta forma se puede tener una idea aproximada de las macromoléculas y sus transformaciones durante los distintos procesos en los que se ven envueltos (Yao y col., 2017).

La espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR) es una técnica empleada para conocer la estructura de las macromoléculas de los geles, al igual que la Raman; su mayor diferencia, es que la FTIR nos permite conocer la estructura secundaria y sus cambios durante los procesos, así como conocer qué tipos de grupos funcionales están involucrados en la formación de la estructura tridimensional (Yao y col., 2017).

Sección 3:

Sistemas gelificados de alginatos y proteínas miofibrilares de origen animal. Análisis de estudios realizados

3. Propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales de geles de alginatos y proteínas miofibrilares

La gelificación de proteínas solubles en sal durante un proceso de calentamiento es el principal responsable de la estabilización de la grasa y el agua, y de unir las piezas de carne en productos cárnicos procesados y reformados. Los procesadores de carne han practicado ampliamente la adición de proteínas no cárnicas, tales como las de suero o soja, a los productos cárnicos procesados. Diversos estudios han demostrado que no es posible predecir el potencial de gelificación proveniente de diferentes proteínas únicamente basado en los sistemas proteicos individuales, ya que los efectos de mezclar proteínas no son aditivos, como se puede suponer (Sun y Holley, 2010; Sun y col., 2013).

Muchos polisacáridos se gelatinizan para proporcionar textura, y estos también a menudo se han incorporado a los productos cárnicos para ayudar en la preparación de productos bajos en grasa o para modificar la estructura del gel. En particular, los alginatos provenientes de algas marinas han sido utilizados en la reformulación de productos cárnicos en numerosas investigaciones. Por ejemplo, Raharjo y col. (1994) utilizaron recortes de ternera para crear filetes con agregado de alginato de sodio. Pintado del Campo (2018) utilizó alginatos como agentes gelificantes para ser incorporados en productos cárnicos en salchichas tipo Frankfurt (producto cocido) y salchichas tipo longaniza (producto fresco). Fernández-Martín y col. (2009), mediante el estudio de sistemas cárnicos de origen porcino y algas marinas ricas en alginatos, postularon tentativamente que las proteínas solubles en sal se asocian atérmicamente con alginatos de algas marinas al calentarse para constituir una fase separada en un proceso térmico de gelificación compuesta. Shi y col. (2021) evaluaron los efectos de la estructura y propiedades de gel de proteínas miofibrilares sobre la calidad de pechuga de pollo tratada con ultrasonido y adición de alginato de potasio.

Algunos autores estudiaron el comportamiento de soluciones de proteínas miofibrilares y alginatos. Así, Zhao y col. (2020), cuyos estudios se basaron en analizar la interacción entre el alginato de sodio, las proteínas miofibrilares y los efectos de la concentración del primero (0,1-0,5%) sobre las propiedades reológicas y emulsionantes de la mezcla a pH neutro. Encontraron que la viscosidad de las soluciones mixtas presentan un aumento al agregar alginato. Analizando el efecto que tiene la concentración de alginato de sodio en una solución de proteínas; encontraron que existe una relación directa entre la concentración del hidrocoloide y la viscosidad de las soluciones obtenidas. La mezcla mostró un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento no newtoniano. La viscosidad aumentó gradualmente con el aumento de la concentración de alginato de sodio. Las proteínas miofibrilares y el alginato de sodio formaron una estructura de red similar a un gel interconectada con un comportamiento elástico predominante. La fuerza de la red aumentó debido a la fuerte repulsión entre los dos biopolímeros.

Estructura de los geles mixtos. Interacciones alginatos-MP

Varios estudios han establecido que los geles de alginato/calcio se unen a la carne cruda estructurada que mantiene su integridad cuando se cocina. Se ha demostrado que las proteínas de la carne interactúan con polisacáridos como el alginato (Imeson y col.,

1977; Muchin y col., 1978; Bernal y col., 1987). Los indicadores de interacciones proteína-polisacárido incluyen cambios en la estructura de la proteína y estabilidad térmica, y la inhibición de la gelificación de polisacárido.

Xiong y Blanchard (1994) estudiaron la influencia del alginato en la gelificación térmica de las SSP (2%) de pollo en NaCl 0,6 M a pH 6,0. Estos autores sugirieron que el alginato de sodio interfiere con la formación del gel de proteína soluble en sal a través del entrecruzamiento. El alginato generalmente disminuyó G' de la suspensión SSP durante la gelificación térmica, particularmente a altas concentraciones (rango de concentraciones de alginato estudiado: 0,5-2%).

Las fuerzas electrostáticas parecen ser la principal fuente de interacción entre el alginato y las proteínas de la carne (Hughes y col., 1980). Los geles frescos de proteína-alginato se forman principalmente a través de interacciones proteína-proteína, mientras que los geles maduros (24h) dependen principalmente de complejos electrostáticos de proteína-polisacárido (Bernal y col., 1987). Estas interacciones probablemente involucran grupos carboxilo cargados negativamente en el polisacárido y cadenas laterales cargadas positivamente de los aminoácidos en la proteína (Imeson y col., 1977). Asimismo, Ustunol y col. (1992) investigaron la naturaleza de las interacciones implicadas en sistemas de gel modelo de alginato de calcio que contenían proteínas miofibrilares de cerdo aisladas. En particular, se incorporaron varios reactivos que alteran los enlaces moleculares en el sistema de gelificación, a dos temperaturas diferentes, para dilucidar el mecanismo de unión del alginato en productos de cerdo reestructurados. Los geles se desestabilizaron notablemente con NaCl y NaSCN y, en menor medida, con urea y propilenglicol, pero se estabilizaron ligeramente con 2-mercaptoetanol a 92°C. Estos resultados sugieren que las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno fueron las principales fuerzas involucradas en los sistemas de gel alginato de calcio y proteínas miofibrilares. Entre los parámetros puestos a prueba, realizaron un estudio de la fuerza de gel mediante punción. En sus resultados observaron que a valores de pH mayores la dureza de los geles era más baja (cuyo rango estaba comprendido entre 5,2 y 6,2). Estudios posteriores, realizados por Kanga y col. (2020) en cuyo trabajo se observa el cambio inducido por el agregado de alginato de sodio en salchichas obtenidas de carne de cerdo, con la intención de reemplazar el 50% de la grasa de la misma. Estos últimos autores explicaron que en el rango de pH cercano al pI de las proteínas (varían entre 4,7 y 5,4), tanto éstas como el alginato presentaron cargas netas negativas por lo que la repulsión entre estas macromoléculas impidieron la asociación y formación óptima del gel, de modo que sus soluciones tuvieron una gran turbidez, y sus geles fueron poco resistentes (baja dureza).

Es de esperar que, en general, la adición de alginato provoque una red no homogénea con algunas cavidades más grandes y filamentos porosos, respecto al sistema que las proteínas miofibrilares producen normalmente. Siguiendo la línea de investigaciones de geles formados únicamente por alginato, podemos inferir que este sistema de una microestructura porosa (no regular) adecuada podría proporcionar más espacio para atrapar agua. Este tipo de sistemas presenta la capacidad de gelificación con una disminución en la temperatura de transición hacia la gelificación (Yao y col., 2017).

Rourke y col. (1996) hicieron un análisis sobre las posibles interacciones entre las proteínas miofibrilares y el alginato de sodio, para comprender con mayor profundidad

cuáles eran los puntos claves en estos geles mixtos. Su trabajo consistió en modificar residuos de histidina, lisina y arginina presentes en las proteínas miofibrilares, de modo de evaluar los geles resultantes frente a geles únicamente formados por alginato y aquellos formados por una mezcla de alginato y proteínas nativas. Los resultados proporcionaron evidencia de que los enlaces iónicos entre los aminoácidos básicos de las proteínas y los grupos carboxilato de alginato pueden ser importantes para la gelificación de los mismos. Los aminoácidos básicos de las proteínas miofibrilares, que están cargados positivamente a un pH normal de la carne (5,5), fueron importantes para establecer la gelificación de alginato y proteínas miofibrilares. Luego de realizar los ensayos, no se identificó ningún aminoácido básico como el sitio de unión más importante para las interacciones entre alginato y proteína miofibrilar. Los resultados de este estudio proporcionan más evidencia de que los enlaces iónicos entre los aminoácidos básicos de la proteína miofibrilar y los grupos carboxilato del alginato son importantes en la gelificación de este sistema mixto.

Moreno Conde (2010) estudió el agregado de alginato de sodio y transglutaminasa microbiana a sistemas cárnicos con el objetivo de elaborar modelos reestructurados de pescado; entre sus resultados encontró que era necesaria la introducción de alginato sódico e iones calcio para que se forme la red alginato-calcio que se caracteriza por tener propiedades termoestables. De sus estudios concluyó que las sales cálcicas más adecuadas para formar un sistema de alginato-calcio-pescado picado con propiedades físico-químicas adecuadas eran, lactato, caseinato y cloruro cálcicos. Por otra parte, la firmeza de dichos reestructurados disminuía al aumentar la concentración de CaCl_2 . Esto pudo deberse a que la incorporación de elevadas cantidades de iones calcio dificultaba la gelificación del alginato sódico. Este hecho indica, que independientemente de la concentración de alginato empleada (0,05-0,5%), la adición de una concentración baja de CaCl_2 (0,1%), daba lugar a reestructurados con superiores propiedades mecánicas comparados con otros de mayor concentración.

Las interacciones moleculares tales como enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e interacciones hidrofóbicas están ampliamente presentes en el sistema de mezcla de proteína-polisacárido. Lo que implica que las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno parecen ser necesarios para mejorar la capacidad de retención de agua de los geles de miosina, donde las interacciones hidrófobas tienen un efecto menor. Se ha demostrado que las interacciones predominantes en este tipo de sistemas son los puentes de hidrógeno, seguidos por las interacciones hidrofóbicas y los puentes disulfuro. Estas son las que le otorgan rigidez y estabilidad a los geles formados a valores de pH levemente superiores al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares (5,2-6,2) (Rourke y col., 1996; Ustunol y col., 1992).

Los resultados sugieren que las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno son las fuerzas principales, ya que mantienen cooperativamente las redes de gel de proteínas mixtas de alginato. Los enlaces hidrófobos y disulfuro parecen ser secundarios en la contribución a la gelificación de estos hidrocoloides con las proteínas miofibrilares. Aunque el calentamiento no es necesario en este tipo de sistemas, puede favorecer la gelificación ya que genera una gran exposición de los sitios reactivos en el alginato y la proteína, facilitando así los enlaces cruzados intermoleculares. Estas reacciones son dependientes del pH. Por lo tanto, en la fabricación de productos porcinos

que utilizan mecanismos de unión de alginato de calcio, las condiciones de procesamiento, incluida la temperatura, el pH y el entorno iónico (tipo de sal y concentración), deben controlarse cuidadosamente (Ustunol y col., 1992).

3.1 Análisis sobre las características de los geles mixtos

Algunos investigadores infirieron que el aumento en la *capacidad de retención de agua* se debe principalmente a la hidrofiliidad del alginato de sodio y la formación de la red de proteína de carne-alginato de sodio que tiene la capacidad de restringir el agua (Xiong y Blanchard, 1993). Se espera que los grupos hidrófilos y los grupos cargados aumentan con el peso molecular del alginato de sodio, por lo que tienen lugar más interacciones de alginato de sodio-agua y alginato de sodio-proteína de carne en la red de gel que contiene alginato de sodio de mayor peso molecular. En los últimos años, Yao y col. (2017) investigaron el efecto de la concentración de alginato de sodio con diferentes pesos moleculares sobre la WHC de geles de miosina inducidos por calor y propusieron un mecanismo para el efecto. Sus estudios muestran que cada solución de alginato provocó una mejora significativa en la capacidad de retención de agua del gel de mezcla con su concentración en el intervalo de 0,1-0,3%.

Diversos autores encontraron que los geles formados por proteínas miofibrilares con el agregado de alginato de sodio, en concentraciones entre 0,5 y 4% p/v, presentan un aumento de hasta el 10% de la capacidad de retención de agua frente a la retenida por los geles formados únicamente por proteínas. Entre dichos autores, se encuentran Montoya Pérez y col. (2010), quienes se dedicaron a evaluar la calidad del jamón de cerdo cocido usando alginato de sodio y carragenina durante la elaboración y almacenado a 8°C durante 35 días; Pérez Mateos y col. (1998), cuyo estudio se basó en examinar las propiedades físicas de los geles formados bajo alta presión con diferentes combinaciones de presión-tiempo-temperatura en un sistema compuesto de carne picada de pescado e hidrocoloide (iota- o kappa-carragenina y alginato de sodio); y, por último, Ustunol y col. (1992), cuyos estudios revelan que la menor concentración de alginato agregado es el que presenta las características más favorables (1,0 %p/v). Asimismo, estos autores observaron una disminución en la sinéresis tras el almacenamiento del gel conformado por proteínas miofibrilares y alginato cálcico.

Por otro lado, Moreno Conde (2010) encontró que en los reestructurados elaborados con alginato sódico y CaCl_2 , la WHC era superior cuando se incorporaban bajas concentraciones de CaCl_2 (0,1%) que cuando se incorporaban concentraciones superiores, independientemente de la concentración de alginato sódico añadida (0,05-0,5%).

Según los estudios realizados por Yao y col. (2017) la capacidad de retención de agua del gel de miosina con el alginato de mayor peso molecular (4640 KDa) fue mayor que el obtenido en los geles de miosina con aquellos de menor peso (2660 o 3890 KDa), mientras que no hubo diferencias significativas entre estos dos últimos a concentraciones iguales. El aumento de la WHC implica que se produce un atrapamiento físico de agua más favorable en los geles de miosina-alginato, y un aumento en el peso molecular del alginato puede mejorar esta red.

En comparación con las soluciones de miosina individuales, la adición de alginato de sodio con diferentes pesos moleculares aumenta significativamente la turbidez de las soluciones de miosina. Además, como es de esperar, la turbidez con alginato sódico de alto peso molecular aumenta más que la turbidez con alginato de sodio de menor peso molecular a una misma concentración. La agregación de moléculas de proteína es positivamente correlacionado con el cambio de turbidez en las soluciones de proteínas. Se encontró una relación entre la capacidad de retención de agua y la agregación de proteínas. Por lo tanto, la WHC de los geles de proteínas varía con la turbidez. Los resultados obtenidos por Yao y col. (2017) mostraron que el aumento de la turbidez podría mejorar la capacidad de retención de agua, y un mayor peso molecular de alginato de sodio podría facilitar esta mejora. Según estos autores, la adición de alginato de sodio al 0,1-0,5% aumenta la capacidad de retención de agua de los geles de miosina-alginato sódico debido a la hidrofilia de este último, y el aumento de esta propiedad mejora significativamente con el aumento del peso molecular del mismo. Las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno son las fuerzas principales en estos geles. Con el aumento del peso molecular del alginato de sodio, las fuerzas podrían mejorar aún más las interacciones intermoleculares del sistema de miosina-alginato de sodio superando el efecto de impedimento estérico. Estas interacciones aumentan la turbidez y la temperatura de transición térmica, disminuyendo la superficie hidrofobicidad y formando una red no homogénea con cavidades más grandes para almacenar agua en el sistema. Los efectos integrales de las interacciones intermoleculares más fuertes y la red llevan a una mayor capacidad de retención de agua del gel con un mayor peso molecular del alginato de sodio.

En sus estudios, Moreno Conde (2010) encontró que aquellos reestructurados con mayor concentración en CaCl_2 , la cantidad de exudado como consecuencia de la cocción era superior a aquellos otros en los que el contenido de sal era menor; cuando se empleó una fuente de calcio diferente, como caseinato de calcio, se observó el mismo efecto, pero además, en este caso se encontró un efecto cuadrático negativo del alginato sódico, lo que indica que al aumentar la concentración de alginato las pérdidas por cocción disminuían. Este efecto del alginato generó, dada su capacidad de retener agua, que dichas pérdidas por cocción puedan ser en cierta medida compensadas. Sin embargo, éste efecto no se observó cuando el alginato sódico se incorporó junto con CaCl_2 .

Bernal y col. (1987) estudiaron la naturaleza de las interacciones que tienen lugar en los geles (de proteína-polisacárido-calcio utilizando combinaciones de proteína miofibrilar cruda, concentrado de proteína de suero, alginato de sodio, metilcelulosa, pectina de bajo metoxilo, carragenina y CaCl_2) y el efecto de la congelación o el calentamiento sobre las viscosidades y las pérdidas de agua; encontraron que el distinto uso de sales afecta la capacidad de retención de agua del sistema gelificado. En los geles de alginato de alta viscosidad, que contenían 1% de proteína miofibrilar, el NaSCN, el NaCl y la urea produjeron una disminución significativa de la viscosidad; las pérdidas de agua significativas iniciales fueron producidas solo por NaCl y NaSCN. Se observaron pérdidas significativas de agua en todos los geles después del calentamiento. Los cambios importantes en las propiedades de todos los geles de alginato mezclados se vieron afectados por el NaSCN y el NaCl, lo que indica, como fue mencionado anteriormente, que la formación de estos geles probablemente implicó interacciones electrostáticas.

Dentro del análisis del perfil de textura de estos geles mixtos, Pérez Mateos (1998), cuyo estudio se enfocó en definir *texturas* que sirvan de base para la fabricación de nuevos productos de pescado por medio de adición de diferentes hidrocoloides y por diferente tratamiento de gelificación (térmico y de alta presión) a partir de músculo picado y lavado de bacaladilla, encontró que éstos presentaban un aumento en el esfuerzo realizado al momento de llevar a cabo dicho ensayo, respecto de los geles obtenidos únicamente de músculo.

Para los parámetros de la deformación hasta rotura, el esfuerzo realizado durante el trabajo de punción y el efecto sobre el trabajo de penetración, se encontró una disminución de los valores con el agregado de alginato con respecto a los geles elaborados sin adición de hidrocoloide, observado en los estudios realizados por Pérez Mateos (1998). Todo esto parece indicar que la adición de hidrocoloide a proteínas miofibrilares no presenta un efecto de reforzamiento de la matriz proteica sino más bien que interfiere en su formación. Moreno Conde (2010) encontró que cuando la concentración de alginato sódico se encontraba en un rango entre 0,05-0,14%, la resistencia a la ruptura disminuía; sin embargo, al incorporarlo en concentraciones más elevadas (0,5%), aumentaba dicha resistencia a la ruptura (siendo aún mayor que la presente en la red proteica). Concluyó que la resistencia a la ruptura de dichos reestructurados está en función de la cantidad de alginato sódico que se incorporó. Por otra parte, la incorporación del NaCl también aumenta dicha propiedad (efecto lineal positivo) posiblemente debido a la capacidad del NaCl de solubilizar proteínas favoreciendo de esta manera su capacidad de gelificación.

Por otra parte, la dureza y adhesividad aumentó en los geles con adición de alginato sódico en comparación con los valores de dureza obtenidos en el gel elaborado sin adición de hidrocoloide (Pérez Mateos, 1998). A estas conclusiones también llegaron otros científicos (Rourke y col., 1996, Zhao y col., 2020). Respecto a la cohesividad Pérez Mateos (1998) observó una disminución significativa con el agregado de alginato en geles proteicos. Sin embargo, Rourke y col. (1996) y Zhao y col. (2020) encontraron que esta propiedad no cambia significativamente respecto de los sistemas 'puros'. Se encontró también que los geles mixtos presentan una mayor elasticidad que los sistemas de proteínas y alginatos por separado. Asimismo, la gomosidad de los geles mixtos presenta valores de hasta el doble que los geles formados solamente por alginato (Rourke y col., 1996). Por último, el parámetro de masticabilidad también presenta variaciones entre los sistemas 'puros' y los mixtos; en estos últimos, el valor es mayor, probablemente debido a un aumento de las interacciones más fuertes entre residuos de las cadenas de los polímeros, razón por la cual aumenta la dureza del sistema (Rourke y col., 1996; Zhao y col., 2020).

En los estudios realizados por Rourke y col. (1996), la modificación de los aminoácidos básicos de los geles de proteínas miofibrilares y alginato a un estado no reactivo redujeron las mediciones de dureza, gomosidad y masticabilidad. Los geles de alginato-calcio-proteína miofibrilar modificados (en lisina, histidina y arginina) fueron similares para todas las mediciones.

Ensor y col. (1991) realizaron dos experimentos utilizando diferentes formulaciones de calcio, carne de res y alginato para examinar las características térmicas de las mezclas de proteína de carne y alginato. Al evaluar estos sistemas, encontraron que las

modificaciones daban como resultado geles más débiles, con menor elasticidad, una disminución en la cohesividad, gomosidad y masticabilidad respecto de los geles con proteínas nativas; así mismo, todos estos parámetros evaluados arrojaron valores similares a los geles formados únicamente con alginato.

Respecto a los estudios de frecuencia oscilatoria, la magnitud de la pendiente de $\log G'$ vs $\log \omega$ proporciona información útil sobre la estructura del biopolímero (Ross-Murphy, 1995). De acuerdo con la teoría de Ross-Murphy (1984), cuando $\log G'$ vs $\log \omega$ o $\log G''$ vs $\log \omega$ dan pendientes casi 0, los geles se pueden caracterizar como geles elásticos. Mientras que para geles débiles y soluciones altamente concentradas, las gráficas tienen pendientes positivas. Cuando la pendiente de $\log G'$ vs $\log \omega$ tiene un valor cercano a 0, el material se comporta como un material gomoso, mientras que un material líquido que fluye tiene una pendiente cercana a 2 (Ferry, 1980). Cuando está presente una red tridimensional, esperamos que la pendiente sea cercana a 0 (Gabriele y col., 2001; Kokini y col., 1994). Para determinar el comportamiento viscoelástico de la estructura de geles mixtos, Zhao y col. (2020) encontraron que el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') aumentaban gradualmente con el incremento de la frecuencia. En todo el rango de frecuencias ensayado, G' superó a G'' con una dependencia débil con la frecuencia y sus curvas no se cruzaban entre sí, lo que indica la formación de una estructura de red similar a un gel interconectada con un comportamiento elástico predominante. Es posible que esto se deba a un aumento en las interacciones electrostáticas y los puentes de hidrógeno entre las macromoléculas. Descubrieron que las muestras reestructuradas con alginato de sodio y lactato de calcio tuvieron puntuaciones de elasticidad más bajas que los filetes reestructurados con sal (NaCl) y fosfato.

Por otro lado, Shi y col. (2021) encontraron una mejora en la fuerza del gel, el módulo elástico y una disposición más ordenada de la red en pechugas de pollo tratadas con ultrasonido y agregado de alginato de potasio, así como también un aumento en la solubilidad de las proteínas miofibrilares y una disminución de la temperatura de gelificación. En el trabajo publicado por Xue y col. (2011), quienes estudiaron propiedades reológicas de geles de carne de surubí con diferentes cantidades de alginatos (0,5-3,0%), encontraron que G' fue mayor que G'' para todas las muestras de mezcla con diferentes concentraciones de gel de alginato. Los valores de ambas pendientes calculados a partir de los barridos de frecuencia tuvieron valores bajos para todos los contenidos de gel de alginato ensayados, lo que indica la existencia de una red 3-D. Sin embargo, estas redes parecían tener diferentes respuestas a los contenidos de gel de alginato. Los valores de la pendiente $\log G'$ vs $\log \omega$ para las muestras de mezcla variaron de 0,05 a 0,18 a medida que aumentó el contenido de alginato en el gel.

Kanga y col. (2020) estudiaron la mezcla de proteínas miofibrilares con alginato de sodio para mejorar la solubilidad de dichas proteínas, examinando los efectos del pH, las proporciones de mezcla y el precalentamiento de las proteínas. La mezcla con alginato de sodio mejoró la solubilidad de las proteínas miofibrilares a pH 6,5 y 5,5, y la precipitación de las mismas se inhibió completamente con una relación proteínas miofibrilares/alginato de sodio de 20 y 5,0, respectivamente. El precalentamiento de las proteínas (7°C, 30 min) redujo las cantidades de alginato necesarias para inhibir su precipitación, mejorando la estabilidad térmica de las mezclas. Estas mejoras pueden ser

el resultado de la exposición de grupos cargados negativamente, la disminución del tamaño de partícula de proteínas miofibrilares y los entrecruzamiento disulfuro después del precalentamiento. Estos hallazgos demuestran una ruta accesible para obtener formas solubles de MP, que pueden encontrar aplicación en productos líquidos.

La calorimetría diferencial de barrido se ha utilizado para mostrar la desestabilización térmica y, por lo tanto, la estructura de las proteínas de origen animal resultante de interacciones con los polisacáridos aniónicos. Las *interacciones en mezclas de proteína-polisacárido* también pueden alterar la gelificación de este último. Se encontró que algunas proteínas animales, tales como la mioglobina, inhibe la gelificación del alginato. La eficacia de la inhibición proteica de la gelificación de polisacáridos puede incrementarse mediante la desnaturalización de la proteína. Este no es el caso de las proteínas de interés, las miofibrilares. Imeson y col. (1977) realizaron estudios sobre las interacciones entre proteínas de origen animal y los polisacáridos aniónicos, pectato, alginato y carboximetilcelulosa, mediante DSC, espectrofotometría de absorción y cromatografía Sephadex. Sus resultados sugieren que la interacción entre macromoléculas es más fuerte que en un sistema únicamente formado por proteínas. Después de realizar un estudio de desnaturalización por calor, se observó que las interacciones eran mucho más fuertes a medida que se forman complejos estables de alto peso molecular. Estos complejos formados en los sistemas calentados parecen ser térmicamente irreversibles.

Según Ensor y col. (1991), las curvas térmicas de calorimetría diferencial de barrido del músculo de carne vacuna mostraron picos a 58, 67 y 78°C. La adición de alginato/calcio en un 5-10% al tejido conectivo aumentó la magnitud del pico de 58°C. Para las proteínas de tejido conjuntivo, sarcoplásmico y miofibrilar en bruto, la desestabilización térmica se redujo en 7,5, 23,6 y 8,6°C, respectivamente, con adición de aglutinante de alginato/calcio. La desestabilización del tendón por el aglutinante de aproximadamente 67°C a 58°C fue similar en magnitud al cambio de las transiciones térmicas 67-68 y 58°C reportadas en semimembranoso y probablemente indicó desestabilización del colágeno. La desestabilización térmica por alginato/calcio puede indicar un cambio en el estado físico de las proteínas que podría influir en la textura de los productos cárnicos reestructurados con alginato/calcio. En sus estudios realizaron ensayos para determinar los efectos del ligante de alginato/calcio sobre las propiedades térmicas de proteínas de res mediante calorimetría diferencial de barrido. La adición de alginato/calcio aumenta la magnitud pero no la posición de la primera transición térmica del músculo de la carne vacuna. Esto probablemente se debe a un cambio en la estabilidad térmica de las proteínas que representa la segunda transición térmica (de aproximadamente 67°C a 58°C). La combinación de alginato/calcio altera el entorno iónico y el pH del sistema cárnico y, por lo tanto, proporciona alginato para las interacciones polisacárido-proteínas. El aumento del pico de 58°C puede deberse a los efectos aditivos del pH, el entorno iónico y el alginato en las proteínas cárnicas desestabilizadoras (Stabursvik y Martens, 1980). Respecto a los valores de entalpía (ΔH), la energía consumida en las reacciones, aumentaron con la adición de alginato/calcio. Este aumento puede estar relacionado con la mayor magnitud de la transición de 58°C, lo que indica un aumento en la energía total (Joule/g) requerida para las transiciones. Los sistemas modelo muestran que las temperaturas de transición térmica de las proteínas

miofibrilares disminuyen hasta 7,5°C (55,3°C a 47,8°C), cuando el alginato/calcio se reduce (Ensor y col., 1991).

La desestabilización térmica (observada por DSC) por alginato/calcio puede indicar un cambio en el estado físico de las proteínas; como consecuencia las interacciones entre estas macromoléculas cambian, lo que podría influir en la textura de los productos cárnicos reestructurados con alginato/calcio (Ensor y col., 1991).

Dada la importancia de desarrollar un proceso de gelificación de las proteínas miofibrilares a temperaturas bajas, varios autores encontraron pertinente la investigación del uso de otros aditivos además de los hidrocoloides. Hong y Chin estudiaron estos sistemas en 2009 con la intención de modelar y optimizar los sistemas de alginato de calcio y transglutaminasa microbiana para formar un gel de proteína miofibrilar de fraguado en frío que contuvo NaCl 0,1 M o 0,3 M utilizando una metodología de superficie de respuesta; concluyeron que optimizando la combinación de los sistemas con la enzima TG y alginato de calcio, se podían formar geles proteicos aceptables endurecidos en frío en productos cárnicos bajos en sal. En 2010, estos autores investigaron los efectos de los niveles de alginato de sodio y δ -gluconolactona (GDL) sobre la gelificación en frío de la proteína miofibrilar porcina a diferentes concentraciones de sal. Sus resultados mostraron que tanto el sistema GDL como el que contiene alginato de sodio formaron un gel proteico fraguado en frío bajo diferentes concentraciones de sal. Se observó que la aplicación del sistema de alginato de sodio en la gelificación de proteínas miofibrilares fue favorable a un nivel bajo de NaCl (0,1 M), mientras que la influencia se reduce al aumentar la concentración de NaCl (0,3 M) en el sistema. Sin embargo, el aumento de la concentración de GDL en el sistema con alginato de sodio tuvo un beneficio potencial para formar un gel de proteico viscoelástico a una alta concentración de NaCl (0,3 M). Por lo tanto, los resultados indicaron que la regulación de la concentración de GDL con respecto a la cantidad de NaCl en el sistema con alginato podría mejorar las características del gel de fraguado en frío mediado por el hidrocoloide bajo diversas concentraciones de sal.

Moreno Conde (2010) estudió el agregado de alginato de sodio y transglutaminasa microbiana a sistemas cárnicos con el objetivo de elaborar modelos reestructurados de pescado. Entre sus resultados encontró que el alginato sódico junto con CaCl_2 forma su propia red, la cual de alguna forma interacciona con la proteína miofibrilar. Esta suposición se debió al hecho de que el incremento de CaCl_2 generó un aumento en la formación de enlaces de tipo hidrofóbico y puentes de hidrógeno (que podría ser debido a que el propio CaCl_2 favorece ese tipo de interacción entre las proteínas). También observó que existía un mayor grado de polimerización cuando aumentó la concentración de CaCl_2 , indicando este hecho una mayor interacción entre proteínas, lo cual se corresponde con el aumento de enlaces hidrofóbicos y puentes de hidrógeno comentados con anterioridad. En sus estudios indicó que el incremento en la cantidad de alginato de 0,05 a 0,5% con alta concentración de CaCl_2 (1%) generó un mayor grado de polimerización, lo cual se corresponde a la vez con mayores propiedades mecánicas.

En sus resultados en sistemas con la enzima, Moreno Conde (2010), encontró que la incorporación de la misma mejora la capacidad de retención de agua en el músculo de pescado, pero que esta mejora era mayor si a este sistema se le agregaba caseinato de sodio, esto se debe a que ambos factores favorecen la formación de enlaces ϵ - $(\gamma$ -

glutamil)lisina entre proteínas, efecto que además se corresponde con una ultraestructura en forma de red proteica muy compacta. Entre sus conclusiones indicó que como consecuencia de la formación de la red proteica debida a la acción de la enzima, las moléculas de agua perdían movilidad quedando más retenidas en dicha red. Durante sus estudios con aplicación de altas presiones encontró que éstas podían modificar ligeramente la estructura proteica para que de esta forma la acción de la enzima fuera mayor; los geles sometidos a tratamiento de altas presiones poseían una ultraestructura en red proteica mejor formada que los que no recibieron este tratamiento.

Así mismo Moreno Conde observó un incremento en la dureza y en la firmeza al aumentar la concentración de la enzima y someter posteriormente la muestra al tratamiento de altas presiones. La cohesividad de los geles no se vió afectada por los tratamientos de altas presiones, ni por el tratamiento térmico. Se observó que la incorporación de la TG al 0,5% da lugar a un aumento en la capacidad de retención de agua comparado con los geles control que no la contenían; sin embargo, un aumento superior al 0,5% de la enzima no producía mejoras en la WHC.

Sección 4: Conclusiones

- Los alimentos funcionales a base de carne brindan una oportunidad excelente para que la industria cárnica aborde las demandas de los consumidores, promoviendo la ingesta de ingredientes funcionales sin ningún cambio radical en los hábitos alimentarios. El desarrollo de alimentos funcionales a base de carne implica en gran medida la modificación de la composición de la carne procesada para optimizar la presencia de ciertos componentes mediante estrategias de reformulación. El uso de las algas marinas como ingrediente funcional, al contener diversos compuestos bioactivos con potenciales beneficios para la salud, abre posibilidades en el procesamiento de alimentos, incluidos los productos cárnicos. Asimismo, las algas marinas suministran diversos ingredientes con aplicaciones tecnológicas (por ejemplo, hidrocoloides utilizados como agentes de textura) que se han utilizado en el procesamiento de carne.

- Como se ha observado en el presente trabajo, el agregado de hidrocoloides (especialmente hablando de alginato) en productos cárnicos, se utiliza desde hace décadas y sus estudios comenzaron durante los años 70, continuando hasta el presente. Esto se debe a los beneficios obtenidos como consecuencia de su incorporación. Entre los mayores propósitos buscados en estos sistemas mixtos se encuentran el reemplazo eficiente de materia grasa de los productos con base en proteínas miofibrilares (tales como embutidos cocidos o crudos), sin la pérdida de sus atributos sensoriales más agradables (suavidad y ternura) para poder ofrecer alimentos más sanos al consumidor; la producción de texturas similares al músculo, obtenidas a partir de carne troceada o picada; la reducción en la temperatura necesaria para la cocción de las piezas cárnicas; la reducción en la pérdida de agua durante el almacenamiento de los productos de carne cruda y su posterior cocción, garantizando texturas más aceptables por el consumidor.

- Para poder desarrollar de forma eficiente estos sistemas combinados de proteínas miofibrilares y alginatos o sistemas mixtos es de suma importancia conocer los sistemas puros ó individuales, que presentan idea de las condiciones de partida con las cuales pueden estudiarse los sistemas mixtos. Aunque muchos de estos estudios se han llevado a cabo sobre sistemas modelo o sobre sistemas únicamente formados por proteínas miofibrilares y alginato, no hay que olvidar que la producción de un alimento completo conlleva muchos otros componentes y que éstos pueden influir de forma positiva o negativa en las diferentes propiedades según cómo interactúan con los componentes en estudio.

- Entre las técnicas más ampliamente empleadas en el estudio de los geles de estos sistemas mixtos de alginato y proteínas miofibrilares se encuentran las determinaciones reológicas, análisis texturales típicos realizados en un texturómetro, ensayos de calorimetría diferencial de barrido y microscopías electrónicas de barrido y de transmisión, para conocer las estructuras tridimensionales consecuentes de la interacción de los polímeros.

- Las primeras investigaciones realizadas sobre sistemas gelificados de proteínas y alginatos estaban orientadas a encontrar las condiciones óptimas para formar estos geles, es decir, se enfocaron en conocer cuál era el efecto del pH, la fuerza iónica, las concentraciones de sal, calcio, proteínas miofibrilares y alginato sobre las propiedades de los geles formados. Posteriormente, se desarrollaron estudios para conocer las diferencias obtenidas cuando se seleccionaron polímeros de alginato de diferentes pesos moleculares y/o el uso de proteínas nativas o desnaturalizadas, así como las variaciones

en los parámetros obtenidos en geles formados por las subunidades de las miofibrillas por separado o el uso de las mismas completas. En las investigaciones más recientes se desarrollaron estudios para evaluar el tipo de gel que se puede obtener según la fuente de calcio o el efecto de su difusión controlada, junto con los efectos que genera el agregado de ciertos aditivos.

- En general, la presencia de alginato favorece las características de los geles de proteínas miofibrilares formados. Se puede asumir que, a bajas concentraciones de hidrocoloide, la mayoría de las propiedades reológicas se ven favorecidas, sin embargo deberían realizarse estudios pertinentes sobre el sistema correspondiente, debido a que la interacción de estas macromoléculas puede verse directamente afectada por cualquiera de los otros componentes del alimento (siendo este un sistema tan complejo).

- Según lo analizado, es de esperar que los enlaces proteína-polisacárido se formen electrostáticamente, mientras que los enlaces que mantienen los agregados proteína-proteína se forman tanto electrostática como hidrofobicamente. Como las interacciones electrostáticas deben involucrar a los grupos carboxilato del polisacárido, los sitios de unión en las proteínas son presumiblemente algunos de los grupos amino, guanidina e imidazol con carga positiva, por lo que la fuerza real de la interacción estará relacionada con el número y la distribución de estos sitios, así como con la carga neta total de la proteína. De este modo, las condiciones (pH, fuerza iónica, temperatura) a las cuales se someta el producto alimenticio determinarán la fuerza con que estas dos macromoléculas se relacionen.

GLOSARIO

ADP: Difosfato de adenosina

ATP: Trifosfato de adenosina

BACs: Componentes Biológicamente Activos

CAA: Código Alimentario Argentino

CMC: Carboximetilcelulosa

DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EE.UU.: Estados Unidos

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FDA: Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)

FTIR: Fourier Transform infrared spectroscopy (Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier)

GDL: δ -gluconolactona

GP: Punto Gel

MP: Proteínas miofibrilares

PGA: Alginato de propilenglicol

PI: Punto Isoeléctrico

ps: Peso seco

PVOH: Polivinilalcohol

PVP: Polivinilpirolidina

SDS-PAGE: es el acrónimo en inglés de sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

SEM: Scanning electron microscopy (Microscopía Electrónica de Barrido)

SSP: Proteínas solubles en sal

TACC: Trigo, Avena, Cebada y Centeno

TEM: Transmission electron microscopy (Microscopía Electrónica de Transmisión)

TG: Transglutaminasa microbiana

TPA: Texture profile analysis (Análisis de Perfil de Textura)

UHP: Ultra High Pressure (Alta Presión Hidrostática)

WHC: Water Holding Capacity (Capacidad de Retención de Agua)

WHO: World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)

Bibliografía

- Abdul Khalil, H. P. S.; Lai, T. K.; Tye, Y. Y.; Rizal, S.; Chong, E. W. N.; Yap, S. W.; Hamzah, A. A.; Nurul Fazita, M. R.; Paridah, M. T.; 2018. *A review of extractions of seaweed hydrocolloids: Properties and applications*. Express Polymer Letters, 12(4), 295-317.
- Almdal, K.; Dyre, J.; Hvidt, S.; Kramer, O.; 1993. *Towards a Phenomenological Definition of the Term 'Gel'*. Polymer Gels and Networks 1, 5-17.
- Añorve, A.A.; Escalona-Buendía, H.B.; Luna-Rodríguez, L.; Pérez-Chabela, M.L.; Ponce-Alquicira, E.; Soriano-Santos, J.; Vargas-Romero, J.M.; 2019. *Reestructurados de pescado: Una buena alternativa de proteína utilizando especies de bajo valor comercial o recortes*. Nacameh, 13(1), 11-24
- Asghar, A.; Samejima, K.; Yasui, T.; Henrickson, R. L.; 1985. *Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 22(1), 27-106.
- Avendaño-Romero, G. C.; López - Malo, A.; Palou, E.; 2013. *Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos*. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos, 7(1), 87-96.
- Ayarza León, J. L.; 2014. *Los alginatos: 20000 usos de las algas submarinas*. Revista de Química, 28(1-2), 19-23.
- Battaner Arias; E.; 2012. *Biomoléculas: Una introducción a la bioquímica*. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, España.
- Bello, J.; Haas, D.; Bello, H. R.; 1966. *Interaction of protein-denaturing salts with mode amides*. Biochemistry, 5, 2539-1966.
- Bernal, V. M.; Smajda, C.H.; Smith, J. L.; Stanley, D. W.; 1987. *Interactions in protein/polysaccharide/calcium gels*. Journal of Food Science, 52(5), 1121-1125.
- Bistany, K. L.; Kokini, J. L.; 1983. *Comparison of steady shear rheological properties and small amplitude dynamic viscoelastic properties of fluid food materials*. Journal of Texture Studies, 14(2), 113-124.
- Boatella, J.; Estelrich, J.; Codony, R.; Guardiola, F.; Rafecas, M; 2004. *Química y bioquímica de los alimentos II. Propiedades funcionales de los ingredientes de los alimentos: Introducción a las bases teóricas*. Edicions Universitat Barcelona, Barcelona, España.
- Boraso, A. L.; Rico, A. E.; Perales, S.; Pérez, L.; Zalazar, H.; 2004. *Algas marinas de la Patagonia. Una guía ilustrada*. Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Argentina.
- Bourgougnon, N., Bedoux, G., Sangiardi, A., y Stiger-Pouvreau, V.; 2011. *Las algas: potencial nutritivo y aplicaciones cosméticas*. Las algas como recurso.

Valorización. Aplicaciones industriales y tendencias. Centro Tecnológico del Mar-Fundación CETMAR (ed.), 81-94.

- Bourne, M. C.; 1982. *Food texture and viscosity: Concept and measurement*. Segunda edición. Geneva, New York.
- Braccini, I.; Pérez, S.; 2001. *Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited*. *Biomacromolecules* 2001, 2, 1089-1096
- Brownlee, I.A.; Allen, A.; Pearson, J.P.; Dettmar, P.W.; Havler, M.E.; Atherton, M.R.; Onsøyen, E.; 2005. *Alginate as a Source of Dietary Fiber*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(6), 497–510.
- CAA. Código Alimentario Argentino, ANMAT, 2013. Capítulo XI: Alimentos Vegetales. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/Capitulo_XI.pdf.
- CAA. Código Alimentario Argentino, ANMAT, 1995. Capítulo XVIII: Aditivos Alimentarios. Disponible en: http://www.fcq.unc.edu.ar/sites/default/files/biblioteca/CAPITULO_XVIII_aditivos_alimentarios.pdf
- Cegiela, A.; Tambor, K.; 2012. *Effect of inulin on the physical, chemical and sensory quality attributes of polish chicken burgers*. *Journal of Food Research*, 1(1), 169-178.
- Chang, H.S.; Feng, Y.; Hultin, H.O.; 2001. *Role of pH in gel formation of washed chicken breast muscle at low ionic strength*. *Journal Of Food Biochemistry* 25,439–57.
- Chawla, S. P.; Venugopal, V.; Nair, P. M.; 1996. *Gelation of proteins from washed muscle of threadfin bream (Nemipterus japonicus) under mild acidic conditions*. *Journal of Food Science*, 61(2), 362-367.
- Cheftel, J.C.; Culioli, J.; 1997. *Effects of high pressure on meat: a review*. *Meat Science*, 46(3)211-236.
- Cheftel, J. C.; Cuq, J.L.; Lorient, D.; 1989. Capítulo 4: *Propiedades funcionales. Valor nutricional. Modificaciones químicas* en “Proteínas alimentarias: Bioquímica”. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Ching, S. H.; Bansal, N.; Bhandari, B.; 2017. *Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(6), 1133-1152.
- Clark, A. H.; Ross-Murphy, S. B.; 1987. *Structural and mechanical properties of biopolymer gels*. *Biopolymers*: 57-192
- Comfort, S.; Howell, N.K.; 2003. *Gelation properties of salt soluble meat protein and soluble wheat protein mixtures*. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 149-159

- Costa, M. J.; Marques, A. M.; Pastrana, L. M.; Teixeira, J. A.; Sillankorva, S. M.; Cerqueira, M. A.; 2018. *Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio*. *Food hydrocolloids*, 81, 442-448.
- Draget, K.I.; Østgaard, K.; Smidsrød, O.; 1991. *Homogeneous alginate gels: a technical approach*. *Carbohydrate polymers*, 14(2), 159-178
- Draget, K.I.; Strand, B.; Hartmann, M.; Valla, S.; Smidsrød, O.; Skjåk-Bræk, G.; 2000. *Ionic and acid gel formation of epimerised alginates; the effect of AlgE4*. *International journal of biological macromolecules*, 27(2), 117-122
- Draget, K. I.; Taylor, C.; 2011. *Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications*. *Food hydrocolloids*, 25(2), 251-256.
- De Freitas, Z; Sebranek, J.G.; Olson, D.G.; Carr, J.M.; 1997. *Carrageenan Effects on Salt-Soluble Meat Proteins in Model Systems*. *Journal of Food Science*, 62(3), 539-543.
- Donati, I.; Paoletti, S.; 2009. Material properties of alginates. En *Alginates: biology and applications*, 1-53. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ensor, Stuart A.; Sofos, John N.; Schmidt, Glenn R.; 1991. *Differential Scanning Calorimetric Studies of Meat Protein-Alginate Mixtures*. *Journal of Food Science*, 56(1), 175-179..
- FAO, 2001. Food and Agriculture Organization. Mercado de consumo de alginatos. www.fao.org/docrep/field/003/AB483S/AB483S04.htm. Acceso 04/07/2021.
- FAO, 2002. Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo. ISSN 0429-9329. <http://www.fao.org/3/y3550s/Y3550S00.htm>. Acceso 07/09/2021.
- FAO, 2003. *A guide to the seaweed industry*. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e00.htm#Contents> Acceso 14/06/2021.
- FAO/WHO, 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization. Health and nutritional properties of alginate in food. <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e08.htm>. Acceso 27/08/2021.
- Feng, Y.; Hultin, H.O.; 2001. *Effect of pH on the rheological and structural properties of water-washed chicken-breast muscle at physiological ionic strength*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 3927-3935.
- Fennema, Owen R; Samodaran, Srinivasan; Parkin, Kirk L.; 2010. *Química de los alimentos*. Tercera edición. Acribia, Zaragoza, España.
- Fernández-Martín, F.; López-López, I.; Cofrades, S.; Jiménez Colmenero, F.; 2009. *Influence of adding Sea Spaghetti seaweed and replacing the animal fat*

with olive oil or a konjac gel on pork meat batter gelation. Potential protein/alginate association. *Meat Science*, 83 (2), pp 209-217.

- Ferrario, M. E.; Sar, E. A.; 1995. *Macroalgas un recurso a considerar - Revista de la facultad de ciencias naturales y museo*. Disponible en: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2621.1987.tb14023.x?casa_token=x7fsR8gPak0AAAAA%3AUtfBKzflTgFOnqJBV3io_e14iLLcKnvCa8ifK6ZWbv19ehTixqBnW21Lqr_Ijp4iP167KHELyx6P2lou2A. Acceso 11/11/2021.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Fleurence, Joël; 1999. *Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses*. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), 25-28
- Fretheim, K.; Egelanddal, B.; Harbitz, O.; Samejima, K.; 1985. *Slow lowering of pH induces gel formation of myosin*. *Food chemistry*, 18(3), 169-178.
- Friedman, H. H.; Whitney, J. E.; Szczesniak, A. S.; 1963. *The Texturometer-A New Instrument for Objective Texture Measurement*. General Foods Technical Center, Tarrytown, New York.
- Gabriele, D.; de Cindio, B.; D'Antona, P.; 2001. *A weak gel model for foods*. *Rheologica Acta*, 40(2), 120-127.
- Gilleland, G.M.; Lanier, T.C.; Hamann, D.D.; 1997. *Covalent Bonding in Pressure-Induced Fish Protein Gels*. *Journal of Food Science - Volume 62, No. 4, 1997*
- Glicksman, Martin; 1986. *Food Hydrocolloids*. Volume III. General Foods Corporation, Tarrytown, New York.
- Grant, G.T.; Morris, E.R.; Rees, D.A.; Smith, P.J.C.; Thom, D.; 1973. *Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model*. *Febs Lett.*, 32, 195-198.
- Gunasekaran, S.; Ak, M. M.; 2000. *Dynamic oscillatory shear testing of foods—selected applications*. *Trends in Food Science & Technology* 11(3): 115-127
- Hamm, R.; 1961. *Biochemistry Of Meat Hydration*. *Advances in Food Research*, 10, 355-463.
- Hamm, R.; 1986. *Muscle as food. Cap 4: Functional Properties of the Myofibrillar System and Their Measurements*. Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach, Federal Republic of Germany.
- Hartmann, M.; Dentini, M.; Draget, K.I.; Skjåk-Bræk, G.; 2006. *Enzymatic modification of alginates with the mannuronan C-5epimerase AlgE4 enhances their solubility at low pH*. *Carbohydrate polymers*, 63(2), 257-262.

- Haug, A.; Myklestad, S.; Larsen, B.; Smidsrød, O.; 1967. *Correlation between Chemical Structure and Physical Properties of Alginates*. *Acta Chem Scand*, 21(3), 768-78.
- Haug, A.; Smidsrød, O.; 1962. *Determination of intrinsic viscosity of alginates*. *Acta Chem Scandinavica*. 16(7), 1569-1578.
- Hermansson, A.M.; Harbitz, O.; Langton, M.; 1986. *Formation of two types of gels from bovine myosin*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(1), 69-84..
- Hoad, C.L., Rayment, P., Spiller, R.C., Marciani, L., Alonso, B.C., Traynor, C., Mela, D.J., Peters, H.P.F. and Gowland, P.; 2004. *In vivo imaging of intragastric gelation and its effect on satiety in humans*. *Journal of Nutrition*, 134, 2293–2300.
- Hong, G. P.; Chin, K. B.; 2009. *Optimisation of Calcium Alginate and Microbial Transglutaminase Systems to form a Porcine Myofibrillar Protein Gel*. *Food Science of Animal Resources*, 29(5), 590-598..
- Hong, G. P.; Chin, K. B.; 2010. *Effects of microbial transglutaminase and sodium alginate on cold-set gelation of porcine myofibrillar protein with various salt levels*. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 444-451.
- Hughes, L.; Ledwars, D.A.; Mitchell, J.R.; Summerlin, C.; 1980. *The effect of some meat proteins on the rheological properties of pectate and alginate gels*. *Journal of Texture Studies*, 11(3) 247-256.
- Ikeuchi, Y.; Tanji, H.; Kim, K.; Suzuki, A.; 1992. *Dynamic rheological measurements on heat-induced pressurized myosin gels*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(10), 1751-1755.
- Imeson, A. P.; Ledward, D. A.; Mitchell, J. R.; 1977. *On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins*. *Journal of the Science of Food and Agricultura*, 28(8), 661-668.
- Imeson, A.; 2009. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. John Wiley & Sons, Nueva Jersey, USA.
- Jiménez Colmenero, F.; 2002. *Muscle protein gelation by combined use of high pressure/temperature*. *Trends in Food Science & Technology*, 13(1), 22-30..
- Jiménez Colmenero, F.; Fernández, P.; Carballo, J.; Fernández-Martín, F.; 1998. *High-pressure-cooked low-fat pork and chicken batters as affected by salt level and cooking temperature*. *Journal of Food Science*, 63(4), 656-659.
- Kanga, Z. L.; Wang, T. T.; Li, Y. P.; Li, K.; Ma, H. J.; 2020. *Effect of sodium alginate on physical-chemical, protein conformation and sensory of low-fat frankfurters*. *Meat Science*, 162, 108043.
- Khotimchenko, Yu. S.; Kovalev, V. V.; Savchenko, O. V.; Ziganshina, O. A.; 2001. *Physical–Chemical Properties, Physiological Activity, and Usage of Alginates, the Polysaccharides of Brown Algae*. *Russian Journal of Marine Biology*, 27(1), S53-S64.

- Kinsella, J. E.; Melachouris, N.; 1976. *Functional properties of proteins in foods: A survey. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7(3), 219-280.
- Kokini, J. L.; Cocero, A. M.; Madeka, H.; De Graaf, E.; 1994. *The development of state diagrams for cereal proteins. Trends in Food Science & Technology*, 5(9), 281-288.
- LeRoux, M. A.; Guilak, F.; Setton, L. A.; 1999. *Compressive and shear properties of alginate gel: Effects of sodium ions and alginate concentration. Journal of Biomedical Materials Research*, 47 (1), pp. 46-53.
- Liu, H.; Xu, Y.; Zu, S.; Wu, X.; Shi, A.; Zhang, J.; Wang, Q.; He, N.; 2021. *Effects of High Hydrostatic Pressure on the Conformational Structure and Gel Properties of Myofibrillar Protein and Meat Quality: A Review. Foods*, 10(8), 1872.
- López-Bote, C. (2017). Chemical and biochemical constitution of muscle. In *Lawrie's Meat Science* (pp. 99-158). Woodhead Publishing. Sawston, Reino Unido.
- Lozinsky, V.; Galaev, I. Y.; Plieva, F. M.; Savina, I. M.; Jungvid, H.; Mattiasson, B.; 2003. *Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. TRENDS in Biotechnology*, 21(10), 445-451.
- Lupo Pasin, Bryshila; González Azón, Carmen; Maestro Garriga, Alicia; Enero-Junio 2012. *Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. Revista venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 130-151.
- McHugh, D. J.; 1987. "Production, Properties and Uses of Alginates". En McHugh, D. J., (Ed). "Production and utilization of products from commercial seaweeds". Documento técnico FAO 288; *Fisheries and Aquaculture Department of the United Nations*: Roma, Capítulo 2. Disponible en: <https://www.fao.org/3/x5822e/x5822e04.htm> (acceso 26-01-2022)
- Mellema, M.; Walstra, P.; van Opheusden, J. H.; van Vliet, T; 2002. *Effects of structural rearrangements on the rheology of rennet-induced casein particle gels. Advances in Colloid and Interface Science*, 98(1), 25-50.
- Meyer, J. A.; Brown, W. L.; Giltner, N. E.; Guinn, J. R.; 1964. *Effect of emulsifiers on sausage emulsions. Food Technology*, 18, 1796.
- Montoya Pérez, L. A.; Restrepo Molina, D. A.; Suárez Mahecha, H.; 2010. *Influencia del Alginato de Sodio Sobre la Sineresis en Jamón Cocido. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(1), 5409-5415.
- Morales, C.; Schwartz, M.; Sepúlveda, M.; Quitral, V.; 2019. *Composición química y propiedades tecnológicas de alga roja, Agarophyton chilensis (ex Gracilaria chilensis). Revista de Ciencia y Tecnología*, (31), 1-10.
- Moreno Conde, H. M.; 2010. *Reestructuración en frío de músculo de pescado mediante la incorporación de alginato sódico y transglutaminasa microbiana.*

Universidad Complutense de Madrid. Departamento de de Ciencia y Tecnología de la carne y de los Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca, Instituto del Frío (C.S.I.C) Madrid.

- Muchin, M. A.; Streltsova, Z. A.; Vajnerman, E. S.; Tolstoguzov, V. B.; 1978. *Complex gels of proteins and acidic polysaccharides. Part II. The effect of electrostatic interaction on structure formation in complex gels of gelatin and alginate. Food/Nahrung*, 22(10), 867-871.
- Nandi, P. K.; Robinson, D. R.; 1972. *The effects of salts on the free energies of non-polar groups in model peptides, Journal of the American Chemical Society*, 94(4), 1308-1315..
- Ngapo, T.M.; Wilkinson, B.H.P.; Chong. R.; 1996a. *1,5-Glucono- δ -lactone-induced gelation of myofibrillar protein at chilled temperatures. Meat science*, 42(1), 3-13.
- Ngapo, T.M.; Wilkinson, B.H.P.; Chong. R.; 1996b. *Ultrastructural changes of myofibrillar protein gelled with 1,5-glucono- δ -lactone at chilled temperatures. Meat science*, 42(1), 15-23.
- Obluchinskaya, E. D.; 2008. *Comparative Chemical Composition of the Barents Sea Brown Algae. Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(3), 305-309.
- Pelkman, C.J.; Navia, J.L.; Miller, A.E.; Pohle, R.J.; 2007. *Novel calcium-gelled, alginate-pectin beverage reduced energy intake in nondieting overweight and obese women: interactions with dietary restraint status. American Journal of Clinical Nutrition*, 86(6), 1595–1602.
- Pérez Mateos, Miriam; 1998. *Hidrocoloides en la gelificación de músculo de bacaladilla (Micromesistius poutassou, Risso) inducida térmicamente y por alta presión. Universidad de Alcalá Facultad de Farmacia. Disponible en: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/175528/1/TesiDoctMiri.pdf>. Acceso el 12/12/2021.*
- Pérez Mateos, M.; Solas, T.; Montero, P.; 1998. *Carrageenans and alginate effects on properties of combined pressure and temperature in fish mince gels. Food Hydrocolloids*, 16(3), 225-233..
- Pilosof, A. M. R.; 2000. Gelation (Cap. 4). En Pilosof, A. M. R. y Bartholomai (Eds.), *Caracterización funcional y estructural de proteínas* (pp. 75e95). Buenos Aires. Argentina.
- Pintado del Campo, T. (2018). *Estrategias de reformulación de productos cárnicos más saludables basadas en la incorporación de emulsiones gelificadas en frío estabilizadas con chía (Salvia Hispanica, L.) o avena (Avena satia, L.)*. Tesis Doctoral. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, España.
- Privalov, P. L.; Griko, Y. V.; Venyaminov, S. Y.; Kutysenko, V. P.; 1986. *Cold denaturation of myoglobin. Journal of molecular biology*, 190(3), 487-498.

- Qin, Y.; Jiang, J.; Zhao, L.; Zhang, J.; Wang, F.; 2018. *Applications of Alginate as a Functional Food Ingredient. Biopolymers for Food Design*, 409–429.
- Quitral, V.; Jofré, M. J.; Rojas, N.; Romero, N.; Valdés, I.; 2019. *Algas marinas como ingrediente funcional en productos cárnicos. Revista chilena de nutrición*, 46(2), 181-189.
- Raharjo, S; Dexter, D.R.; Worfel, R.C.; Sofos, J.N.; Solomon, M.B.; Shults, G.W.; Schmidt, G.R.; 1994. Restructuring veal steaks with salt/phosphate and sodium alginate/calcium lactate. *Journal of food science*, 59(3), 471-473.
- Renard, D.; van de Velde, F.; Visschers, R. W.; 2006. *The gap between food gel structure, texture and perception. Food Hydrocolloids*, 20(4), 423-431.
- Rioux, L.E.; Beaulieu, L.; Turgeon, S. L.; 2017. *Seaweeds: A traditional ingredients for new gastronomic sensation. Food Hydrocolloids*, 68, 255-265.
- Rivera Ruiz; I. N.; 2012. *Reducción de grasa y alternativas para su sustitución en productos cárnicos emulsionados, una revisión. Nacameh*, 6(1), 1-14.
- Rodríguez Sandoval, E.; Sandoval, A.; A.; Ayala Aponte, A.; 2003. *Hidrocoloides naturales de origen vegetal. Investigaciones recientes y aplicaciones en la industria de alimentos. Tecnura*, 7(13), 4-13.
- Romero García, A.; 2008. *Estudio reológico y microestructural de emulsiones y geles de concentrados proteicos de cangrejo*. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- Ross-Murphy, S. B., 1984. *Biophysical Methods in Food Research. Critical Reports on Applied Chemistry*, 5, 138.
- Ross-Murphy, S. B., 1995. *Rheological characterisation of gels 1. Journal of Texture Studies*, 26(4), 391-400.
- Rourke', T. J.; Clarke', A. D.; Bailey, M. E.; Hedrick, H. B.; 1996. *Ionic Interactions in Algin/Calcium/Myofibrillar Protein Gels. Journal of Muscle Foods*, 8(1), 33-46.
- Rupérez, P.; Saura-Calixto, F.; 2001. *Dietary fiber and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. European Food Research and Technology*, 212(3), 349-354).
- Saavedra, J.; Domínguez, A.; 2014. *Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular, 2e McGraw Hill*. En Saavedra, J.; Domínguez, A. eds. INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V.
- Schramm, G.; 1994. *A practical approach to rheology and rheometry*. Karlsruhe. Haake.
- Shi, H.; Zhou, T.; Wang, X.; Zou, Y.; Wang, D.; Xu, W.; 2021. *Effects of the structure and gel properties of myofibrillar protein on chicken breast quality treated with ultrasound-assisted potassium alginate. Food Chemistry*, 358, 129873.

- Siccha, A.; Lock de Ugaz, O.; 1992. *Hidrocoloideos. Revista de Química*, 6(2), 171-180.
- Smidsrød, O.; Whittington, SG; 1969. *Monte Carlo investigation of chemical inhomogeneity in copolymers. Macromolecules*, 2(1), 42-44.
- Sokolova, R. V.; Ermakova, S. P.; Awada, S. M.; Zvyagintseva, T. N.; Kanaan, H. M.; 2011. *Composition, structural characteristics, and antitumor properties of polysaccharides from the brown algae. Chemistry of Natural Compounds*, 47(3), 329-334.
- Stabursvik, E.; Martens, H.; 1980. *Thermal denaturation of proteins in post ri or muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31(10), 1034-1042.
- Steffe, J. F.; 1996. *Rheological methods in food process engineering*. Segunda edición. Freeman Press. East Lansing, USA.
- Stokke, B.T.; Smidsrød, O.; Bruheim, P.; Skjåk-Bræk, G.; 1991. *Distribution of uronate residues in alginate chains in relation to alginate gelling properties. Macromolecules*, 24(16), 4637-4645.
- Stone, A.P.; Stanley, D.W.; 1994. *Muscle protein gelation at low ionic strength. Food research international*, 27(2), 155-163.
- Sun, X. D.; Holley, R. A.; 2010. *Factors Influencing Gel Formation by Myofibrillar Proteins in Muscle Foods. Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10(1), 33-51.
- Sun, W.; Zhou, F.; Sun, D. W.; Zhao, M.; 2013. *Effect of oxidation on the emulsifying properties of myofibrillar proteins. Food and Bioprocess Technology*, 6(7), 1703-1712.
- Suzuki, T.; MacFarlane, J.J.; 1984. *Modification of the heat-setting characteristics of myosin by pressure treatment. Meat Science*, 11(4), 263-274..
- Szczesniak, A. S.; 2002. *Texture is a sensory property. Food Quality and Preference*, 13(4), 215-225.
- Tam, Susan K.; Dusseault, Julie; Bilodeau, Stéphanie; Langlois, Geneviève; Hallé, Jean-Pierre; Yahia, L'Hocine; 2011. *Factors influencing alginate gel biocompatibility. Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 98(1), 40-52.
- Tiwari, Brijesh K.; Troy, Declan J.; 2015. *Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications*. En *Seaweed sustainability* (pp. 1-6). Academic press. Massachusetts, USA. .
- Totosaus, A.; 2007. *Implicaciones de la reducción de sodio en sistemas cárnicos emulsionados. Nacameh*, 1(1), 75-86.

- Townsend, W. E.; Witnauer, L. P.; Riloff, J. A.; Swift, C. E.; 1968. *Comminuted meat emulsions: Differential thermal analysis of fat transitions*. *Food Technol*, 22(319), 71.
- Usov, A. I.; Smirnova, G. P.; Klochkova, N. G.; 2001. *Polysaccharides of Algae: Polysaccharide Composition of Several Brown Algae from Kamchatka*. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 27(6), 395-399.
- Usov, A. I.; G. P. Smirnova, G. P.; Klochkova, N. G.; 2005. *Polysaccharides of Algae. The polysaccharide composition of the Pacific brown alga Alaria f istulosa P. et R. (Alariaceae, Laminariales)*. *Russian Chemical Bulletin*, 54(5), 1282-1286.
- Ustunol, Z.; Xiong, Y. L.; Means, W. J.; Decker, E. A.; 1992. *Forces involved in mixed pork myofibrillar protein and calcium alginate gels*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 577-580.
- Von Hippel, P. H.; Peticolas, V.; Schack, L.; Karlson, L.; 1973. *Model studies on the effect of neutral salts on the conformational stability of biological macromolecules*. *Biochemistry*, 12(7), 1256-1264.
- Von Hippel, P. H.; Wong, K. Y.; 1965. *On the conformational stability of globular proteins. The effect of various electrolytes and non-electrolytes on thermal ribonuclease transition*, *Journal of biological chemistry*, 240(10), 3909-3923.
- Wang, S.F.; Smith, D.M.; Steffe, J.F.; 1990. *Effect of pH on the dynamic rheological properties of chicken breast salt-soluble proteins during heat-induced gelation*. *Poultry Science*, 69(12), 2220-2227.
- Wilding, P.; Hedges, N.; Lillford, P.; 1986. *Salt-induced swelling of meat: the effect of storage time, pH, ion-type, and concentration*. *Meat Science*, 18(1), 55-75.
- Xiong, Y.L.; Brekke, C.J.; 1991. *Protein extractability and thermally induced gelation properties of myofibrils isolated from pre-rigor and post-rigor chicken muscles*. *Journal of Food Science*, 56(1), 210-215.
- Xiong, Y L.; Blanchard, S. P.; 1993. *Viscoelastic Properties of Myofibrillar Protein-Polysaccharide Composite Gels*. *Journal of Food Science*, 58(1), 164-167
- Xiong, Y. L.; Blanchard, S. P.; 1994. *Myofibrillar Protein Gelation: Viscoelastic Changes Related to Heating Procedures*. *Journal of Food Science*, 59(4), 734-738.
- Xu, Y.; Xu, X.; 2020. *Modification of myofibrillar protein functional properties prepared by various strategies: A comprehensive review*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 458-500
- Xue, Y.; Liu, X.; Zhang, L., Lin, D., Xu, J.; Xue, C.; 2011. *Effects of alginate gel on rheological properties of hair-tail (*Trichiurus lepturus*) surimi*. *Journal of Ocean University of China*, 10(2), 191-196.

- Yang, C. H.; Wang, M. X.; Haider, H.; Yang, J. H.; Sun, J.-Y.; Chen, Y. M.; Zhou, J.; Suo, Z.; 2013. *Strengthening alginate/polyacrylamide hydrogels using various multivalent cations*. *ACS applied materials & interfaces*, 5(21), 10418-10422..
- Yao, J.; Zhou, Y.; Chen, X.; Ma, F.; Li, P.; Chen, C.; 2017. *Effect of sodium alginate with three molecular weight forms on the water holding capacity of chicken breast myosin gel*. *Food Chemistry*, 239, 1134-1142.
- Zaixso, H.E.; Boraso de Zaixso, A.; 2015. *Recursos biológicos bentónicos: la Zona Costera Patagónica Argentina* (1a ed). - Comodoro Rivadavia: Universitaria de la Patagonia - EDUPA.
- Zhang, Z., Yang, Y.; Tang, X., Chen, Y.; You, Y.; 2015. *Chemical forces and water holding capacity study of heat-induced myofibrillar protein gel as affected by high pressure*. *Food Chemistry*, 188, 111-118.
- Zhao, Ning; Zou, Henan; Sun, Shuang; Yu, Cuiping; 2020. *The interaction between sodium alginate and myofibrillar proteins: The rheological and emulsifying properties of their mixture*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1545-1551.
- Ziegler, Gregory R.; Foegeding, E. Allen; 1990. *The gelation of protein*. En *Advances in food and nutrition research* (Vol. 34, pp. 203-298). Academic Press. Massachusetts, USA.