



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

" DISEÑO DE UN PROCESO PARA LA ELABORACION DE UN HIDROLIZADO ENZIMATICO DE PESCADO Y SU APLICACION EN ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO."

TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO  
B I O L O G O**

P R E S E N T A:

FERNANDO JIMENEZ CRUZ  
ALMA BEATRIZ LOPEZ REYES

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

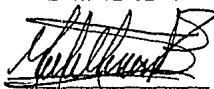
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof.	PEDRO VALLE VEGA
Vocal	Prof.	ZOILA NIETO VILLALOBOS
Secretario	Prof.	MARTIN MACOUZET GARCIA
1er. Suplente	Prof.	MARIA ELENA ARTEAGA CRUZ
2do. Suplente	Prof.	LUCIA CORNEJO BARRERA

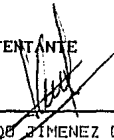
EL TEMA FUE DESARROLLADO EN LOS LABORATORIOS NACIONALES DE  
FOMENTO INDUSTRIAL. - LANFI -

ASESOR DE TEMA



Q.F.B. MARTIN MACOUZET GARCIA

SUSTENTANTE



---

FERNANDO JIMENEZ CRUZ

SUSTENTANTE



---

ALMA BEATRIZ LOPEZ REYES

**A MIS PADRES:**

Por su paciencia, apoyo, ayuda y cariño  
Por su ánimo de ser lo mejor para mi  
Por darme la mejor herencia de la vida  
el Estudio y la Educación

Los quiero

**A MIS HERMANOS:**

Por su ayuda y cariño  
Por esos momentos tan especiales  
que se viven en casa.

**A MIS AMIGOS Y FAMILIARES:**

Gracias por su apoyo y comprensión  
en mis días de estudiante.

FERNANDO

A MIS PADRES :

Por su apoyo comprensión  
y cariño, LOS QUIERO MUCHO.

A MIS HERMANOS, CUADOS Y SOBRINOS.

Por esos momentos especiales  
que hemos compartido.

AL MEJOR EJEMPLO A SEGUIR:

Gracias Tio Toño.

AL MEJOR RECUERDO DE MI VIDA  
ABUELITA MARI.

A mi esposo por ser mi apoyo, mi  
guia y mi ilusión. TE AMO FER.

A TODA MI FAMILIA Y AMIGOS POR  
LOS RECUERDOS TAN BONITOS Y LOS  
MOMENTOS COMPARTIDOS.

BETTY

Con especial agradecimiento para:

M. en C. Victor Hugo R. Neave por su interes y apoyo en el desarrollo de este tema, ya que sin su idea no hubiera podido llevarse a cabo la presente investigación.

Ing. Javier Alvarez Gayoso, por su oportuna participación durante la elaboración de este trabajo.

QFB Martin Macouzet G. por su asesoria y apoyo en la finalización del presente trabajo escrito.

QFB Ma. de Lourdes Lúa Acevedo. por quien sin sus regaños, apoyo y ayuda nunca habriamos finalizado esta tesis.

**(GRACIAS LULU)**

FERNANDO Y BETTY

## INDICE

	INTRODUCCION.....	1
CAPITULO 1	GENERALIDADES .....	3
	México frente al consumo de pescado y su importancia .....	3
	Estadística .....	11
	Objetivos .....	22
CAPITULO 2	MATERIALES Y METODOS .....	23
	Materias Primas .....	23
	Métodos de Análisis .....	26
	Análisis Microbiológico .....	29
	Método de Obtención del HEPP.....	30
	Formulación de productos usando diferentes concentraciones de HEPP .....	32
CAPITULO 3	RESULTADOS .....	35
	Selección de Materias Primas .....	35
	Selección de la Enzima .....	35
	Selección Experimental del Proceso Hidrolítico .	35
	Extracción de Grasa .....	41
	Secado .....	45
	Suplementación .....	45
CAPITULO 4	DISCUSION .....	51
	Materias Primas .....	51
	Enzimas .....	51
	Influencia del Contenido de Grasa y Proceso Hidrolítico .....	52
	Suplementación .....	56
	Recomendaciones .....	61
	CONCLUSION .....	62

Apéndice 1	
Técnicas .....	64
Apéndice 2	
Formulaciones .....	72
Apéndice 3	
Equipo .....	76
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>78</b>



## PARABOLA DE LA EDUCACION

Iba un hombre caminando por el desierto cuando oyó una voz que le dijo:

Levanta unos guijarros, mételos a tu bolsillo y mañana te sentirás a la vez triste y contento.

Aquel hombre obedeció. Se inclinó, recogió un puñado de guijarros y se los metió en el bolsillo.

A la mañana siguiente, vio que los guijarros se habían convertido en diamantes, rubíes y esmeraldas.

Y se sintió feliz y triste.

Feliz, por haber recogido los guijarros; triste, por no haber recogido más.

Lo mismo ocurre con la educación.

William Cunningham

Los ideales son como las estrellas:  
Nunca los alcanzamos,  
Pero, al igual que los marinos en alta mar,  
trazamos nuestro camino siguiéndolos.

## INTRODUCCION

Desde tiempos remotos el hombre ha utilizado el pescado como alimento. Estudios arqueológicos y observaciones hechas en pueblos primitivos indican que cualquier pez que pudiera capturarse era consumido, a menos que la experiencia demostrara que era nocivo para la salud. En épocas de abundancia de captura se desarrollaron procesos de conservación a fin de poder consumir el pescado en épocas de mayor escasez. Los primeros pescados utilizados por el hombre procedían fundamentalmente de las especies de agua dulce y de las del litoral. Estas últimas debido a sus largos periodos migratorios, a menudo, eran utilizadas para conservación. Las tecnologías desarrolladas para capturar y conservar el pescado deben ser unas de las más antiguas en la historia de la humanidad. Algunos ejemplos lo constituyen la introducción de cuerdas, redes, anzuelos y barcos así como el desarrollo de procesos tales como la desecación, salazonado, ahumado y posiblemente, en climas más fríos, los métodos de refrigeración y congelación.

Con toda probabilidad el papel del pescado en la dieta del hombre descendió durante la transición desde el nomadismo a las sociedades agrarias, en donde la captura de pescado fue insuficiente para alimentar a la población aldeana. No obstante, parece ser que el pescado fue considerado como una forma de dar variedad a la dieta que consistía originalmente de cereales. Esto fue especialmente acentuado en climas más fríos en donde el abastecimiento de animales de invierno era escaso. Todos estos factores alentaron el desarrollo de los métodos de conservación del pescado bien mediante salazón o desecación y también a una incipiente forma de cultivo de peces.

En la Edad Media, se produjo un gradual incremento en el desarrollo de la pesquería marina en comparación con la de agua dulce. Las capturas marinas podían ser mucho mayores que las de peces de agua dulce y de esta forma se convirtió en una industria relativamente barata.

En tales circunstancias, como a menudo sucede, aumentó la capacidad de elección del consumidor y también el volumen de los desperdicios, ya que el consumidor comenzó a rechazar algunas especies de pescado y a consumir sólo partes de otras. Este cambio de actitud en contra de la utilización total de pescado se acentuó aún más por el hecho de que los métodos de conservación del pescado dejaron mucho que desear. Por otro lado la cría de animales de abasto fue mejorando continuamente de forma que los productos cárnicos se convirtieron en alimentos más competitivos y fáciles de obtener. El resultado de todo esto fue que la expansión del consumo de pescado que siguió a los primeros desarrollos de la industria pesquera llegó a estabilizarse produciéndose un descenso de la importancia relativa del pescado en la dieta humana. Esta es la situación que permanece hoy en día a nivel Mundial. Así, aunque el abastecimiento de pescado ha permanecido virtualmente estático desde la segunda guerra mundial, el consumo directo de pescado ha descendido.

## CAPITULO I

### MEXICO FRENTE AL CONSUMO DE PESCADO Y SU IMPORTANCIA

El propósito de esta tesis es dar una opción para un aprovechamiento mayor de los recursos pesqueros que hasta ahora no han sido muy explotados o son poco utilizados en México.

Este propósito se ve aún más favorecido debido a los cambios económicos de México, ocurridos durante los últimos años entre 1985 a 1990, lo cual se debió a la disminución de la capacidad adquisitiva de la población, la cual ha tenido que cambiar sus hábitos de consumo.

Siendo conveniente mencionar el que algunos factores importantes influyen sobre los hábitos de consumo, como la presión publicitaria y la introducción de patrones alimenticios extranjeros. Esto ha provocado un mayor consumo de productos procesados, de alto costo y generalmente de bajo valor nutricional (mal llamados alimentos chatarra) y el efecto de esto se refleja aún más en poblaciones de menores ingresos, ocasionando una sustitución en la dieta de alimentos de origen animal por los de origen vegetal. El gasto a nivel familiar para alimentos ha disminuido hasta llegar a ser de 36 a 47 % del ingreso total, dando por consecuencia que cada vez se encuentren menos alimentos de los considerados dentro de la canasta básica, anteriormente se encontraban 10 de estos alimentos, y poco a poco se han ido reemplazando por otros de un nivel menor para alimentación, tal es el caso para el consumo de tortilla :

1986            7 a 8 Kg / familia / mes

1990            10 a 13 Kg / familia / mes

(Secretaría de Pesca: 1er. Foro, 1990) ( 28 ).

Sin embargo, cuando se ven incrementados los ingresos familiares, la tendencia es consumir mayor cantidad de alimentos de origen animal entre ellos el pescado, del cual hablaremos a continuación con más detalle.

En México el consumo directo de pescado es bajo, en relación con la disponibilidad con que se cuenta, por lo que se llega a hacer una dieta monótona, debido a que se consumen generalmente las especies más conocidas a pesar de no ser las más económicas y a que no se conocen una diversidad de recetas para su preparación; es posible suministrar a la dieta productos de mayor valor nutricional con características sensoriales y funcionales deseables para consumo humano a partir de recursos de origen marino.

Una buena alternativa a lo anterior y que tiene perspectivas adecuadas a mediano y largo plazo es la producción de hidrolizados protéicos por vía enzimática a base de pescado, suministrados a productos de harina ( pastas y pan ) los cuales son económicos y por ende de consumo común.

Por medio de éstos métodos se puede utilizar el exceso de producción pesquera que no se ha consumido directamente; además de procesar el desperdicio de plantas enlatadoras ( producto aceptable desde el punto de vista sensorial, sanitario, y de su composición ).

Debido a los cambios económicos del país ocurridos durante los últimos años, principalmente entre los años 1985 a 1990, ha habido modificaciones en la capacidad de compra de la población, la cual debido a la disminución de su capacidad adquisitiva ha tenido que cambiar sus hábitos de consumo.

Respecto a los productos pesqueros, las capturas para consumo humano directo se incrementaron en un 21 % de 1982 a 1988, igualmente el consumo directo creció en un 17.6 %.

En el Distrito Federal se consume tan sólo el 1.8 % de pescado fresco.

En el período de 1985 a 1988 el consumo "per capita" anual de de pescado por la población mexicana fué aproximadamente de 8 kg teniéndose en 1988 una disponibilidad aparente de 17 kg. (Cuadro 1)

En encuestas realizadas en 1989 se observó que la mayoría de la población mexicana no incluyó pescado en su dieta, ya que éste sólo fué consumido por un 5 a 12 % de la población rural, y este comportamiento también se observó en zonas urbanas; cabe hacer notar que es la población de un nivel medio alto quien consume más pescado. ( Secretaria de pesca; 1er. Foro 1990) ( 28 ).

Sin embargo, comparando el consumo "per cápita" de pescado con otros alimentos de origen animal, ya no existe gran diferencia, por ejemplo, en 1988 para aves el consumo fue de 8.3 kg y para pescado de 8.6 kg, esto quiere decir que sí ha aumentado el consumo de pescado, con respecto a las aves.

Pero a pesar del vasto litoral y grandes bancos acuíferos con que cuenta México, el aporte protéico de pescado a la población es muy bajo, ya que su consumo "per capita" es de

CUADRO 1

CONSUMO NACIONAL APARENTE Y PER CAPITA  
DE PRODUCTOS PESQUEROS

AÑO	CONS NAC APARENTE			CONS NAC PER CAPITA		
	TOTAL	DIRECTO	INDIRECTO	TOTAL	DIRECTO	INDIRECTO
	TON			kg		
1985	1021609	696806	324803	13.01	8.87	4.14
1986	1050663	631877	418786	13.01	7.75	5.26
1987	1128037	699033	429014	14.92	9.62	5.3
1988	1215040	719138	495882	14.69	8.7	5.99

Fuente: Secretaría de Pesca. Anuario estadístico; 1985, 1986, 1987 y 1988.

El Consumo Nacional Aparente se refiere a la disponibilidad total del producto para uso nacional, y resulta de la suma de la producción interna, la importación y se restan las exportaciones.

El Consumo Nacional "Per Cápita" es la misma disponibilidad, dividida entre el número de habitantes del país.

El Consumo Humano Directo se refiere a las especies, en distinta presentación, que se destinan únicamente a la alimentación humana.

El Consumo Humano Indirecto son las especies destinadas a la elaboración de harinas, con las cuales se elaboran alimentos balanceados para uso agropecuario.

alrededor de 10 kg/año en el Distrito Federal y en el resto de las entidades federativas es del 2 % y en ambos casos es consumido por el 6 a 12 % de la población.

Aunado a esto quienes lo consumen se basan en la mayoría de los casos en solamente siete especies (guachinango, sierra, mojarra, carpa, lisa, robalo, y mero), ( Comercio exterior ). ( 5 )

Esta situación lleva a crear alternativas para el suministro de proteínas de origen marino, ya que éstas tienen una mayor relación de aminoácidos esenciales y la digestibilidad es mejor que en otros casos y lo más importante, que no implica competencia por granos con la alimentación humana como ocurre con el ganado porcino, vacuno, ovino, caprino y avícola, ( Comercio exterior ). ( 5 ).

Dichas alternativas implican la producción de concentrados protéicos e hidrolizados por métodos tanto ácidos como enzimáticos para la obtención de dicha proteína en óptimas condiciones sensoriales para que al suplementar algún alimento no ocasione rechazo por parte del consumidor.

Los productos a base de pescado de importancia nutricional y funcional y que en un futuro pueden ser sustitutos de fuentes de proteína, para el consumo humano son: (Rocha N.V.H. ), ( 25 ).

**a) Harina de Pescado.**

Estas presentan un nivel nutricional bajo debido a las condiciones de secado, molienda y extracción.

Tienen olor y sabor intenso a pescado, alto contenido de material indeseable (hueso) y presenta rancidez por alto contenido de lípidos residuales.



**b) Concentrados de Proteína de Pescado (CPP).**

Estos productos tienen entre 70 - 85 % de proteína; ésta concentración se logra deshidratando y desgrasando el pescado obteniendo finalmente un polvo. Se emplea únicamente como enriquecedor.

**c) Aislados de Proteínas de Pescado (APP).**

Son productos similares en composición al CPP. La proteína se obtiene por precipitación en su punto isoeléctrico y se desgrasa por medio de disolventes.

**d) Hidrolizados de Proteína de Pescado (HPP).**

En estos productos a diferencia del CPP, APP y Harinas, presentan propiedades funcionales mejores, particularmente solubilidad y retención de agua debido a la modificación de las proteínas.

Inicialmente se utilizaron las enzimas propias del pescado, actualmente se obtienen por método ácido (HCl ó  $H_2SO_4$ ) y el método que tiene a futuro un gran uso es el enzimático; HEPP - Hidrolizado Enzimático de Proteína de Pescado; ya que se obtiene entre el 80 - 90 % de proteína con alto valor nutricional y digestibilidad elevada; solubles en agua y con capacidad de emulsificación de 36 - 38 ml aceite/100 mg de HPP.

Tanto para obtener CPP como APP se necesita una gran inversión, al igual que la infraestructura.

A continuación se mencionan algunos de los procesos más conocidos para la obtención de Concentrados Protéicos:

## **A) Por Extracción con Disolventes**

### **1) Proceso Viobin.**

Se realiza una destilación con dicloruro de etileno eliminándose así agua y grasa. Se muele el pescado hasta partícula de 0.5 - 2 cm. El sabor y olor residual se elimina con extracción de alcohol metílico.

### **2) Proceso BCF.**

Se mezcla el pescado a contracorriente con isopropanol, variando la temperatura y proporción de solvente. El solvente se elimina por vacío, evitando así altas temperaturas; el arrastre con vapor ayuda a obtener un producto inodoro.

### **3) Proceso Nabisco - Astra.**

El pescado se eviscera y deshuesa. Posteriormente se centrifuga y para eliminar grasa se somete a una extracción con isopropanol, el cual para eliminarlo se vuelve a centrifugar. Se seca mediante vapor.

### **4) Proceso NMFS.**

El pescado se muele y deshuesa. Se mezcla con alcohol isopropílico y posteriormente se tamiza, eliminando agua y grasa; se realizan cuatro extracciones. El solvente se recircula; en la última etapa se separa el solvente empleando vapor, y éste último se evapora después. Finalmente se muele la pulpa para obtener la harina.

### **5) Proceso sudafricano.**

El pescado eviscerado y molido se mezcla con agua conteniendo 0.1 a 0.5 % de formaldehído, se elimina la solución y los sólidos se congelan durante 30 min hasta 5 h. Las grasas se eliminan con disolventes.

**6) Proceso norteamericano.**

El pescado eviscerado, deshuesado y molido se mezcla con una solución de hexametáfosfato de sodio o potasio, pH 4 ó 5, a fin de lograr precipitación de la proteína. Las grasas se eliminan con disolventes.

**7) Proceso británico.**

Se realizan extracciones, primero con acetona se amasa el pescado y se filtra. Posteriormente se hacen dos extracciones con etanol y se filtra al vacío. Los restos de disolvente se eliminan con aire caliente inyectado a la masa.

**B) Por Hidrólisis.**

**Proceso de la Universidad de Columbia.**

Se realiza una hidrólisis química y después se prensa, teniendo como resultado tres fases: acuosa, aceitosa y con sólidos. De la fase acuosa, por medio de aspersion se obtiene un sólido con un contenido de 90 - 99 % de proteína, con baja proporción de grasa y alto valor biológico, completamente soluble en agua.

Ultimamente se han hecho estudios sobre procesos biológicos, (enzimáticos y microbiológicos) pero sólo a nivel laboratorio.

Estos estudios se ven cada vez más favorecidos ya que, en la actualidad en los países desarrollados se consume carne en la cantidad que garantiza el aporte protéico requerido en su dieta;

al contrario de éstos, en los países subdesarrollados la población rara vez la consume, puesto que su dieta se basa principalmente en granos, raíces y hortalizas. La falta de proteína provoca lesiones irreparables principalmente en cerebro durante el crecimiento de niños y jóvenes, por lo tanto se debe tratar de iniciar en éstos el suministro de proteínas obtenidas del mar a su dieta, las cuales son económicas y de buena calidad, buscando que se convierta en un hábito su consumo.

Uno de los mayores problemas que se presentan para el consumo de pescado es la rápida descomposición del mismo, debido a que la flora microbiana del pez vivo depende de la que existe en las aguas donde vive y también del manejo postcaptura. La mucosidad que recubre la superficie externa del pez se ha visto que contiene bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Sarcina*, *Corynebacterium*, *Serratia*, *Vibrio* y *Bacillus*. El lavado reduce la cuenta microbiana.

Actualmente se ha presentado una mayor dificultad que afecta al consumo de alimentos procedentes del mar, por ejemplo el contagio del cólera, ya que la mayoría de los casos se asocian al consumo de dichos productos. Este problema ha tenido algunos brotes repentinos en Asia, Africa y Europa; el más reciente tuvo su origen en el Perú diseminándose a la mayoría de los países latinoamericanos, como es el caso de Ecuador, Colombia, Brasil, Chile y recientemente, y pese a las medidas de prevención para evitar su introducción, en México, ( Secretaría de Salud ), ( 29 ).

#### ESTADISTICA.

A nivel nacional se han reportado capturas de 1,176,869 TON en peso desembarcado para 1986 y de 1,237,436 TON y 1,280,882 TON para 1987 y 1988 respectivamente, (Cuadro 2).

CUADRO 2

VOLUMEN DE CAPTURA TOTAL  
EN PESO VIVO Y DESEMBARCADO  
(TONS)

	PESO VIVO			PESO DESEMBARCADO		
	1986	1987	1988	1986	1987	1988
Peces	1957825	1090227	983843	1827924	898675	860433
Crustaceos	86218	98657	89135	60375	73631	68488
Moluscos	74877	80594	94187	61850	72960	99147
Anim Acuát	9029	6825	6348	5808	6311	5566
Plant Acuát	49154	47020	29903	41005	37787	22491
Capt sin						
Reg Oficial	1179897	191518	190761	1179897	191518	190761

Fuente: Secretaria de Pesca

CUADRO 3

DISPONIBILIDAD DE PRODUCTOS PESQUEROS  
POR PRESENTACION  
(TONS)

	1986		1987		1988		1989		1990	
	MP	PT	MP	PT	MP	PT	MP	PT	MP	PT
Congelado	142292	99116	1147565	158825	1149451	101331	1155180	106159	1198958	128770
Enlatado	120399	59695	1114165	55810	1121112	59372	1142491	70388	1165939	82396
Reduccion	119655	97748	1487349	104300	1425158	94716	1479891	100919	1429423	95787
Otros	5134	1384	5766	1309	8149	1701	6149	1584	7318	1895
Total	1717425	257943	1754846	265009	1703870	257120	1783711	284974	1801637	308848

Fuente: Secretaria de Pesca

MP .- Materia Prima

PT .- Producto Terminado

Reduccion .- Marina

La captura global aumenta cada año, sin embargo, existen bajas en algunos recursos y altas en otros, lo que es de notar, es la disminución de desperdicio cada año, esto indica que se han mejorado las condiciones de conservación y manejo durante la captura; las pérdidas de pescado son de 12 - 13 % con respecto a la captura en vivo, dichas pérdidas son durante la captura, transporte y desembarco en puerto.

Durante estos años se ha notado cierta disminución en el empleo de materia prima para la elaboración de productos alimenticios, se reportan un 86 %, 84 % y 82 % para 1986, 1987 y 1988 respectivamente, esto es lo referente a peces, (Cuadro 3), destinado a uso industrial.

Del volúmen destinado a la industria pesquera, el sector privado es quien mayor cantidad de materia prima emplea y producto terminado obtiene, (Cuadro 4), esto es debido a su gran capacidad de procesamiento instalada en toneladas por hora y al gran número de plantas en operación. Por ejemplo, en la industria reductora el número de plantas en operación del sector privado es hasta del 300 % mayor que el público, y el social se puede considerar nulo, (Cuadro 5).

Se utiliza mayor cantidad para la elaboración de productos enlatados, que congelados, sin embargo, la cantidad de producto terminado de éste último es más elevada, lo anterior se debe a que durante el proceso de enlatado se tienen más pérdidas debidas a la preparación.

El proceso de reducción es el que ocupa el mayor volúmen de materia prima, que es de 57 - 65 %, pero por el contrario es donde se obtiene el menor porcentaje de producto terminado (21 - 24 %).

CUADRO 4

VOLUMEN DE MATERIA PRIMA PROCESADA Y  
PRODUCTO TERMINADO POR SECTORES

(TONELADAS)

PROCESO Y SECTOR	86		87		88	
	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.
SOCIAL	41122	18527	41905	21681	43050	20432
Congelado	18055	14031	21616	17532	20375	15863
Enlatado	6497	909	5241	827	5293	918
Reduccion	14580	3114	14389	3072	14798	3150
Otros	1990	473	659	250	2584	501
PUBLICO	130075	85719	118538	42773	85030	31960
Congelado	16344	9049	13626	4877	10387	5822
Enlatado	70066	37637	50852	25233	33478	17215
Reduccion	43584	12002	53992	12637	41148	8919
Otros	81	31	68	26	17	4
PRIVADO	546278	180697	594403	200555	575790	204728
Congelado	107893	76036	112324	81181	118689	79646
Enlatado	43836	21149	58072	29750	82341	41239
Reduccion	391486	82632	418968	88591	369212	82647
Otros	3063	880	5039	1033	5548	1196
TOTAL	717475	257943	754846	265009	703870	257120

Fuente: Secretaria de Pesca

M.P. = MATERIA PRIMA

P.T. = PRODUCTO TERMINADO

CUADRO 5

PLANTAS DE LA INDUSTRIA PESQUERA  
POR SECTORES Y PROCESO 1988

CONGELADO	Plantas Existentes		Plantas en Operacion		M.P.	P.T.
	Numero	Cap Instalada	Numero	Cap Instalada		
Publico	12	14	12	14	10387	5822
Privado	204	90.2	167	82.4	118689	79646
Social	46	30.6	44	30.4	20375	15868
<hr/>						
ENLATADO	Plantas Existentes		Plantas en Operacion		M.P.	P.T.
	Numero	Cap Instalada	Numero	Cap Instalada		
Publico	9	143.5	9	143.5	33478	17215
Privado	23	133.1	20	123.1	82341	41239
Social	10	11.8	10	11.8	5293	918
<hr/>						
REDUCCION	Plantas Existentes		Plantas en Operacion		M.P.	P.T.
	Numero	Cap Instalada	Numero	Cap Instalada		
Publico	10	113	10	113	41148	8919
Privado	57	446.6	34	338.3	369212	82647
Social	3	45	1	15	14798	3150

La Capacidad Instalada es dada en TON/hora

La Materia Prima y Producto Terminado en TON



Sin embargo, este proceso es poco complicado y económico, su producción se destina hacia alimento para animales.

La especie más comunmente empleada para la fabricación de harinas es la sardina, seguida por la anchoveta, debido al gran porcentaje de captura que se tiene de éstas; actualmente se emplea fauna de acompañamiento para el mismo fin. Las especies que presentan mayor demanda en su consumo humano de manera fresca y por lo tanto alta captura (después de la sardina), son : quachinango, mojarra, mero, carpa, lisa y sierra, (Cuadro 6).

Las especies que se emplean generalmente en procesos industriales son sardina, macarela, tiburón, cazón, atún, pez vela y fauna de acompañamiento, (Cuadro 7). Los factores que influyen para el uso de especies con este objeto son :

- a) Costo de manufactura y materia prima.
- b) Disponibilidad de materia prima.
- c) Facilidad y características del pescado para su manejo y proceso.
- d) Aceptación del producto.

Para la producción de harinas no es importante el último punto, por lo tanto es donde se emplea el mayor volúmen de materia prima.

Pero indudablemente el consumo de pescado es preferentemente fresco, es un hábito alimenticio el cual bloquea marcadamente la aceptación de productos industrializados a base de pescado, (Cuadro 8). Este consumo es del 60 - 70 % de la captura total y aumenta cada año; por el contrario el uso industrial decrece y es

CUADRO 6

VOLUMEN DE CAPTURA TOTAL EN PESO  
VIVO Y DESEMBARCADO DE  
DISTINTAS ESPECIES  
(TONS)

	PESO VIVO					PESO DESEMBARCADO		
	1986	1987	1988	1989 *	1990 *	1986	1987	1988
Sardina	110505	123772	446696	510110	497721	88404	99018	357357
Mojarra	74972	86731	87020	85160	95737	72978	82113	83942
Carpa	20921	26170	27056	22570	27650	20645	25825	26880
Tiburón	18818	16662	21267	28820	35221	16145	14621	19021
Lisa	14147	14260	13947	12656	12567	13304	13855	13800
Sierra	9194	9569	7831	11215	15341	9192	9565	7819
Mero	9027	11794	13440	11256	13640	8870	11563	13192
Guachinango	7569	7637	6400			7391	7513	6327
Jurel	3729	3934	4346			3685	3904	4300
Corvina	4377	4422	3905			4235	4205	3785

Fuente: Secretaria de Pesca

\* Son indicadores preliminares

Estas especies son las de mayor consumo humano directo

VOLUMEN DE MATERIA PROCESADA Y PRODUCTO OBTENIDO  
DE ALGUNAS ESPECIES  
(TONELADAS)

	TOTAL		CONGELADO		ENLATADO		REDUCCION		OTROS PROCESOS		
	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.	M.P.	P.T.	
ABULON	1986	729	591	147	74	582	517				
	1988	822	715	106	54	716	661				
ANCHOVETA	1986	93395	92976			822	403	92573			
	1988	90709	90572			269	132	90440			
	1989	85250	85250					85250			
	1990	33499	33499					33499			
CALAHAR	1986	222	159	196	151	26	8				
	1988	1226	523	360	257	866	266				
CANARON	1986	41074	38151	49215	37794	754	296		105	61	
	1988	42435	39713	42257	39599				178	114	
	1989	43047	40270	42878	40181				171	109	
	1990	35638	33552	35488	33256				150	76	
DESPER - DICIOS	1986	42966						42966			
	1988	50611						50611			
	1989	55359						55359			
	1990	68272						68272			
FAUNA DE ACOMP	1986	2078						2078			
	1988	815						815			
	1989	1478						1478			
	1990	2492						2492			
FESC. NO EXPACABLE	1986	2803						2803			
	1988	485						485			
	1989	11172						11172			
	1990	16198						16198			
GARDINA Y MACARELA	1986	386728	38931	5042	4243	72456	34688	309230			
	1988	356826	36984	3622	3071	70397	33713	282807			
	1989					67553	32540				
	1990					82272	37640				
TIBURON Y CAZON	1986	7258	2104	6344	2053				914	251	
	1988	12113	3951	11428	3687				150	93	
	1989			9994					1201	463	
	1990			12374					1727	666	
TUNIDOS	1986	38938	23323	798	659	38140	22664				
	1988	42742	23870	1068	898	41674	22972				
	1989					64376	35454				
	1990					71484	39402				
ACEITE	1986		13729					13729			
	1988		12795					12795			
	1989		14444					14444			
	1990		12941					12941			
HARINA	1986		84019					81019			
	1988		81721					81721			
	1989		92475					92475			
	1990		82846					82846			

M.P. Materia Prima en peso desaharado  
P.T. Producto Terminado

CUADRO 8

VOLUMEN DE CAPTURA POR DESTINO SEGUN  
LITORAL Y ENTIDAD FEDERATIVA.  
(TONS)

	TOTAL			C.H.D			C.H.Ind			Uso Ind		
	1986	1987	1988	1986	1987	1988	1986	1987	1988	1986	1987	1988
Litoral												
pacífico	874510	942711	887176	442366	489057	517745	389976	414401	344524	42068	39253	24907
Litoral												
golfo	269221	294522	303799	277150	293114	302075	1930	1283	778	141	125	946
Entidad												
slitoral	33128	43649	45911	32326	43191	44822				802	459	1089
Total	1176859	1280882	1236896	741842	825362	864642	391906	415684	345302	43011	39836	26942

Fuente: Secretaría de Pesca

C.H.D. .- Consumo Humano Directo  
C.H.Ind .- Consumo Humano Indirecto

entre el 4 - 2 % de la captura. El consumo indirecto, que es básicamente la producción de harinas y ensilados, es de 25 - 35 %.

Con respecto al costo del pescado, es obvio que cada año aumenta y en ocasiones considerablemente, sin embargo, existen especies que se encuentran con un precio bajo respecto a las demás y éstas son :

bagre	corvina	lisa	sierra
bandera	gurrubata	mojarra tilapia	villajaiba
carpa	jurel	rubia	

La sardina tiene un precio alto en los centros de consumo, sin embargo, en puerto es uno de los más económicos. Es una especie común de la fauna mexicana, y es considerada dentro de las principales capturas en México. Son organismos pelágicos costeros que forman grandes cardúmenes, efectúan migraciones y habitan zonas subtropicales de alta productividad biológica. La pesquería de ésta es de gran variabilidad y esta sujeta a medidas de ordenación, en las que se fijan tallas mínimas de captura y periodos de veda. Esta especie se destina en su mayoría a la fabricación de enlatados y harinas, ésta última se enfoca al consumo animal, siendo alta su demanda.

La especie sardina presenta un alto contenido de grasa y por lo tanto su consumo humano directo en México es bajo, ya que por las costumbres existentes en nuestro país la mayoría de la población no le gusta su sabor, debido a que el consumo de pescado se basa en unas cuantas especies e igualmente la forma en que se prepara es muy monótona, ya que son dos o tres maneras de cocinarlo. Sin embargo, en países europeos de costumbres

diferentes el consumo de sardina es común. Además de ser la de mayor captura a nivel nacional.

La sierra es una especie igualmente común de la fauna mexicana y aunque pertenece a la misma familia del atún, es una especie de características distintas y se debe considerar aparte, presenta piel desnuda y delgada, y su carne es suave, por lo que se puede dañar fácilmente durante su pesca y transporte. Su carne es blanca y de sabor excelente, además de proporcionar los mayores rendimientos en filete. Su comercialización y consumo humano es principalmente en fresco, pero también se ahuma y congela en cantidades importantes.

## OBJETIVOS

- 1.) Determinar a escala de laboratorio las condiciones óptimas de proceso para obtener un hidrolizado enzimático de proteína de pescado (HEPP).
- 2.) Determinar la especie de pescado más adecuada para la obtención de un hidrolizado, en base al contenido de grasa.
- 3.) Encontrar la concentración máxima aceptable del HEPP desde el punto de vista físico y sensorial, para su incorporación en productos a base de harina de trigo.
- 4.) Mediante análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales, corroborar que son aptos para consumo humano y la concentración óptima para su aceptación ó rechazo.

## CAPITULO II

### MATERIALES Y METODOS

Como primer paso, se realizó un diagrama de bloques muy general con el fin de entender y seguir el procedimiento en la obtención del HEPP, sin desviarse de los objetivos planteados en un inicio. Tal diagrama se muestra en la figura 1.

#### MATERIAS PRIMAS

##### Pescado

Los experimentos realizados se efectuaron sobre dos especies: sardina ( *Opisthonema libertate* ) como especie grasa y sierra ( *Scomberomorus maculatus* ) como magra, para observar el comportamiento de las enzimas con respecto a la grasa presente en el medio.

Las especies empleadas en el presente trabajo fueron seleccionadas principalmente en base al contenido de grasa, ya que de esto dependerá en gran parte las características finales del HEPP y los productos suplementados con éste.

Otro de los factores que influyeron para la selección de estas especies de pescado, fue su disponibilidad en el mercado (Cuadro 6) y su alta porción comestible, sardina 68 % y sierra 75 %, (Cuadro 9).

Murray y Burt (22) informan que el mayor contenido de grasa en las especies marinas se encuentra en la cabeza, por lo que para comprobar cómo afecta esto al hidrolizado, se trabajó con las dos especies antes mencionadas, con y sin cabeza.



CUADRO 9  
 COMPOSICION MEDIA DE SIERRA Y SARDINA EN FRESCO  
 (POR 100 GRAMOS DE PORCION COMESTIBLE)

PESCADO	PORCION COMESTIBLE	ENERGIA (kcal)	PROTEINAS (g)	LIPIDOS (g)	H.C.† (g)	CALCIO (mg)	FOSFORO (mg)	HIERRO (mg)	TIAMINA (mg)	RIBOFLAVINA (mg)	NIACINA (mg)
Sierra	0.75	117	19.4	3.4	1.1	10	168	—	0.14	0.19	4.1
Sardina	0.68	607	18.1	7.5	1.3	43	—	1.1	0.12	0.38	6.4

Fuente: I.N.N. Tablas de uso práctico.  
 † H.C. = Carbohidratos

DIAGRAMA GENERAL DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL  
PARA LA OBTENCION DEL HEPP

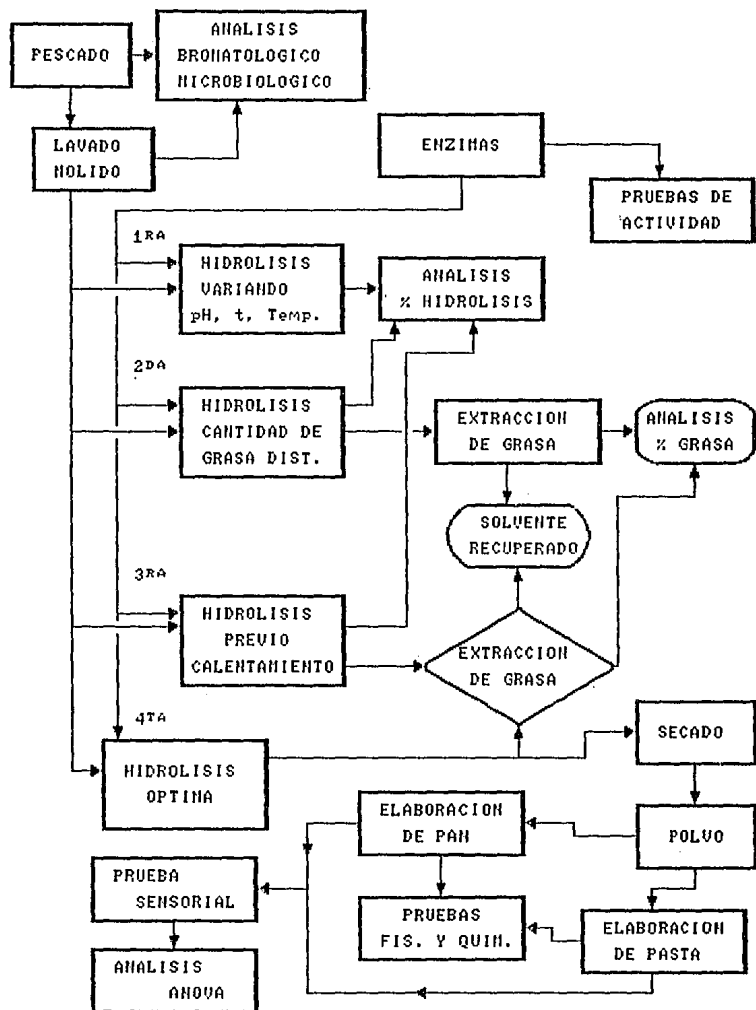


FIG. 1

## Enzimas

Para efectuar el estudio se utilizaron cuatro enzimas proteolíticas comerciales: HT-Proteolytic 200, corolasa, neutrasa y alcalasa; las cuales se trabajaron con las condiciones de uso indicadas por el productor, (Cuadro 10).

Se verificó la actividad de las mismas sobre un sustrato de caseína. La determinación se hizo a distintas temperaturas y se midió el tiempo de coagulación en función de la concentración de la enzima, (Apéndice I), Whitaker, J.R., (33).

Igualmente se midió el tiempo de coagulación de la caseína preparándose una solución de la enzima con su concentración óptima de actividad y se empleó cada vez mayor cantidad de la solución. Esta prueba se hizo a una misma temperatura, de 35 °C (308 °K), para no tener efecto sobre la caseína por la temperatura, y disminuir el error en la medición de la prueba.

## **METODOS DE ANALISIS**

La evaluación de la materia prima, el HEPP en forma de polvo y las pastas y panes elaborados, se llevó a cabo mediante diferentes análisis, los cuales se describen a continuación.

### Análisis Proximal

#### 1) Determinación de cenizas.

Se realizó de acuerdo al método 18.025 del A.D.A.C. (23)

#### 2) Determinación de humedad.

Se realizó de acuerdo al método 18.023 del A.D.A.C. (23)

CUADRO 10

CARACTERISTICAS DE ENZIMAS

Enzima	Origen	Tipo	Concentracion optima	Temp. optima	pH optimo
HT-Proteolitic 200	B. subtilis	Neutro	0.5 %	45 - 55 °C	6.5 - 7.5
Neutrasa	B. subtilis	Neutro	0.2 %	45 - 50 °C	6 - 6.5
Alcalasa	B. licheniformes	Neutro	0.4 %	60 - 65 °C	8 - 8.5
Corolasa	Aspergillus	Neutro	0.02 %	45 - 55 °C	6.5 - 7.5

### 3) Determinación de proteína.

Esta determinación se realizó por el método del indofenol descrito en el Apéndice 1.

### 4) Determinación de grasa.

Se realizó por el método de hidrólisis ácida 18.043 del A.O.A.C. (23).

Se tiene como referencia la información proporcionada por el I.N.N., Cuadro 9.

## Otros Analisis

### 5) Determinación del porcentaje de hidrólisis.

Una vez obtenido el hidrolizado, para poder conocer el grado de eficacia de hidrólisis de cada enzima, teniendo como sustrato al pescado, se determinó la cantidad de nitrógeno soluble (Ns) y nitrógeno total (Nt), por el método del indofenol Martínez, F.G. (Apéndice 1). En función de su relación se calculó el grado de hidrólisis de las enzimas empleadas.

### 6) Extracción de grasa.

Esta determinación se realizó como parte del análisis bromatológico de la materia prima y posterior a la obtención del HEPP.

Se realizaron extracciones utilizando distintos disolventes orgánicos en combinación, como :

Hexano - hexano - etanol

Eter etílico - eter etílico - etanol

#### Método de extracción de grasa.

- a) Se colocan 50 ml de hidrolizado de pescado y, se añaden 150 ml de hexano o éter etílico en un matraz bola fondo plano. Posteriormente se mantiene en reflujo durante 45 min.
- b) Se retira el disolvente por filtración al vacío una vez transcurrido el tiempo, y se repite la misma operación una vez más con hexano o éter, y por último con etanol.
- c) Una vez terminada la última extracción con etanol, se separa el disolvente y se seca la muestra evaporando el disolvente residual en estufa, a 25 °C (298 °K) durante 20 min. Posteriormente se calcula el contenido de grasa en la muestra.

Se hace igualmente una determinación al hidrolizado sin haberle realizado la extracción de grasa, para comparar.

Una vez terminada la extracción de grasa, la recuperación de los disolventes se realizó mediante un rotavapor (Apendice 3).

La separación de los disolventes del hidrolizado de pescado se realizó mediante una filtración al vacío, y como estos son desecantes, el secado final del hidrolizado no requirió de un proceso tan drástico, ya que un secado por charolas es suficiente para eliminar el disolvente residual.

#### ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Este análisis incluyó la determinación de cuenta de bacterias mesofílicas aerobias por cuenta en placa con agar Nutritivo, y la prueba presuntiva de coliformes por cuenta en placa en Agar Bilis Verde Brillante. (Apéndice 1).

## METODO DE OBTENCION DEL HEPP

En base a la literatura técnica encontrada para la obtención del hidrolizado enzimático, Hindi and Douri (16), se estableció un procedimiento general para éste fin, el cual se muestra en la Fig. 2.

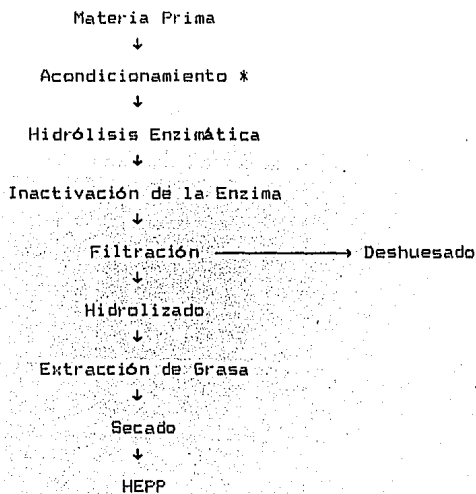
Inicialmente la materia prima, en este caso el pescado se descongela, y se le realiza un lavado externo a chorro de agua, eliminando así en gran parte las escamas y por consiguiente, los microorganismos superficiales.

Para determinar las condiciones óptimas de las actividad enzimática en base al contenido de grasa, se realizó la hidrólisis con pescado entero y pescado descabezado, como ya se mencionó el primero contiene una mayor cantidad de grasa que el segundo.

Posteriormente el pescado se sometió a un molido y se ajustó el pH. Para obtener una mayor actividad enzimática, se consideraron las recomendaciones dadas por los fabricantes en cuanto a temperatura, pH y tiempo óptimos, (Cuadro 11). Por otro lado Gálvez/Morales/Bourgues y Martínez (15), informaron datos de una mejor actividad enzimática bajo estas condiciones, por lo que se decidió trabajar con dichos parámetros, realizando combinaciones con las mismas.

Para tal efecto, se manejaron pequeñas cantidades de pescado acondicionadas como ya antes se mencionó, en algunos casos con cabeza y otros descabezado. Realizandose las pruebas de porcentaje de hidrólisis obtenido, (Apéndice 1).

## DIAGRAMA DE PROCESO GENERAL PARA OBTENCION DEL HEPP



\* El acondicionamiento incluye el lavado del pescado y su molido con la eliminación de hueso y ajuste de pH.

Figura 2



## FORMULACION DE PRODUCTOS EMPLEANDO DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL HEPP

Una vez obtenido el hidrolizado HEPP deshidratado y listo para su incorporación en productos alimentarios, se pasa al proceso de molienda en un micropulverizador (Apéndice 3) para obtener un tamaño de partícula que pase por malla No. 100 y poder mezclarlo homogéneamente con harina de trigo para que no se vea afectada la textura de los productos.

### Suplementacion

Una vez obtenido el hidrolizado con ambas especies en las condiciones antes descritas, se procede a emplearlo en la elaboración de productos alimenticios como son las pastas para sopa y pan blanco, en diferentes concentraciones de suplementación, 5 %, 10 % y 15 %.

### Formulacion de Pastas.

La preparación de éstas se realizó con harina de trigo duro, (proporcionado por la empresa Pastas Cora) agua, colorante amarillo 5 e hidrolizado (Apéndice 2). Al mismo tiempo se hicieron controles de sopa sin contener hidrolizado.

Se les realizaron diversos análisis, como son bromatológico, físicos y sensoriales.

Las pruebas físicas se realizaron para conocer que tanto se ve afectada la proteína de trigo al adicionar otro tipo de harina, en este caso de HEPP, y consisten en:

- a) - Tiempo de cocimiento
- b) - Absorción de agua
- c) - Densidad del agua de cocimiento
- d) - Porcentaje de sedimentación
- e) - Tiempo de desintegración

Las anteriores técnicas se describen en el Apéndice 1.

#### Formulación de Pan.

Se preparó pan blanco con diferentes concentraciones del hidrolizado y también se corrieron al mismo tiempo controles de estos panes eliminando de la formulación el HEPP. Para esta prueba se empleó trigo fuerte de buena calidad panadera, (Apéndice 2). La prueba física realizada al pan fue volúmen de esponjamiento, (Apéndice 1).

Las pruebas anteriores se realizaron con el fin de determinar la concentración máxima de suplementación a la cual no se ven afectadas las características físicas, ( funcionales ), ni sensoriales de las sopas y los panes.

Los alimentos suplementados se evaluaron sensorialmente según una prueba de aceptación de muestras múltiples con una escala hedónica de 1 a 7, que va del gusta extremadamente a disgusta extremadamente; acompañada de una prueba de ordenamiento de cuatro niveles. Los jueces ( no entrenados ) para las pruebas se eligieron al azar, con el fin de tener personas representativas de la población en general. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante un análisis de varianza, ( ANOVA ).

Las pruebas para la evaluación sensorial no fueron comparadas

con un producto comercial enriquecido con hidrolizado de pescado como testigo, debido a que no lo hay en el mercado, por lo que se utilizó un producto enriquecido con albúmina de huevo, para el caso de la sopa.

## CAPITULO III

### RESULTADOS

#### A) Selección de Materias Primas.

Los resultados del análisis proximal y microbiológico de sardina y sierra se encuentran en los cuadros 11 y 12 respectivamente.

#### B) Selección de la Enzima.

La actividad de las cuatro proteasas comerciales estudiadas (HP-Proteolytic 200, alcalasa, neutrasa y corolosa), determinadas sobre un sustrato de caseína, empleando la concentración óptima recomendada por el fabricante, se reportan en los cuadros 13 y 14.

#### C) Selección Experimental del Proceso Hidrolítico.

Los cuadros 15 y 16 muestran los resultados finales de las condiciones que dan una mejor hidrólisis sobre el pescado.

Estas condiciones son las siguientes:

Temperatura	50 °C
pH	7.0
tiempo	2 h

La enzima HT-Proteolytic 200 muestra mejores resultados en el porcentaje de hidrólisis, fig. 3 y 4.

CUADRO 11

ANALISIS PROXIMAL DE SIERRA Y SARDINA  
(EN PORCENTAJE) +

	% HUMEDAD	% CENIZAS	% GRASAS	% PROTEINA
<b>SIERRA</b>				
CON CABEZA	60.9	1.6921	6.857	19.4
SIN CABEZA	60.4	1.3168	4.568	19.0
<b>SARDINA</b>				
CON CABEZA	43.1	2.4267	25.0416	18.8
SIN CABEZA	40.0	2.1020	19.7330	18.3

+ Promedio de 5 repeticiones

CUADRO 12

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS  
DE LAS ESPECIES, DESPUES DEL LAVADO

		Sardina	Sierra
Cuenta de Bacterias mesofilicas	col/g	130 E -2	120 E -2
Hongos y Levaduras	col/g	NEGATIVO	NEGATIVO
Coliformes	col/g	NEGATIVO	NEGATIVO

+ Promedio de 5 repeticiones

CUADRO 13

TIEMPOS DE HIDROLISIS CON CASEINA  
A DIFERENTES TEMPERATURAS +

(EN MINUTOS ' Y SEGUNDOS '')

TEMP	30°C (303°K)	35°C (308°K)	45°C (318°K)
ALCALASA	1'07''	0'49''	0'12''
COROLASA	4'56''	1'30''	0'16''
HT-PROTEO			
LYTIC 200	0'41''	0'28''	0'10''
NEUTRASA	1'48''	1'04''	0'21''

+ Promedio de 5 corridas

CUADRO 14

TIEMPOS DE HIDROLISIS DE CASEINA  
A 45°C (318°K)  
CON DISTINTAS CONCENTRACIONES

(EN MINUTOS ' Y SEGUNDOS '')

CONC	0.5 ml	1.5 ml	2.5 ml
ALCALASA	3'18''	0'59''	0'16''
COROLASA	6'12''	1'27''	1'02''
HT-PROTEO			
LYTIC 200	2'39''	1'15''	0'14''
NEUTRASA	3'18''	1'44''	0'31''

+ Promedio de 5 corridas

CUADRO 15

PORCENTAJE DE HIDROLISIS OBTENIDO CON  
C O R O L A S A en Sardina +

	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado
(Enzima)g/50g	0.0126	0.0183	0.0115	0.011	0.0122	0.0124	0.0113	0.0113	0.0115	0.0113
Temp C	50	50	55	55	50	50	50	50	50	50
Tiempo hrs	1.5	1.5	1.5	1.5	2	2	2	2	1.5	1.5
(Sustrato) g	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
pH	7	7	7.5	7.5	7	7	7.5	7.5	7.5	7.5
N sol	94.7	131.82	24.6	142.3	815.9	700	101.35	160.85	73.4	96.4
N tot	4824.32	5656.65	3015.8	5949.16	15470	11417	4696	4587.8	4077.7	4634.61
% hidrolisis	1.96	2.33	0.81	2.4	5.27	6.13	2.16	3.5	1.8	2.08

+ Promedio de 5 corridas

CUADRO 16

PORCENTAJE DE HIDROLISIS OBTENIDO CON  
HT - PROTEOLYTIC 200 en Sardina +

	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado	Entero	Picado
(Enzima)g/50g	0.2508	0.2506	0.2506	0.2509	0.2504	0.2503	0.2506	0.2499	0.2506	0.2508
Temp C	50	50	55	55	50	50	50	50	50	50
Tiempo hrs	1.5	1.5	1.5	1.5	2	2	2	2	1.5	1.5
(Sustrato) g	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
pH	7	7	7.5	7.5	7	7	7.5	7.5	7.5	7.5
N sol	58.5	63.9	49.8	50.4	69.5	67.9	69.4	67.8	54.8	58.9
N tot	680.5	705.3	786.3	765.9	421.8	398.9	725.4	698.3	759.4	786.2
% hidrolisis	8.60	9.06	6.33	6.58	16.48	17.02	9.57	9.71	7.22	7.49

+ Promedio de 5 corridas

CUADRO 17

PORCENTAJE DE HIDROLISIS OBTENIDO CON  
HT - PROTEOLYTIC 200  
C O R O L A S A  
en Sierra

	Entero	Picado	Entero	Picado	†	Entero	Picado	Entero	Picado
(Enzima)g/50g	0.2505	0.2502	0.2506	0.2502	†	0.0111	0.0115	0.0113	0.011
Temp C	50	50	50	50	†	50	50	50	50
Tiempo hrs	1.5	1.5	1.5	1.5	†	2	2	2	2
(Sustrato) g	50	50	50	50	†	50	50	50	50
pH	7	7	7	7	†	7	7	7	7
N sol	178.6	211.4	69.4	69.4	†	17.375	30.6	13.35	30.6
N tot	680.9	600.9	745.5	722.5	†	2800	745.5	2800	745.5
% hidrolisis	26.23	31.04	9.31	9.6	†	0.62	4.1	0.47	4.1
	CALENTANDO					CALENTANDO		SIN CALENTAR	

+ Promedio de 5 corridas. Picado = Sin cabeza Entero = Con cabeza

# HIDROLISIS DE SARDINA CON COROLASA A DISTINTAS CONDICIONES

39

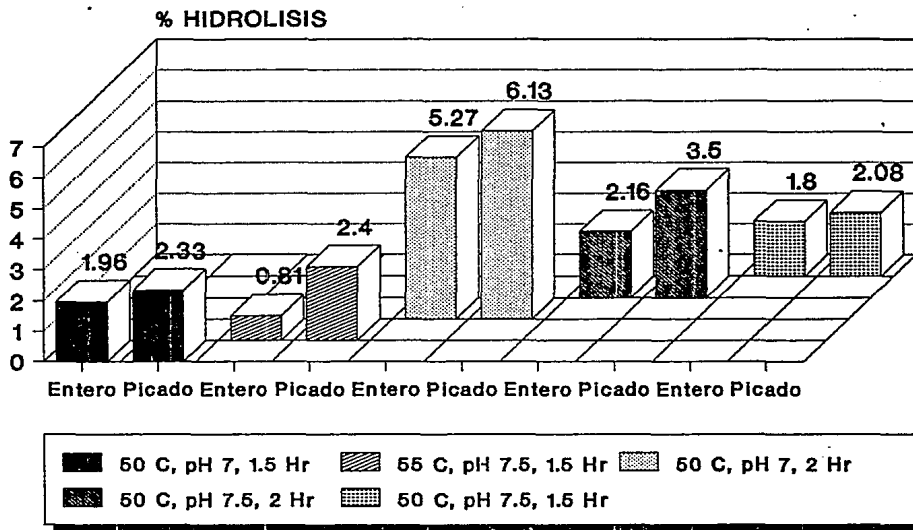


FIGURA 3



# HIDROLISIS DE SARDINA CON HT-PROTEOLITIC 200 A DISTINTAS CONDICIONES

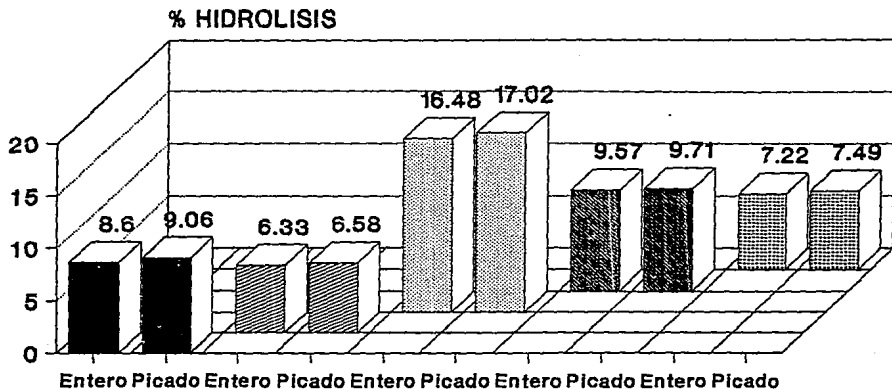
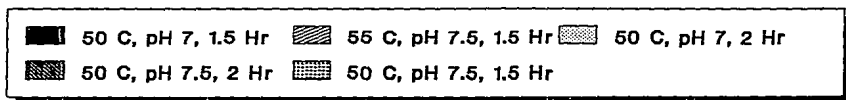


FIGURA 4

Este mismo comportamiento pero con mayor eficiencia se observa sobre la sierra, realizando un cambio dentro del proceso el cual es acondicionar el medio a la temperatura ( 50. °C ) adecuada antes de la hidrólisis, dichos resultados se ven en el cuadro 17, Fig. 5.

Para tener una visión más amplia, es decir, confirmar el comportamiento de estas enzimas, se emplearon las otras dos, es decir alcalasa y neutrasa; sobre ambas especies. Estos resultados se ven en el cuadro 18.

#### D) Extracción de Grasa.

Previo a este paso se realizaron pruebas de separación de hueso y escama que hayan pasado el molido y no hayan sido hidrolizados.

De la sierra se tiene una porción comestible del 77 % (De una media de 5 observaciones) lo cual concuerda con COPLAMAR. De su contenido total de hueso el 92. % se elimina durante el molido, ya que al pasar por las cuchillas y después por el disco con perforaciones de 8 mm pasa prácticamente sólo carne y parte de hueso finamente molido.

En el caso de la sardina la porción comestible es de 65 % (De una media de 5 observaciones), y sólo se elimina el 71 % de su contenido de hueso durante el molido. En este caso se habla de porción comestible ya que no se puede adicionar alto contenido de hueso a un alimento para consumo humano.

En ambos casos la cantidad de hueso restante se eliminó del hidrolizado pasando éste, primero por malla No. 10 y luego por la No. 100 de la serie Mont-Inox.

# GRAFICA DE PORCENTAJES DE HIDROLISIS OBTENIDOS SOBRE LA ESPECIE SIERRA

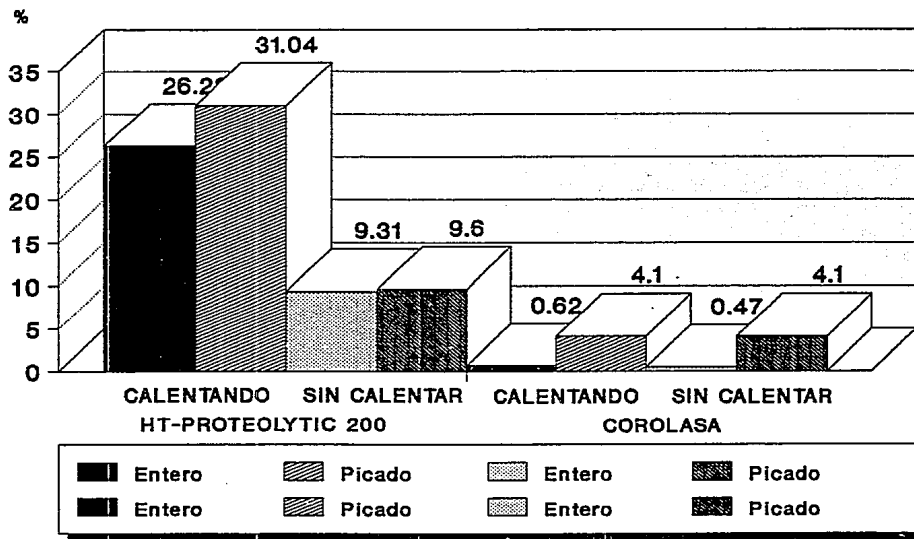


FIGURA 5

RESULTADOS DE HIDROLISIS EMPLEANDO  
LAS CUATRO ENZIMAS

ALCALASA				
	I	II	III	IV
Abs Nt	0.055	0.055	0.053	0.052
g/50g	2252.2	2252.2	2112.8	2044.4
Abs Ns	0.022	0.02	0.03	0.02
g/50g	115.7	98.2	197.7	98.2
% Hidrol	5.139	4.36	9.36	4.8
COROLASA				
	I	II	III	IV
Abs Nt	0.052	0.052	0.052	0.052
g/50g	2044.4	2044.4	2044.4	2044.4
Abs Ns	0.05	0.032	0.02	0.025
g/50g	477.6	221	98.2	144.35
% Hidrol	3.36	10.81	4.8	7.06
NEUTRASA				
	I	II	III	IV
Abs Nt	0.052	0.052	0.05	0.05
g/50g	2044.4	2044.4	1910.6	1910.6
Abs Ns	0.03	0.03	0.03	0.022
g/50g	197.7	197.7	197.7	115.7
% Hidrol	9.67	12.62	10.35	6.058
PROTEOLITIC-200				
	I	II	III	IV
Abs Nt	0.052	0.052	0.052	0.052
g/50g	2044.4	2044.4	2044.4	2044.4
Abs Ns	0.035	0.045	0.025	0.32
g/50g	258	398.2	144.35	221
% Hidrol	12.62	19.48	7.06	10.81

I - Sierra con cabeza                      III - Sardina con cabeza  
II - Sierra sin cabeza                      IV - Sardina sin cabeza

NOTA - Las hidrólisis fueron realizadas con las condiciones óptimas encontradas anteriormente, que son:

pH = 7                      t = 2 hr                      T = 50 °C (323 °K)

Abs Nt = Absorción de Nitrógeno total  
Abs Ns = Absorción de Nitrógeno soluble

CUADRO 19

PORCENTAJE DE GRASA REMANENTE  
EN PESCADO E HIDROLIZADO  
POSTERIOR A LA EXTRACCION

	PESCADO			HEPP	
	Sin Desgrasar	Desgr con Hexan	Desgr con Eter	Desgr con Hexan	Desgr con Eter
SIERRA					
CON CABEZA	6.857	+	+	+	+
SIN CABEZA	4.568	1.79	1.24	1.03	0.535
SARDINA					
CON CABEZA	25.0416	+	+	+	+
SIN CABEZA	19.7330	2.83	2.56	2.2	1.24

NOTA: Los valores son resultado del  
promedio de 6 evaluaciones

+ = No se realizaron, debido a que se excluyeron  
del estudio

Las condiciones de extracción fueron  
T = 45 °C      t = 30 min

Posteriormente se iniciaron las pruebas de extracción. Siguiendo la metodología descrita en el Capítulo II, haciendo combinaciones con etanol, eter etílico y hexano, se encontró que la combinación que dio mayor grado de extracción fue como se observa en el Cuadro 19, la de : eter etílico y la que le siguió fue la de hexano.

Debido a que el eter es un disolvente más volátil su recuperación se hace menos eficiente, es más flamable, y aunado a su costo elevado: se decidió por el segundo disolvente, que es más económico y fácilmente recuperable.

El grado de extracción obtenido con el hexano nos proporciona un hidrolizado de color claro y de olor ligero , a pescado.

#### **E) Secado.**

El secado final se realizó en charolas ya que no requirió de gran temperatura, además de no ser adecuada para no dañar la proteína. Los disolventes empleados son desecantes lo cual facilito en gran medida el secado final, obteniéndose como resultado una humedad de 2.5 - 3 % de una media de 8 observaciones.

#### **F) Suplementación.**

#### **F1) Pastas alimenticias.**

Una vez elaboradas las pastas se procedió a hacer las pruebas físicas, obteniéndose los resultados reportados en el cuadro 20.

La pasta a la que se le adicionó el 15 % de HEPP tanto de sierra como de sardina, presentó características sensoriales de

CUADRO 20  
PRUEBAS FISICAS DE SOFA

	SIERRA		SARDINA		TESTIGO
	5 %	10 %	5 %	10 %	
t cocimiento (min)	13	14	15	14	12
t desintegracion (min)	26	26	26	26	25
% sedimentacion	0.8	0.5	1.33	1.09	0.2
% de absorcion de agua	66.76	67.84	62.56	64.84	75.4
Densidad de agua g/ml	1.02	1	1.09	1	1

NOTA: Son los resultados promedio de 5 repeticiones

CUADRO 21  
PRUEBAS FISICAS DE PAN

	SIERRA		SARDINA		TESTIGO
	5 %	10 %	5 %	10 %	
% DE VOLUMEN					
ESPONJADO	43	44.6	41.3	42.8	78.5 %
MIGA (COLOR)	Bueno	Bueno	Regular	Malo	Caract.
TEXTURA	Bueno	Regular	Bueno	Regular	Bueno
COLOR	Caract.	Caract.	Regular	Malo	Caract.

NOTA: Son los resultados promedio de 5 repeticiones

color verde opaco y un olor intenso a pescado lo cual hace al producto totalmente desagradable, por lo cual se decidió proseguir solamente con las otras dos formulaciones.

## F2) Pan Blanco.

Los panes se elaboraron con HEPP tanto de sierra como de sardina; los elaborados con sierra presentaron características sensoriales aceptables tanto de olor como de sabor y color, mientras que los hechos con sardina presentaron características sensoriales desagradables en extremo, es decir, un marcado olor y sabor a pescado en ambas suplementaciones, ( 5 y 10 % ), cuadro 21.

Posteriormente se realizaron el análisis bromatológico, tanto para pastas como para pan, obteniéndose los resultados en el cuadro 22.

Los resultados del análisis de varianza a partir de la evaluación sensorial se muestran en los cuadros 23 y 24, de ellos se puede decir que el mejor grado de suplementación, tanto en pan, como para sopa es el de 5 % de HEPP de sierra; con un 10 % no desagrada completamente pero se decidió permanecer en el nivel de suplementación del 5 % para asegurar la aceptación.

Por otro lado, como resultado final después del trabajo experimental, el proceso para la obtención de hidrolizado enzimático obteniendo las características deseables químicas y sensoriales en el producto, es el que se muestra en la Fig. 6.



CUADRO 22

ANALISIS PROXIMAL DE SOPA Y PAN  
(EN PORCENTAJE)

	% CENIZAS	% GRASAS	% PROTEINA
-----			
SOPA			
CON 5% DE SIERRA	0.917	1.0	19.92
CON 10% DE SIERRA	1.126	1.0	21.55
CON 5% DE SARDINA	0.987	1.5	18.76
CON 10% DE SARDINA	1.242	1.5	21.05
TESTIGO	0.3	0.4	12.5
-----			
PAN			
CON 5% DE SIERRA	1.04	1.9	24.80
CON 10% DE SIERRA	1.08	1.9	27.87
CON 5% DE SARDINA	1.84	2.2	22.33
CON 10% DE SARDINA	2.25	2.5	23.38
TESTIGO	0.9	0.2	17.8
-----			

NOTA: Son los resultados promedio de 5 repeticiones

CUADRO 23

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ADICION DE HEPP  
EN PASTAS PARA SOPA

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F exp
TRATAMIENTOS	3	211.9	70.63	65.39 **
REPETICIONES	23	95.5	4.15	3.89 N.S.
ERROR RESIDUAL	69	74.6	1.08	
TOTAL	95	382		

\*\* P &lt; 0.01      N.S. - No significativo

CUADRO 24

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA ADICION DE HEPP  
EN PAN BLANCO

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F exp
TRATAMIENTOS	2	49.04	24.54	18.31 **
REPETICIONES	17	45.26	2.66	1.98 N.S.
ERROR RESIDUAL	34	45.63	1.34	
TOTAL	53	139.93		

\*\* P &lt; 0.01      N.S. - No significativo

PROCESO DE OBTENCION DE HIDROLIZADO ENZIMATICO

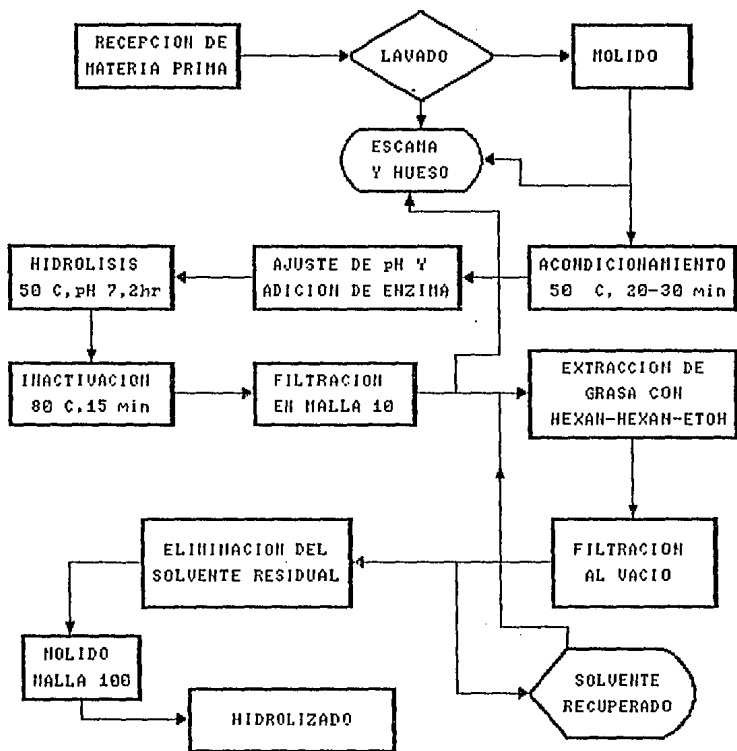


FIG. 6

## CAPITULO IV

### DISCUSION.

#### Materias primas

Durante la preparación y análisis de las especies marinas se vió que el contenido de proteína determinado corresponde con los Cuadernos de Nutrición, (8). Con respecto al análisis microbiológico el resultado de la determinación de cuenta en placa de microorganismos aerobios es menor de 100 000 microorganismos/g de pescado, valor recomendado por el U.S. Health Service (Departamento de Salud de los Estados Unidos) lo que indica que éstas materias primas tienen una calidad microbiológica adecuada para ser procesadas para consumo humano, ( Frazier, W. C.), cuadros 12 y 13.

Como ya se mencionó, el contenido de grasa es un factor muy importante para la aceptación de un producto a base de pescado, y por lo consiguiente, ésta influye en la selección de la especie marina a utilizarse, por lo que se debe tomar en cuenta también la variación del contenido de grasa, así se observa en los cuadros 11 y 12, entre especies y en una misma especie, lo cual depende entre otros, de la época del año y que la mayor cantidad de grasa como lo menciona Murray and Burt, se concentra en la cabeza.

#### Enzimas

Con la finalidad de probar la actividad enzimática se realizó la prueba enzimática sobre un sustrato de caseína, donde se pudo observar que las enzimas comerciales mencionadas anteriormente (HP-Proteolytic 200, neutrasa, alcalasa y corolosa) presentan una

mejor actividad a temperatura elevada. Al analizar cada una de las enzimas mencionadas, en base a los resultados obtenidos, la que presento mayor actividad fué la HT-Proteolytic 200, seguida de la alcalasa; con respecto a la corolosa y neutrasa.

Se observó un comportamiento similar al realizar la 2a. prueba cuando se cambio la concentración del sustrato y se mantuvo constante la temperatura a la cual se obtuvo una mejor acción enzimática. (Cuadros 14 y 15)

### **Influencia del contenido de grasa y de el proceso hidrolítico**

Es de suma importancia analizar como influye la grasa en la obtención del hidrolizado y para tal efecto se decidió experimentar con pescado entero y descabezado, observándose que la hidrólisis se realiza con mayor eficiencia empleando el pescado descabezado, esto puede ser debido a que al tener menor cantidad de grasa en el medio, las enzimas pueden actuar de una manera más adecuada sobre las proteínas, ya que no son liposolubles. Otra razón para el uso del pescado descabezado, es que las características sensoriales fueron más aceptables, y por consecuencia los productos suplementados también, evitando de igual manera la rancidez.

Otro factor que afecta considerablemente el contenido de grasa es la estación del año, es decir, en temporada de frío aumenta la cantidad de grasa en todas las especies como medida de protección, en tal situación se incrementa el costo de obtención del HEPP. Esto debido al mayor número de extracciones que se requieren y al tiempo en que se realiza cada una de ellas.

En base a estudios realizados anteriormente por Ismail P.K. se observó lo siguiente:

La temperatura de extracción afecta las propiedades funcionales del HEFF, ya que a alta temperatura y tiempo prolongado los aminoácidos y péptidos sufren rupturas.\* Una temperatura adecuada es a 20 - 30 °C, pero se requiere de 5 extracciones durante 50 - 60 min cada una, obteniéndose un 10 % de lípidos residuales; sin embargo, Yañes y Ballesteros, encontraron que a una temperatura de 40 - 50 °C, se requiere de 2 - 3 extracciones durante 30 - 40 min cada una, y así el porcentaje de lípidos residuales es del 0.5 % aproximadamente.

De acuerdo a las características requeridas en el producto final fue preferible realizarlo a una temperatura entre 40 - 45 °C durante 35 min, además de esta forma se redujo tiempo y costo. La extracción realizada con alcohol, fundamentalmente se utilizó como desecante.

Durante el desarrollo del proceso se hicieron pruebas de hidrólisis hasta de 5 h, y se pudo observar que el grado de hidrólisis sufría un cambio significativo hasta las 3 h, posteriormente, el valor de nitrógeno determinado no presentó variación considerable. Resultados semejantes fueron obtenidos en estudios anteriores por Galvez, Morales y Bourges. Sin embargo, si se intenta tener un mayor grado de hidrólisis pueden presentarse problemas de contaminación microbiana, debido a las condiciones de temperatura constante y un pH neutro, que en un tiempo prolongado proporcionan condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos.

Así mismo, pueden llegar a surgir algunos péptidos de cadena corta, de igual manera algunos aminoácidos libres, los cuales pueden originar un sabor desagradable ( amargo ) al hidrolizado, lo cual sería reflejado en los productos elaborados a base de éste. Aunado a los problemas anteriores, existe el del costo, que

a mayor tiempo de hidrólisis, mayor será también el costo del proceso.

Después de analizar las observaciones anteriores, podemos concluir que la especie magra es la que proporciona mejores resultados para la obtención del HEPP; así lo revelan los datos de los cuadros 16 y 17, donde se utilizó pescado con cabeza (entero) y descabezado (picado), obteniéndose así las condiciones óptimas para el proceso.

Por otro lado, el proceso de obtención fue modificándose conforme se efectuaban las pruebas de hidrólisis; al inicio las condiciones se ajustaban y posteriormente se comenzaba el calentamiento, fue observable que la hidrólisis se realizaba mejor si se hacía un calentamiento previo a la acción de la enzima, siendo éste de 40 - 45 min, a 50 °C, así se facilita la hidrólisis, ya que cuando se adiciona la enzima, el medio se encuentra ya en condiciones óptimas para la acción de ésta, obteniéndose porcentajes de hidrólisis aun mayores, ( Fig. 5 ). Este es un paso fundamental en el proceso.

Otro punto de importancia fue el ver que haciendo el molido del pescado hasta pequeños trozos de 3 - 5 mm favorecía de igual manera la hidrólisis, además de que también permitía la eliminación del hueso antes de llevarse a cabo ésta.

Con respecto a la selección de la enzima, la HT-Proteolytic 200 proporciona mejores resultados de hidrólisis, lo cual puede observarse al determinar mayor cantidad de Nitrógeno total y Nitrógeno soluble ( $N_2T$  y  $N_2S$  respectivamente) en el hidrolizado obtenido, que es como se observa en los resultados finales en el cuadro 19, donde se usaron las 4 enzimas estudiadas; se encuentra que con alcalasa el mayor porcentaje de hidrólisis se

obtiene en la muestra de sardina con cabeza, lo cual no es conveniente por el alto contenido de grasa en esta especie, viéndose reflejado su sabor en el producto final. Además de que este porcentaje es menor aún que el obtenido con HT - Proteolytic 200.

Se presentó un mayor porcentaje de hidrólisis sobre sierra sin cabeza con la neutrasa, corolasa y HT-Proteolytic 200, una segunda observación se presentó en la sardina con cabeza ya que se efectuó una mayor hidrólisis en relación con la misma especie sin cabeza.

Es inconfundible que con HT - Proteolytic 200 se obtienen los porcentajes de hidrólisis más altos y sus características neutras facilitan su trabajo.

Se pudo observar durante el desarrollo del experimento que obteniendo HEPP con sierra sin cabeza las características sensoriales de color y olor son las más favorables para su uso en los producto a elaborar. En los casos con sardina el producto presenta color amarillo oscuro o verde oscuro, y el sabor resulta amargo.

Volviendo a la HT - Proteolytic 200, a pesar de que la cantidad empleada es aproximadamente 200 veces más grande que la corolasa, y ésta proporciona un grado de hidrólisis no muy diverso a la primera, y haciendo una comparación de costos, la HT-Proteolytic 200 es más económica que el resto de las enzimas estudiadas.

Estos resultados también son favorables para poder hacer una extrapolación hacia el uso de materia no utilizada por otros



procesos, tal es el caso de la industria congeladora y enlatadora, ya que especies como los túnidos, tiburón y cazón que se destinan a dichos fines, durante su procesamiento sólo el 75 % para los túnidos y el 25 % para tiburón y cazón son aprovechados, y el resto se puede considerar desperdicio para tales industrias, por tal motivo este estudio presenta una alternativa para la utilización de estos desperdicios, realizando una buena selección de la parte proteica para así obtener resultados satisfactorios.

### Suplementación

Tanto los productos de macarrón como el pan han sobrevivido al paso del tiempo, y permanecen siendo de los alimentos más populares en la sociedad moderna, por esta razón, han sido seleccionados como vía para proporcionar un mayor aporte nutricional a los grupos vulnerables y de menos recursos económicos. Por otro lado, son productos de bajo costo en relación con la carne, aun suplementados, lo cual hace accesible su compra en el mercado.

Aunado a lo anterior, las proteínas del trigo contienen los aminoácidos esenciales, así pues 700 g de pasta con 12 % de proteína, podrían suministrar los requerimientos diarios de proteína para un hombre adulto; sin embargo, esta proteína no tiene un balance de aminoácidos adecuado y es especialmente bajo en lisina. Para mejorar el balance pueden agregarse ingredientes especiales que compensen dicha carencia, y para ello se puede adicionar el HEPP.

Se hace mucho énfasis, en la extracción de grasa del hidrolizado, ya que los productos seleccionados para el estudio,

como ya se mencionó, son de consumo tradicional y por lo tanto con un sabor característico para los consumidores, quienes al saber que es un producto enriquecido, y especialmente si es pescado, serán más delicados a su aceptación sensorial y características físicas.

Debe cuidarse que las características físicas de los productos no se alteren, por ejemplo el consumidor se puede hacer más exigente al saber que lo que prepara es una sopa suplementada; dentro de los parámetros más importantes para calificar este producto se consideran el tiempo de desintegración y el tiempo de cocido; si el tiempo de desintegración es muy corto la pasta se puede hacer pastosa y su aspecto disgustará provocando su rechazo, igualmente si no absorbe la cantidad de agua adecuada o el tiempo de cocido no es el idóneo.

Lo mismo sucede con el pan, el color de la costra debe ser muy semejante al pan consumido cotidianamente, al igual que el color de la miga, el tiempo vida de anaquel no debe ser menor al normal considerando su frescura (de manera natural sin aditivos), la suavidad que presenta no se debe alterar de manera significativa, lo cual está en función del esponjamiento.

Para poder obtener un producto lo más semejante a los comerciales, no solo nos debemos basar en las pruebas de laboratorio, sino que debemos complementarlas con las pruebas sensoriales para así obtener un producto de calidad y además con buenas características organolépticas.

Utilizando un cuestionario de Aceptación (Escala Hedónica) y otro de Preferencia (Ordenamiento) se obtuvieron los siguientes resultados en los que se pudo observar que los productos con

sardina no son aceptados, aun con la menor suplementación de 5 %. Y por el contrario, con los que contienen sierra, hubo panelistas que no diferenciaron estos del control, en el caso de 5 % de suplementación.

Los panelistas fueron seleccionados al azar para la realización de esta prueba y no fueron entrenados, esto fue con el fin de tener consumidores simulados.

A partir de los resultados así obtenidos se puede decir que el mejor nivel de suplementación es el de 5 % de HEPP de sierra, alcanzando una calificación de gusta; sin embargo con un 10 % de éste mismo la calificación es intermedia entre ni gusta ni disgusta a gusta ligeramente.

Las propiedades físicas, como son tiempos de cocimiento y de desintegración no se ven afectados en ninguno de los dos casos, así como tampoco la cantidad de residuo es alta, es decir, que no pierde una cantidad considerable de la proteína adicionada; lo anterior es para la sopa. En el caso del pan las características físicas y funcionales fueron aceptadas sin inconveniente alguno.

Pero para asegurar la aceptación en las pastas es recomendable utilizar un nivel de suplementación de 5 % de HEPP de sierra, descartando por completo la suplementación con sardina, ya que los productos obtenidos con este último hidrolizado presentan un color más oscuro del que comúnmente presentan las pastas alimenticias comunes y olor a pescado, que no se logró eliminar por completo del hidrolizado, por la alta cantidad de grasa de la especie. Las muestras de pan ya no fueron incluidas en el panel de evaluación sensorial, la respuesta del consumidor sería indudablemente de rechazo, al igual como sucedió con las sopas.

En el análisis de varianza se observa que sí hay diferencia de resultados entre las cuatro formulaciones por parte de los panelistas y la detectan tanto en la sopa como en el pan; entre los jueces también hay diferencias de resultados en la prueba realizada para la sopa, esto es de esperarse ya que no son jueces entrenados. Pero de acuerdo a la prueba de ordenación se vió que preferían los productos suplementados con un 5 % de sierra.

En el caso del pan, el problema es mayor, ya que al ser de consumo común y tradicionalista, con un ligero cambio en su aspecto o sabor podría provocar rechazo, especialmente si este cambio es provocado por un sabor a pescado, ya que la mayoría de la población mexicana no es muy afecta al consumo del mismo; cabe notar que en los estados litorales del país donde sí es frecuente el consumo de pescado, un ligero sabor a éste no sería tan desagradable. Pero es importante destacar que en dichos estados no se presenta tan marcadamente el problema de deficiencia proteínica como en el resto del país; en este último en el que el consumo de pescado fresco no es muy común, por diversas razones, un producto suplementado con HEPP sería más difícil que fuese aceptado, por lo mismo se debe cuidar estrictamente el contenido de grasa del hidrolizado para que no afecte sensorialmente al producto.

Estos productos pueden llevarse así en primer lugar a sitios norcentricos del país, tal es el caso de Chihuahua, Sonora, Nuevo Leon y Zacatecas, donde el pescado que más se consume es sardina enlatada; debido a que el traslado de pescado en fresco es difícil realizarlo por las deficiencias de transporte que se tienen.

En segundo lugar a la población infantil, los ancianos y

mujeres embarazadas, ya que son los grupos vulnerables; además en este segmento los consumen muy cotidianamente.

El hidrolizado de pescado es un alimento altamente proteínico, el cual proporciona beneficios nutricionales, ya que años atrás en estudios hechos de PER por Ismail P.K. ( Relación de Eficiencia Protéica ), ( 18 ) y crecimiento se observó que con una suplementación del 10 % de hidrolizado en harina de trigo, el PER aumento de 0.66 ( con dieta basal ) a 2.49, que es un 267.24 % de incremento. Y con respecto al crecimiento, con el mismo grado de suplementación las ratas aumentaron de peso de 16.9 g ( con dieta basal ) hasta 111.2 g que es un 558 % de mejora.

Por lo anterior, se puede decir que estas vías alternas parecen buenas opciones para suministrar el pescado a la dieta del mexicano y pueden aplicarse en diversos campos, tal es el caso del médico, en hospitales, centros de rehabilitación, programas pediátricos, niños y mujeres embarazadas; en el ramo infantil, en orfanatorios, programas de alimentación como los efectuados por el DIF; y de igual manera en programas encaminados a personas de edad avanzada.

Una vez obtenido el HEPP, éste puede ser utilizado en distintos productos, aquellos que permitan su incorporación, teniendo en cuenta que no deben alterarse las características físicas ni sensoriales del producto a tal grado que ocasionen rechazo por parte del consumidor.

## Recomendaciones

En base a lo anterior se observa que sería interesante realizar formulaciones con concentraciones intermedias para asegurar que el 5 % de suplementación es la que presenta mejores características sensoriales. Además de hacer otros productos, como galletas, pan dulce, etc.

Un tema más a desarrollar partiendo de este estudio es la extrapolación del proceso a escala en planta piloto. Fudiendo emplear otros equipos, como son un secado por aspersion, una deshuesadora donde se obtenga la pulpa de carne.

Con respecto a la grasa, se puede realizar un proceso para su recuperación más eficiente, tanto de los disolventes empleados como de la grasa. Los disolventes pueden incorporarse nuevamente al proceso dependiendo de que tanto se purifiquen.

La grasa extraída puede ser empleada en otros procesos industriales tales como en la elaboración de barnices, pinturas y lubricantes.

## CONCLUSIONES.

1. Para obtener un HEPP con características físicas y sensoriales aceptables para su consumo humano se estudiaron las especies sardina y sierra, estableciéndose finalmente las condiciones experimentales de proceso que a continuación se mencionan:

Concentración: 0.5 % de HT-Proteolytic 200.

pH: 7

Temperatura: 50 °C

Tiempo: 2 h.

2. El HEPP obtenido con sierra, presenta sensorialmente un color amarillo pálido y aroma muy ligero a pescado, antes de cocinarce, el cual desaparece después de esto, pero las características del HEPP de sardina presentaron color verde claro y olor a pescado, lo que hace que éste último no sea aceptable para su uso en productos alimenticios suplementados.
3. El HEPP de sierra es el más adecuado para la suplementación de productos alimenticios, ya que no afecta los atributos físicos y sensoriales a una concentración del 5 al 10 % en peso de producto (formulación).
4. Microbiológicamente tanto el HEPP como los productos elaborados son aceptables, mientras que por medio del análisis bromatológico se muestra que sí hay un incremento protéico, con respecto al determinado para el testigo.

5. Con la concentración de suplementación establecida, los análisis sensoriales muestran que los productos de trigo manejados en la presente investigación (sopa de pasta y pan blanco), son aceptables, ya que no hubo diferencia significativa entre los productos experimentales y los testigos.



## APENDICE 1

### TECNICAS

#### "Determinación de la Actividad Proteolítica de Enzimas"

Las enzimas utilizadas son comerciales:

	[ g/100g ]	Temp [°C ]	pH
Alcalasa	0.4.	60 - 65	8 - 8.5
Corolasa	0.02	50	7
HT-Protelytic 200	0.5	50	7
Neutrasa	0.2	45 - 50	6 - 6.5

#### Fundamento.

Consiste en medir el tiempo necesario para que una cantidad conocida de una solución enzimática, coagule una cantidad de leche bajo condiciones constantes.

#### Procedimiento.

El sustrato se prepara de la siguiente manera: 11 g de leche en polvo descremada ( sin especificación de características especiales ) se disuelven y aforan a 100 ml en solución reguladora de acetatos pH 5, 0.2 M, conteniendo 1 mg de NaCl/ml de solución.

Se toma 1 ml de solución enzimática y se añade a 5 ml de leche, contenidos en tubos de ensayo y se colocan a temperatura constante, ( la que se quiera medir, cuidando de no afectar considerablemente a la caseína ), y se mide el tiempo inicial al

añadir la enzima y se agita el tubo frecuentemente, hasta observar caseína precipitada en las paredes.

Se realizaron soluciones de cada enzima con su concentración óptima, y de ellas se tomo distinta alícuota para la prueba.

### "Determinación del Porcentaje de Hidrólisis"

#### Hidrólisis

Se colocan 50 g de pescado en 50 ml de agua, se ajusta a la temperatura óptima, se añade la cantidad de enzima adecuada, se ajusta el pH (con NaCl y HCl). Se mantienen las condiciones durante 1.5 h con agitación.

#### "Determinación de $\text{N}_2\text{S}$ "

Se toma 1 ml del hidrolizado, se realiza una dilución 1:100 con agua destilada; se adiciona 8 ml de agua destilada a 2 ml de la dilución, y de esta última se toma 1 ml para realizar la lectura.

#### "Determinación de $\text{N}_2\text{T}$ "

Se toman 10 ml del hidrolizado, se hace una digestión Kjeldhal, una vez terminada se añade 400 ml de agua destilada, se toman 2 ml de esta dilución y se le añade 8 ml de NaOH 2N para neutralizar el medio y finalmente se toma 1 ml para hacer la lectura.

### "Digestión Kjeldahl"

A la muestra de hidrolizado o pescado en un matraz kjeldahl se le adiciona la mezcla digestora, compuesta por: 200 g de  $K_2SO_4$  y 20 g de  $CuSO_4$ . Se colocan piedras de ebullición y se añade 25 ml de  $H_2SO_4$  conc. Se digiere durante 3-4 h.

### Lectura para la determinación de $N_2S$ y $N_2T$

Se emplean dos soluciones:

- 1) Fosfonitroprusiato .- Se disuelven 5 g de fenol y 25 mg de nitroprusiato en 500 ml de agua destilada. Se ajusta a pH 10.
- 2) Hipoclorito .- Se disuelve 2.5 g de NaOH en 4.2 ml de NaOCl y 500 ml de agua destilada.

Se toma la alícuota de 1 ml del hidrolizado y 1 ml de la digestión Kjeldahl para hacer la lectura, se le adiciona 5 ml de la solución 1) y 5 ml de la 2). Se deja reposar 30 min a temperatura ambiente.

Se determina la absorbancia a 625 nm en un espectrofotómetro, empleándose un blanco de agua destilada.

### Curva Estandar de Sulfato de Amonio.

Se pesan 0.3883 g de  $(NH_4)_2SO_4$  y se aforan a 1 lt; se toma una alícuota y se hace una dilución 1:10 (la cual tendrá 10 mg de  $NH_4$ /lt) con esta solución se hace la curva estandar.

$$\text{Porcentaje de Hidrólisis} = \frac{N_2S}{N_2T} * 100$$

## "Determinación de Grasa por Hidrólisis Ácida"

### Procedimiento

- 1.- En un vaso de 50 ml pesar 2 g de muestra.
- 2.- Adicionar 2 ml de alcohol, para humedecer la muestra.
- 3.- Adicionar 3 ml de HCl (25 + 11) y mezclar bien.
- 4.- Colocar en un baño de agua a 70-80 °C, ( 343-353 °K), durante 30 min y agitar en intervalos de 5 min.
- 5.- Adicionar 10 ml de alcohol y enfriar. Se transfiere a una ampolleta Mojonnier.
- 6.- Lavar con 25 ml de éter etílico, agregar en 3 porciones y agitar 1 min.
- 7.- Adicionar 25 ml de éter de petróleo y agitar 1 min.
- 8.- Dejar en reposo o centrifugar 20 min a 600 rpm hasta separación de capas. Decantar la solución clara de éter sobre el filtro conteniendo algodón, recibiendo en el mismo vaso.
- 9.- Decantar la capa éter-grasa y filtrar en un embudo con un tapón de algodón empacado de tal forma que deje pasar libremente el éter y recibir en un vaso de 125 ml que este seco y pesado conteniendo cuerpos de ebullición..
- 10.- Re-extraer el líquido sobrante dos veces, usando 15 ml de cada éter, agitando vigorosamente después de la adición de cada éter.
- 11.- Lavar el extremo del frasco, el embudo y la cola de este con varios ml de una mezcla de volúmenes iguales de los dos éteres.
- 12.- Sacar el vaso de la estufa y dejar estandarizar en el aire hasta peso constante. Aproximadamente 30 min y pesar. Debido al tamaño del vaso y naturaleza del

material, el error es menor enfriando al aire que por enfriamiento en desecador.

- 13.- Secar el vaso en estufa de vacío por 90 min a 100 °C, ( 373 °K). Pesar los recipientes de operación tan rápido como sea posible cuando alcancen la temperatura del medio ambiente.
- 14.- Si el éter no es libre de residuos, correr una determinación en blanco por cada lote de éter para obtener resultados correctos.

$$\% \text{ de grasa} = \frac{\text{Peso del vaso con grasa} - \text{Peso del vaso vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

#### "Determinación de Pruebas Físicas a Pastas Para Sopa"

##### 1.- Tiempo de cocimiento:

Se coloca una cantidad conocida de pasta en un volúmen de agua tres veces mayor al volúmen que presenta la pasta una vez cortada en trozos.

Se calienta hasta que este suave. El tiempo se toma desde que empieza a hervir hasta que este cocida la pasta.

##### 2.- Tiempo de desintegración:

Después de su cocimiento se sigue calentando y se toma el tiempo desde que comienza a hervir hasta que la pasta se desintegra.

##### 3.- Densidad del agua:

El agua empleada para su cocimiento se pesa lo más exactamente midiendo su volumen, posteriormente al cocido se determina de igual manera su densidad.

#### 4.- Absorción de agua:

La pasta se pesa al inicio; después del cocimiento se elimina el exceso de agua y se vuelve a pesar. La absorción se calcula por diferencia de pesos y se reporta en porcentaje.

#### 5.- Porciento de sedimentación:

Ya cocida la pasta, se separa la pasta entera. Por filtración se aparta el sedimento ( por desintegración ) y se reporta éste en % en base al peso de la pasta cocida.

### "Determinación de Pruebas Físicas a Pan"

#### 1.- Volúmen:

Se marca la altura de la masa antes de someterla a su horneado y posterior a éste. Se calcula por diferencia el porcentaje de volúmen incrementado.

## "Métodos Microbiológicos"

### Método para Cuenta Total

*Medio de cultivo - Agar nutritivo.*

*Metodología:*

1. Agregar 11 g de muestra a 99 ml de solución Ringer; y de ahí hacer las diluciones necesarias.
2. Inocular 1 ml de cada dilución a una caja Petri y añadir de 10 a 15 ml de medio estéril.
3. Agitar las cajas en sentido circular de forma que se obtenga una mezcla homogénea.
4. Se deja solidificar el medio e incubar las cajas invertidas por 48 h a 37 °C.
5. Leer las placas, preferentemente las que tienen de 50 a 300 colonias.

### Método para Coliformes

*Medio de cultivo - Agar bilis rojo violeta.*

*Metodología:*

1. Agregar 11 g de muestra a 99 ml de solución Ringer; y de ahí hacer las diluciones necesarias.
2. Inocular 1 ml de cada dilución a una caja Petri y añadir de 10 a 15 ml de medio estéril.
3. Agitar las cajas en sentido circular de forma que se obtenga una mezcla homogénea.
4. Se deja solidificar el medio e incubar las cajas invertidas por 48 h a 37 °C.
5. Leer las placas; las colonias típicas no son superficiales y presentan una coloración roja intensa.

El medio se esteriliza por 15 min a 121 °C.

Se considera el factor de dilución al leer las placas, y se reporta como colonias/g.



## APENDICE 2

### FORMULACIONES

#### SUPLEMENTACION EN SOPA

Las pastas para sopa fueron preparadas utilizando la siguiente formulación:

-Harina de trigo	95 %, 90 % y 85 %
-Colorante artificial	0.01 %
-Agua	30 - 35 ml.
-HEPP	5 %, 10 % y 15 %

Fueron elaboradas así tres pastas de prueba y un control.

#### Método.

Una vez pesados los ingredientes se colocan en un recipiente excepto el agua, la cual se añade poco a poco; se mezclan hasta que el color y la textura de la masa sean homogéneas, teniendo cuidado de que la masa no se reseque demasiado.

Posteriormente la masa es pasada por una laminadora para pasta (Apéndice 3). La masa se hace pasar en ésta por los diferentes grosores de laminación que presenta, de manera decreciente, esto es con el fin de obtener la laminación con la apertura más pequeña, ( lamina de la masa de 1 mm de grosor ) enseguida se hacen los cortes en forma de tallarines delgados con ayuda de la misma maquina. El secado se realizó a temperatura ambiente, debido a falta del equipo adecuado para mantener las condiciones adecuadas del proceso.

## SUPLEMENTACION EN PAN

Este producto se preparó empleando la fórmula descrita a continuación:

-HEPP	10 % y 5 %
-Harina de trigo	72 % y 77 %
-Grasa vegetal	8 %
-Levadura	3 %
-Azúcar	6 %
-Sal	1 %
-Agua	La necesaria para formar la masa

### Método

Todos los ingredientes se colocan en un recipiente y se mezclan perfectamente, el agua se adiciona lentamente.

La levadura se adiciona a los demás ingredientes en suspensión, la cual se prepara al 12 % previamente.

La masa formada se deposita en un molde engrasado, marcando previamente la altura de la masa y se coloca en un gabinete de fermentación a 30 °C con una humedad relativa de 75 %.

Se amasa nuevamente a los 105 min y a los 150 min, finalmente se moldea a los 180 min totales de fermentación.

Se mide el volumen final de la masa fermentada y se hornea a 230 °C. Esta medición es un indicador de cuanto pueden afectar las proteínas del HEPP a las proteínas del trigo (gliadina y glutenina), ya que éstas proporcionan la flexibilidad y elasticidad necesarias para un buen esponjamiento.

Para las pruebas sensoriales se emplearon las siguientes formas:

EVALUACION SENSORIAL

TIPO: PREFERENCIA

PRUEBA: ORDENAMIENTO

PRODUCTO: \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

PANELISTA: \_\_\_\_\_

INSTRUCCIONES

Sírvase degustar las muestras. Ordénelas según su preferencia, colocando en el primer lugar la que más le agrade, y en el último lugar la que menos le agrade.

ORDEN DE PREFERENCIA

CODIGO

PRIMERO

\_\_\_\_\_

SEGUNDO

\_\_\_\_\_

TERCERO

\_\_\_\_\_

CUARTO

\_\_\_\_\_

COMENTARIOS:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

G R A C I A S

## EVALUACION SENSORIAL

TIPO: ACEPTACION

PRUEBA: ESCALA HEDONICA

PRODUCTO: \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

PANELISTA: \_\_\_\_\_

### INSTRUCCIONES

Evalúe las muestras que le han sido proporcionadas e indique su actitud marcando una X en el juicio que considere apropiado. Tome agua antes de probar cada muestra.

ESCALA	MUESTRAS
Extremadamente aceptable	( ) ( ) ( ) ( )
Moderadamente aceptable	( ) ( ) ( ) ( )
Ligeramente aceptable	( ) ( ) ( ) ( )
Indiferente	( ) ( ) ( ) ( )
Ligeramente inaceptable	( ) ( ) ( ) ( )
Moderadamente inaceptable	( ) ( ) ( ) ( )
Extremadamente inaceptable	( ) ( ) ( ) ( )

COMENTARIOS:

---



---



---

G R A C I A S

APENDICE 3

EQUIPO

Termobalanza	COMPU-TRAC MOD. MA-5 SERIAL No. 454 COMPU-TRAC INC.
Molino	HOBART MOD. 4B12D SERIE No. 4975      FASE 1 RPM 1450 HOBART IND. BRASILEIRA
Centrifuga	SIEMENS-SCHUCKERT D-MOT 0251B-4 U/MIN 1415
Pulverizadora	MIKRO-PULVERIZER SERIAL No. 82J5007      TYPE CF RPM 14 000 PULVERIZER MACHINERY DIVISION OF Mikro Pul Corp USA
Estufa al Vacío	VACUUM OVEN MOD. 10 SERIAL No. 134M/8 Precision Scientific Group Chicago, Illinois USA

Laminadora IMPERIA  
) TIPO LUS80 SP150  
IMPERIA Italy-Torino

Tamices Mont-Inox:

No. 100 - Apertura 0.149 mm  
0.0059 in

No. 80 - Apertura 0.17 mm  
0.007 in

No. 50 - Apertura 0.29 mm  
0.017 in

No. 30 - Apertura 0.59 mm  
0.023 in

## BIBLIOGRAFIA

1. Badui, D. S. Química de los alimentos. México; Ed. Alhambra mexicana; 1986.
2. Bourgues, H. R. y Morales, J. de L. El pescado y su aporte a la dieta. Cuadernos de Nutrición. México; 1986; V.9, No.5.
3. Carmona, D. C. R. Estudio de hidrolizados proteínicos con aplicaciones en alimentos. Tesis. 1986.
4. Cereceda, B.S. Estudio sobre preparaciones culinarias enriquecidas con harina de pescado. Tesis para obtener el título de Alimentación y educación para el hogar. Universidad de Chile, 1957.
5. Comercio Exterior. Aspectos socioeconómicos de los alimentos y la alimentación en México; 21/675; 1971.
6. Consejo Consultivo del Programa Nacional de Solidaridad. La alimentación en tiempos de crisis. Cuadernos de Nutrición. 1991; V.14, No.1.
7. COFLAMAR. Necesidades esenciales de México. Alimentación. 1990; Tomo IV. Ed. Siglo XXI.
8. Cuadernos de Nutrición. El programa nacional de alimentación. C. de Nutrición; 1991; V.14, No.1.

9. Desrosier, W. N. Elementos de tecnología de alimentos. Ed. C.E.C.S.A.; Sexta edición. Marzo, 1989.
10. F.A.O. Encuesta alimentaria mundial; Roma; 1987.
11. F.A.O. Estadística pesquera, capturas y desembarques; F.A.O. V.64.; 1987.
12. Fennema, O. R. Food Chemistry; 2nd Ed.; Ed. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1976.
13. Frazier, W. C. Microbiología de los alimentos.; España; Ed. Acribia; 1972.
14. Harol, E., Ronald S. K. y Ronald S. Análisis Químico de Alimentos de Pearson; Ed. C.E.C.S.A.; 3<sup>ra</sup> edición; 1988.
15. Gálvez, M.A; Morales, J and Bourges H. Development of an enzymatic fish hydrolysate and its use in instant soup bases. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 35:686, 1985.
16. Hindi, M.J; Douri, S.K. Processing of fish protein concentrate from *Heteropneustes fossilis*. Iraqi Journal of Agricultural Sciences (suppl) 31-39, 1987.
17. I.N.N. Valor nutricional de los alimentos mexicanos. Tablas de uso práctico. 1977.
18. Ismail P.K., Madharan P. and Pillal V. K. Studies on the preparation of fish protein concentrate. Fishery Technology V.5 No.1 1968.



19. Mai, J. and Kinsella, J.E. Lipid composition of dark and white muscle from white sucker. *Journal of Food Science*. V.44 1979.
20. Martínez, F. G. Obtención de un hidrolizado de proteína de pescado a partir de Lisa y determinación de su valor nutricional. Tesis. Fac. Química U.N.A.M, 1989.
21. Morales, J. de L. y Colón, M. de la L. H. Toxicidad natural, parásitos y microorganismos. *Cuadernos de Nutrición*. V.9, No.6, 1986.
22. Murray, J. and Burt, J. R. The composition of fish. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. May, 1979.
23. Official Methods of Analysis. Association of official agricultural chemistry, (A.O.A.C.) 14th Ed. Washington, D.C, 1984.
24. Robinson, C. H. Fundamentos de nutrición normal. Compañía editorial continental, pp.467-468. 1979.
25. Rocha, N. V. H. Introducción a la tecnología de productos pequeros. México. Ed. C.E.C.S.A. 1986.
26. Secretaría de Pesca. México, D.F.; Anuario Estadístico de Pesca. 1986, 1987 y 1988.
27. Secretaría de Pesca. Indicadores de la producción pesquera. México, D.F.; Dirección de informática y registros pesqueros; Enero - Diciembre, 1989, 1990, 1991.

28. Secretaria de Pesca. Primer Foro de consulta pública sobre abasto y distribución de alimentos. Dirección de informática y registro pesqueros. México, D.F. 31 de agosto de 1990.
29. Secretaría de Salud. Boletín de Información sobre Cólera en Sudamérica. México, D.F., Dirección General de Epidemiología. 22-Abril-1991.
30. Shewan, J. M. The microbiology of Sea-Water Fish.; Ed. McGraw Hill Book Co.; New York; 1964.
31. Varela, M. G. Valores nutricionales de la sardina. La sardina un tesoro de nuestra mar. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. España.
32. Weatherburn, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Anal. Chem. 39:971, 1967.
33. Whitaker, J.R. Principles of enzymology for the food sciences. Ed. Marcel Dekker, New York, 1972.
34. Winkler, C. A study of taster acceptability of selected corn products supplemented with fish flour. Tesis no publicada. Drexel University, Philadelphia 1961.
35. Yañes, E., Ballester D. y Gattas V. Suplementación de cereales con levadura (*Candida utilis*) ó hidrolizado enzimático de pescado. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Chile, 1973.

36. JJ. Connell, Ph D, y R. Hardy. Avances en tecnologia de los productos pesqueros; España; Ed. Acribia; 1987.
37. JJ Connell. Trends in fish utilization; England; Ed. Fishing new books ltd. 1987