



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Elaboración de tempeh de soya adicionado con maíz blanco.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

MORALES VILLANUEVA MARIANA SARAHÍ

RODRÍGUEZ RUIZ JIMENA

ASESORAS:

Dra. Guicela Ramírez Bernal

IBQ. Leticia Figueroa Villarreal

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO 2017



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Elaboración de tempheh de soya adicionado con maíz blanco.

DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

Que presenta la pasante: **Mariana Sarahi Morales Villanueva**
Con número de cuenta: **308693223** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de Febrero de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. Guicela Ramírez Bernal	
1er. SUPLENTE	L.A. Ma. del Consuelo Molina Arciniega	
2do. SUPLENTE	M. en C. Enrique Fuentes Prado	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Elaboración de tempheh de soya adicionado con maíz blanco.

Que presenta la pasante: Jimena Rodríguez Ruiz

Con número de cuenta: 307719342 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de Febrero de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. Guicela Ramírez Bernal	
1er. SUPLENTE	L.A. Ma. del Consuelo Molina Arciniega	
2do. SUPLENTE	M. en C. Enrique Fuentes Prado	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS MARIANA

- ♥ A DIOS: Querido Dios, quiero agradecerte por todo lo que has hecho por mí y que continúas bendiciéndome día con día, gracias por los padres tan maravillosos, por los amigos tan divertidos que me mandaste, gracias por mandarme un hermanito, gracias porque tengo a mis abuelitos, gracias por mis primos y primas que a diario me preguntan: ¿Cómo va la tesis?, gracias por haberme puesto en el camino a Guis que ha sido como un ángel de la guarda, gracias por mandarme a Jorgito que me cuida y me protege siempre, gracias por los momentos difíciles porque me han vuelto más fuerte y sobre todo gracias por permitirme llegar hasta aquí con toda la gente que amo, gracias por ayudarme a cumplir este sueño y anhelo. ¡Gracias, querido Diosito por haberme dado la vida!
- ♥ Mamá: No me va a alcanzar la hoja para agradecerte todo lo que haces por mí, eres mi asesora de vida, mi gran amor, mi mejor amiga y mi adoración, gracias por tu amor, por tu paciencia, por tu comprensión; no existe una madre más buena que la mía, gracias por ser mi eterna luz de vida. No te imaginas lo afortunada que me siento por tenerte a mi lado y poder compartir este momento contigo. Te amo, mi Marigel.
- ♥ Papá: Eres el gran motor de mi vida, gracias por ser la maravillosa persona que eres y por los valores que me inculcaste, gracias por enseñarme a trazarme metas y a perseguirlas, te dedico este triunfo porque si no hubiera sido por tus consejos, regaños y apoyo no hubiera llegado hasta aquí, te amo infinitamente, Gordito.
- ♥ Hermanito: Mi persona favorita del mundo mundial, mi gran guerrero, el hombre más inteligente que existe, mi compañerito de vida, de videojuegos y de travesuras, mi monito, gracias por quererme y apoyarte tanto, te amo.!.
- ♥ Abuelito Juan, Abuelito Pepe, Abuelita Angelita y Abuelita Mago: Gracias por ser los abuelitos más apapachadores y gracias por darme tanto y tanto amor.

♥ Dra. Guis: Gracias por brindarme tu experiencia por escucharme y aconsejarme en este proyecto, tienes las palabras justas para todo, sabes que decir y que hacer en una situación complicada, a pesar de mis equivocaciones siempre me escuchaste y diste todo tu apoyo.

♥ Profesora Lety: Gracias por sus consejos, por su guía y por tanto conocimiento, gracias por compartirlo conmigo.

♥ A mis sinodales Saturnino, Consuelo, Caro y Enrique: gracias por sus valiosas observaciones y consejos.

♥ Bolo, Brenda, Jimena, Karen, Yatz, Lupillo, Prisko, Claumono y Del: Gracias por sus buenos consejos, por ayudarme, por siempre estar ahí para mí y sobre todo gracias por ser los amigos más divertidos que existen.

♥ Jorge: Gracias por cuidarme y protegerme siempre, gracias por haber llegado a mi vida y ser parte importante de este proyecto. Eres el hombre más bueno y noble de conozco.

Los amo infinitamente, Mariana.

AGRADECIMIENTOS JIMENA

Ha sido difícil llegar a este día, pasaron muchas cosas en el camino, cosas muy buenas como el nacimiento de Fridita, el compromiso de mi hermana, la independencia de mi familia, mi primer empleo, pero también pasaron cosas muy dolorosas, como el fallecimiento de mis amados abuelitos, que sé que hoy estarían muy orgullosos de mí, a ellos les dedico este logro, a ellos y a mi familia que no han dejado de apoyarme y consentirme cada día, gracias mamá por hacerme cada mañana mi desayuno, gracias papá por llevarme todos los días a la escuela y al trabajo, y gracias Dany por qué sé que siempre puedo contar contigo, aunque digamos lo contrarios siempre nos tendremos una a la otra y gracias a toda mi familia por ser tan especiales, por apoyarme, aconsejarme y cuidarme, gracias a todas mis tías que las amo, a mis primos que adoro, a mis tíos y a mis sobrinos. Y por supuesto gracias al mejor compañero de la vida, a mi amor, Héctor no tengo palabras para agradecerte todo lo que haces por mí, gracias por ser mi apoyo y mi motivación, te amo mi corazón, también gracias a tu familia por aceptarme y consentirme con mis alitas y mi salsa Valentina.

Muchas gracias a mis amigos "Los puercos" jeje por estos años de universidad que fueron difíciles pero también muy divertidos, gracias a la profesora Leticia Figueroa y a mi asesora de tesis Guisela Ramirez por todo su apoyo y su soporte, por todas las revisiones, regaños y enseñanzas y por último gracias a mi compañera de tesis, " lo logramos", tú al igual que yo sabes lo difícil que ha sido el proceso, la culminación de esta tesis fue un sueño compartido y me da mucho gusto que haya sido contigo, te quiero mucho amiga.

Me llevo lo mejor de estos años.

Jimena

ÍNDICE

RESUMEN.....	13
INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I ANTECEDENTES.....	15
1.1 SOYA.....	15
1.1.1 Características	15
1.1.2 Composición química y aporte nutricional	15
1.1.3 Propiedades nutritivas	18
1.1.4 Productos fermentados de la soya.	21
1.1.5 Soya en México (Producción y consumo).....	21
1.2 MAÍZ.....	23
1.2.1 Características	23
1.2.2 Composición química y aporte nutricional	24
1.2.3 Propiedades nutritivas	25
1.2.4 Productos fermentados de maíz.....	26
1.2.5 Proceso de nixtamalización	26
1.2.6 Maíz en México (Producción y consumo).....	27
1.3 <i>Rhizopus oligosporus</i>	31
1.3.1 Generalidades del hongo	31
1.3.2 Fermentación.....	31
1.3.3 Cultivo iniciador de tempeh	36
1.4 TEMPEH.....	38
1.4.1 Definición y orígenes del tempeh.....	38
1.4.2 Tipos.....	41
1.4.3 Composición química y aporte nutricional	42
1.4.4 Elaboración.....	44
1.4.5 Tempeh en México.....	50
1.5 DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS.	51
1.5.1 Definición.....	51

1.5.2 Ciclo de vida de un producto.....	51
1.5.3 Etapas para el desarrollo de nuevos productos.....	53
1.6 MERCADOTÉCNIA.....	53
1.6.1 Definición.....	53
1.6.2 Tipos de Mercado.....	53
1.6.3 Producto, Precio, plaza y promoción.....	54
1.7 EVALUACIÓN SENSORIAL.....	55
1.7.1 Definición.....	55
1.7.2 Tipos de Jueces.....	56
1.7.3 Métodos de la evaluación sensorial.....	56
1.8 VIDA ÚTIL.....	57
1.8.1 Definición.....	57
1.8.2 Factores que afectan la calidad y vida útil.....	57
1.8.3 Diseño escalonado para determinar vida útil.....	58
JUSTIFICACIÓN/MOTIVACIÓN DEL PROYECTO.....	59
CAPÍTULO II METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	60
2.1 OBJETIVOS.....	60
OBJETIVOS PARTICULARES.....	60
2.2 CUADRO METODOLÓGICO.....	61
2.3 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.....	62
2.3.1.1 Desarrollo del estudio de mercado.....	62
2.3.2.1 Selección del maíz y frijol de soya.....	63
2.3.2.2 Análisis fisicoquímico y AQP del maíz.....	64
2.3.2.3 Nixtamalización del maíz.....	67
2.3.2.4 Acondicionamiento de la soya.....	69
2.3.3.1 Preparación del cultivo iniciador.....	70
2.3.4.1 Elaboración de prototipos y diseño factorial.....	71
2.3.4.2 Selección del prototipo.....	71
2.3.5.1 Análisis químico proximal de prototipo seleccionado.....	72
2.3.5.2 Análisis de calcio.....	73
2.3.5.3 Análisis de aminoácidos.....	73

2.3.5.4 Análisis microbiológico de prototipo seleccionado	74
2.3.6.1 Selección del envase y diseño de la etiqueta	77
2.3.6.2 Determinación del precio del producto	77
2.3.7.1 Determinación de la vida útil del producto en tiempo real	77
2.3.7.2 Determinación de propiedades fisicoquímicas y calidad sanitaria de los lotes elaborados	78
2.3.7.3 Evaluación sensorial de prototipos.....	79
CAPÍTULO III RESULTADOS Y ANÁLISIS	80
3.1.1 Desarrollo del estudio de mercado	80
3.2.1 Selección del Maíz y Frijol de Soya.....	85
1.2.2 Análisis fisicoquímico de la soya y del maíz y AQP del maíz.....	86
3.2.3 Nixtamalización del maíz y acondicionamiento la soya	87
3.3.1 Preparación del cultivo iniciador.....	89
3.4.1 Elaboración de los prototipos.....	90
3.4.2 Selección del prototipo con las mejores características	95
3.5.1 Análisis químico proximal del prototipo seleccionado pH y acidez.....	99
3.5.2 Análisis de calcio	102
3.5.3 Análisis de aminoácidos.....	103
3.5.4 Análisis microbiológico de prototipo seleccionado	104
3.6.1 Selección de envase y diseño de la etiqueta	105
3.6.2 Determinación del precio del producto	107
3.7.1 Estimación de la vida útil del producto.....	108
3.7.2 Determinación de acidez, y pH a los prototipos.....	108
3.7.3 Evaluación sensorial.....	109
CONCLUSIONES	112
RECOMENDACIONES	114
REFERENCIAS.....	115
ANEXO.....	124

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Productos elaborados del tempeh tradicional.	14
Figura 2. Frijol de soya	15
Figura 3. Composición del grano de soya.	15
Figura 4. Factores antinutricionales presentes en el frijol de soya.....	20
Figura 5. Principales estados productores de soya en México.	22
Figura 6. Producción y rendimiento de la soya en México.	23
Figura 7. Maíz blanco.....	24
Figura 8. Pérdida de potencia de cultivo iniciador	38
Figura 9. Tempeh risofus.	39
Figura 10. Diagrama de bloques de elaboración de Tempeh.	46
Figura 11. Marcas de tempeh en el mundo.	51
Figura 12. Ciclo de vida de un producto.	52
Figura 13. Campos de aplicación de la evaluación sensorial.....	55
Figura 14. Tipos de Jueces	56
Figura 15. Factores intrínsecos y factores extrínsecos que afectan la calidad y vida útil.	58
Figura 16. Encuesta para realizar el estudio de mercado.	63
Figura 17. Nixtamalización del maíz.	69
Figura 18. Acondicionamiento de la soya.	70
Figura 19. Diagrama de proceso tempeh tlayolli.	70
Figura 20. Formato de la encuesta de evaluación sensorial.	72
Figura 21. Ejemplo de la declaración por envase.....	77
Figura 22. Almacenamiento de los lotes para determinación de vida útil.....	78
Figura 23. Encuesta de evaluación sensorial para la determinación de vida útil.	79
Figura 24. Personas que conocen los beneficios al mezclar una leguminosa con un cereal	80
Figura 25. Personas que conocen los beneficios del tempeh.....	80
Figura 26. Encuestados que entendieron los beneficios del tempeh.	81
Figura 27. Encuestados que les gustaría sustituir la carne de su dieta por el tempeh	81
Figura 28. Gráfico semanal del consumo de carne	82
Figura 29. Encuestados que conocen productos de la soya.....	82
Figura 30. Productos de la soya y vegetarianos conocidos por los encuestados	82
Figura 31. Lugares donde los encuestados compran sus productos derivados de la soya.....	83
Figura 32. Encuestados que prefieren el tempeh condimentado	83
Figura 33. Condimentos sugeridos por los encuestados.....	83
Figura 34. Chile que les gustaría adicionar al tempeh	84
Figura 35. Precio que pagarían por una porción de 350 gr de tempeh.....	84
Figura 36. Cuadro de balance para limpieza del maíz	85
Figura 37. Índice de flotación del maíz.....	88
Figura 38. Mezcla de granos de Soya cocidos y Maíz nixtamalizados	89

Figura 39. Crecimiento en agar papa dextrosa del hongo liofilizado resuspendido en agua estéril, primera (izquierda) y segunda resiembra (derecha).	89
Figura 40. Cultivo iniciador a partir del crecimiento del hongo en arroz cocido.....	90
Figura 41. Pureza del Rizhopus oligosporus en el cultivo iniciador	90
Figura 42. Primer ensayo de la elaboración de tempeh, 24 y 48 horas de incubación.....	92
Figura 43. Tempeh en el que se varió el grado de cocción de los granos y la cantidad del cultivo iniciador.....	93
Figura 44. Tempeh en el que se varió el tiempo y temperatura de incubación así como los tipos de envases (bolsas de polietileno y cajas de petri de plástico).....	93
Figura 45. Tempeh en el que se varió la humedad inicial de los granos.....	93
Figura 46. Tempeh en el que se varió la acidificación inicial de los granos.....	94
Figura 47. Comprobación de la pureza y viabilidad del hongo Rhizopus.....	94
Figura 48. Reactivación y cuantificación del inóculo en agar papa dextrosa acidificado.....	94
Figura 49. Prototipos que contienen los granos acondicionados e inoculados para su incubación, proporción 80:20 y 60:40.	95
Figura 50. Prototipos después de la fermentación.....	95
Figura 51. Resultados de la evaluación sensorial.....	98
Figura 52. Contenido de proteína en los prototipos con mejores atributos sensoriales y propiedades fisicoquímicas.	98
Figura 53. Imagen del tempeh prototipos.....	99
Figura 54. Tabla nutrimental y pilas para el envase.....	102
Figura 55. Tempeh empaquetado en bolsa de plástico.....	105
Figura 56. Etiqueta del producto.....	107
Figura 57. Resultados de acidez y pH obtenidos de los lotes elaborados para el ensayo de vida útil..	109

Tabla 1. Composición de la soya y sus partes (%).....	16
Tabla 2. Producción nacional de soya en México	22
Tabla 3. Composición química general de distintos tipos de maíz (%)	24
Tabla 4. Producción y consumo de maíz blanco en México.	29
Tabla 5. Oferta del maíz blanco en México.	30
Tabla 6. Demanda del maíz blanco en México.	30
Tabla 7. Clasificación taxonómica de Rhizopus Oligosporus.....	31
Tabla 8. Vitaminas presentes en el frijol de soya y en el tempeh.	35
Tabla 9. Formas de preparación de tempeh.....	41
Tabla 10. Tipos de tempeh.	42
Tabla 11. Composición química del tempeh (Cantidad de la porción 100 gr).....	42
Tabla 12. Grasas, vitaminas y minerales en el tempeh.	43
Tabla 13. Etapas para el desarrollo de nuevos productos.....	53
Tabla 14. Índice de dureza del grano de maíz y tiempo de nixtamalización.....	68
Tabla 15. Cuadro de variables para la elaboración del tempeh.	71
Tabla 16. Composición nutrimental del maíz y la soya.	87
Tabla 17. Análisis Fisicoquímico del maíz y la soya.	87
Tabla 18. Índice de dureza del grano de maíz y tiempo de nixtamalización.....	88
Tabla 19. Resultados de los análisis fisicoquímicos de los 8 prototipos.....	96
Tabla 20. Resultado análisis químico proximal pH y acidez.	100
Tabla 21. Resultados de calcio.....	102
Tabla 22. Contenido de aminoácidos en el tempeh maíz-soya y el tempeh tradicional de soya.....	103
Tabla 23. Capital requerido.....	108
Tabla 24. Tabla de precios.	108
Tabla 25. . Resultados vida útil modelo loglogistic.	109
Tabla 26. Vida de anaquel de tempeh.	110

RESUMEN

Palabras Clave: Tempeh, *Rhizopus oligosporus*, maíz, soya, alimento nutritivo.

El tempeh es un producto de origen indonés elaborado con el frijol de soya fermentado por el hongo *Rhizopus oligosporus*, el cual posee mayor calidad de proteína que cualquier otro alimento derivado de la soya. Es una buena fuente de hormonas (giberelinas), fitoesteroles, antibióticos naturales, vitaminas y minerales destacando el hierro; por ello es recomendado para las mujeres en etapa de climaterio. Es un alimento de alta calidad y digestibilidad de sus proteínas debido a la producción de proteasas durante la fermentación, así como la reducción de los oligosacáridos causantes del malestar estomacal.

En este trabajo se elaboró un tempeh utilizando semillas de soya y granos de maíz blanco nixtamalizado, con la finalidad de incrementar el contenido de calcio y mejorar el balance de aminoácidos limitantes en ambas materias primas y obtener de esta manera un producto con mayor valor nutrimental que pueda sustituir a la carne.

Se establecieron 8 formulaciones mediante un diseño factorial 2³, variando las proporciones de soya-maíz (80:20, 60:40), tiempo de fermentación (24 y 48 hr) y concentración del inóculo (1 y 3 g). Se realizó la determinación de calcio (NMX-AA- 072 SCFI-2001) y perfil de aminoácidos para comprobar las propiedades nutricionales del tempeh elaborado con mezcla soya-maíz blanco.

Se encontró que el tempeh elaborado contiene 37% más de metionina, 24% más de cisteína y 7% más de lisina. Para el caso del calcio se incrementó al doble su contenido con respecto al tempeh reportado (de soya) y 3 veces con respecto a la masa de maíz nixtamalizada.

Finalmente el tempeh elaborado con mezcla de soya y maíz tuvo mayor aceptación cuando se sometió a una prueba sensorial de preferencia con consumidores, ya que mejoró el sabor característico del tempeh, además es un producto más nutritivo que los reportados y fue adaptado al maíz que es la base de la alimentación del mexicano.

Por otro lado se eligió el envase de acuerdo a las características del producto y con la finalidad de poder aumentar su vida útil, se realizó el diseño de la etiqueta con base a la (NOM-051-SCFI-1994 y Cofepris) y se determinó el costo unitario del producto. Finalmente se calculó la vida útil de anaquel mediante un análisis sensorial a 50 jueces semi entrenados por medio del grado de aceptación de los jueces, se encontró que el producto tiene una vida estimada de 9 días almacenado a una temperatura de 4°C.

INTRODUCCIÓN

La soya es la leguminosa de mayor importancia a nivel mundial por su gran cantidad de usos, derivado de su alto contenido de proteína y energía. En promedio, el grano seco contiene 20% de aceite y 40% de proteína (Almanza, 2010). Se sabe que la soya es una leguminosa que presenta un buen balance de aminoácidos destacando su nivel alto de lisina, sin embargo, contiene bajos niveles de los aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína, los cuales pueden suministrarse en las dietas a través de su combinación con los cereales (Valencia y Garzón, 2004).

El tempeh es un producto de origen indonés elaborado con el frijol de soya fermentado por el hongo *Rhizopus oligosporus*, el cual posee mayor calidad de proteína que cualquier otro alimento derivado de la soya (Kao, 1978; Shurtleff y Aoyagi, 2011). Algunas de sus características son la presencia de hormonas que ayudan a reducir los síntomas de la menopausia (Taku *et al.*, 2012); fitoesteroles, que pueden prevenir ciertas formas de cáncer (Hutkins, 2006); es una buena fuente de antibióticos naturales, vitaminas y minerales destacando el hierro; además de la alta calidad y digestibilidad de sus proteínas debido a la producción de proteasas durante la fermentación, así como la reducción de los oligosacáridos causantes de flatulencias (Varzakas, 1986; Cornejo, 1993).

En México se producen anualmente 240 mil toneladas de soya, equivalentes al 5% del consumo nacional, el resto es importado principalmente de USA y su destino es el sector pecuario y la industrialización (forrajes, proteína, aceite). Sin embargo el cultivo de soya en nuestro país tiene oportunidades de crecimiento en regiones con limitantes de agua para riego ya que es un cultivo tolerante a sequía. Asimismo, durante milenios la base de la alimentación mexicana ha sido el maíz, siendo México a nivel mundial el 4º consumidor de este grano, cuya producción alcanza 35 millones de toneladas de las cuales 75% son destinadas al consumo humano (harina, masa y tortilla, almidón y edulcorantes) y 19% al consumo pecuario (SIAP, 2013; Almanza, 2010).

En este trabajo se desarrollará un tempeh utilizando una mezcla soya-maíz mediante la fermentación con el hongo *Rhizopus oligosporus* para mejorar el sabor, esperando su aceptación en consumidores de productos vegetarianos. Se adicionará con maíz blanco para complementar a los aminoácidos esenciales de la soya y obtener de esta manera un producto con mayor valor nutrimental que sea un sustituto de la carne, el cual se sugiere distribuir en tiendas naturistas.



Figura 1. Productos elaborados del tempeh tradicional (Fuente: Moran, 2015).

CAPÍTULO I ANTECEDENTES

1.1 SOYA

1.1.1 Características

La soya es una legumbre de ciclo anual (Figura 1), de porte erguido, que alcanza entre 0,50 y 1,5 metros de altura. Posee hojas grandes, trifoliadas y pubescentes. Su nombre científico es *Glycine Max* (L.), pertenece a la familia de las Papilionáceas (Fabáceas) y en otros países se la conoce popularmente como soya (Portugal y Francia e Inglaterra), soya (Italia) y sojabohne (Alemania).



Figura 2. Frijol de soya (Fuente: Luna, 2007)

1.1.2 Composición química y aporte nutricional

La semilla de esta leguminosa está compuesta de cutícula, hipocotilo y dos cotiledones. Se considera como oleaginosa debido a que tiene un alto contenido de grasa (20%), además contiene proteína (40%), hidratos de carbono (25%), cenizas (6%) y fibra (5%) (Figura 3). Desde el punto de vista alimenticio y comercial sus principales componentes son la proteína y la grasa (Luna, 2007 y Salunkhe, 1992). La composición de los tres principales constituyentes de la semilla de soya es presentada en la tabla 1.

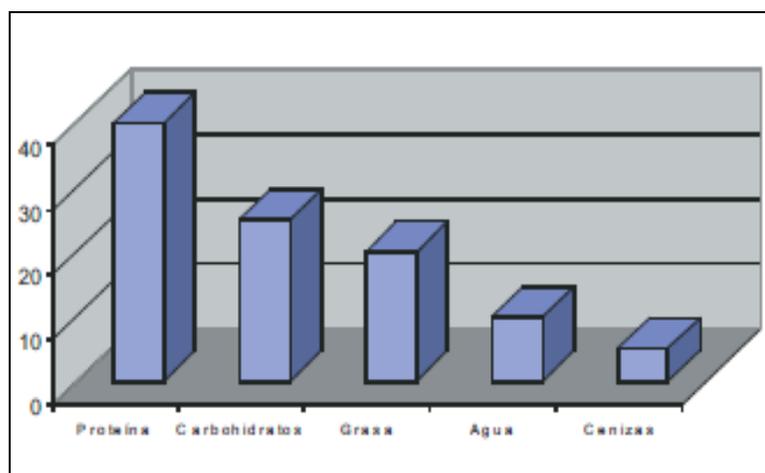


Figura 3. Composición del grano de soya (Fuente: Luna, 2007).

Tabla 1. Composición de la soya y sus partes (%)

	Proteína	Grasa	Carbohidratos + fibra	Cenizas	Constituyentes de la semilla
Soya total	40.4	22.3	31.9	4.9	-
Cotiledón	43.4	24.3	27.4	5	90
Cascarilla	9.0	0.9	86.2	4	8
Hipocotilo	40.8	12.0	42.7	4.5	2

(Fuente: Badui, 1993 y Salumkhe, 1992).

- a) Contenido de Proteínas: las proteínas de estos granos están formadas para dar sustento a la planta durante su germinación y su composición no es la ideal para el ser humano. Es por esto que se dice que las proteínas de cereales son de menor calidad o incompletas. Dentro de los vegetales existen las leguminosas, las cuales son una fuente alimenticia abundante y económica. Sus proteínas también carecen de ciertos aminoácidos indispensables, pero aquellos aminoácidos en que son deficientes se encuentran abundantemente en los cereales y viceversa. Por esto se dice que las proteínas de los cereales y las leguminosas se complementan, y se recomienda comerlas juntas en un mismo plato. De todas las leguminosas, la soya es la que tiene mayor cantidad y mejor calidad de proteínas y por esto, se utiliza para fortificar productos a base de cereales como el maíz y el trigo (Luna, 2007).

Esta leguminosa presenta un buen balance de aminoácidos, comparativamente con otros vegetales. Sin embargo, contiene altos niveles de lisina, pero bajos niveles de los aminoácidos azufrados como la Metionina y Cisteína, los cuales puede suministrarse en las dietas a través de la combinación de productos de soya con cereales que tienen altos contenidos de dichos aminoácidos azufrados y bajo contenido de Lisina (Valencia y Garzón, 2004).

- b) Hidratos de Carbono: Los hidratos de carbono de la soja se clasifican en solubles e insolubles. Los solubles son mayoritariamente oligosacáridos: rafinosa, estaquiosa y verbascosa; y polisacáridos solubles, que comprende la fibra soluble (principalmente pectinas). Los carbohidratos insolubles son hemicelulosa, celulosa, lignina, pectinas insolubles y otros polisacáridos no digeribles, por lo que constituyen la fibra dietaria insoluble de la soja. La soja aporta 9% de fibra alimentaria, que principalmente consiste en lignina, celulosa y hemicelulosa (arabinogalactanos). La cáscara de la soja contiene la mayoría de la fibra del grano (87%). Entre los hidratos de carbono presentes en la soja, cabe destacar a los α galactooligosacáridos (aGOS), con una concentración por grano superior a la de cualquier otra legumbre. Estos carbohidratos solubles, la rafinosa y la estaquiosa (aGOS) son los más importantes, principalmente porque su presencia va unida a la flatulencia y distensión abdominal (Ridner, *et.al.*, 2006). Su contenido en fibra dietética es

elevado (4.5 % del peso de las semillas), lo que reduce la absorción de los hidratos de carbono contenidos en ella y facilita el tránsito intestinal (Calvo, 2003).

- c) **Lípidos:** El aceite de soja es rico en ácidos grasos poli-insaturados: tiene un alto nivel de insaturación. Además, se destaca por su elevado contenido linoleico (51%), este ácido graso es esencial para el crecimiento y mantenimiento normal de la piel y no se produce en el cuerpo humano. Aproximadamente el 1,5 al 2,5% de los lípidos presentes en la soja, se encuentra en forma de lecitina. Ésta tiene una función de emulsionante al incorporarse a formulaciones de alimentos. Otro compuesto de interés en la fracción lipídica de la soja son los tocoferoles, los cuales actúan como antioxidantes naturales y tienen funciones de vitamina E. A escala industrial se utilizan para retardar la aparición de rancidez en alimentos ricos en grasas.

Aproximadamente de 1.5% a 2.5% de la grasa presente en el grano se encuentra en forma de lecitina. La lecitina es un fosfolípido que se separa del aceite a través de un proceso de desgomado y se vende como un producto de alto valor comercial. La lecitina es un emulsificante muy eficaz para lo cual se adiciona en pequeñas cantidades a diversos productos alimenticios. Existen reportes médicos que indican que la lecitina puede tener ciertas propiedades curativas principalmente para enfermedades del sistema nervioso, cardiovascular y de los órganos que almacenan o transportan grasas en el cuerpo.

Otro compuesto de interés en la grasa de soja son los tocoferoles (0.15 – 0.21 %), los cuales actúan como antioxidantes naturales y tienen las funciones de la vitamina E. Ésta inhibe la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas del cuerpo. A nivel industrial, se utilizan los tocoferoles para retardar la aparición de la rancidez en aceites comestibles o alimentos con alto contenido de grasa (Luna, 2007).

- d) **Vitaminas y Minerales:** Los minerales y las vitaminas son micronutrientes esenciales que cumplen funciones regulatorias del metabolismo corporal. La soja contiene una amplia gama de minerales (Calcio, Hierro, Cobre, Fósforo y Zinc) que se refleja, a su vez, en un alto valor de cenizas (5 al 6%). Sin embargo, la biodisponibilidad de estos micronutrientes se ve disminuida por la presencia de fitatos (que en este proceso actúan como antinutrientes). Esta desventaja se ve notablemente eliminada en alimentos de soja fermentados o fortificados con minerales. Las vitaminas que componen la soja son, fundamentalmente: Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6), Niacina, Ácido Pantoténico, Biotina, Ácido Fólico, β -caroteno (provit-A), Inositol, Colina y Ácido ascórbico (vit-C) (Ridner *et.al.*, 2006).

-De la soja se obtienen diversos derivados, como la bebida de soja o el tofu, excelentes alimentos para las personas intolerantes a la lactosa o alérgicas a la proteína láctea. (Hall, 2014).

1.1.3 Propiedades nutritivas

Fitoquímicos presentes en la soya

El término Fitoquímico significa sustancias químicas de las plantas que aunque no se consideran esenciales para nuestro metabolismo, sin embargo son beneficiosas a largo plazo para nuestra salud. Existen más de 2.000 fitoquímicos en las plantas, que se agrupan en clases de acuerdo a su función y sus características estructurales (Aponte *et. al.*, 2011).

Fitoquímicos presentes en el frijol de soya con función biológica importante

- a) Inhibidores de tripsina(IT) 45-60 mg/g p: Son proteínas (inhibidor Bowman-Birk y el inhibidor de tripsina Kunitz) presentes en la soya que reducen la actividad de diversas proteasas gastrointestinales, incluida la tripsina. Inhiben la digestión de proteínas.
- b) Saponinas 0.5%: La saponina puede ser un esteroide o un triterpeno. Pueden reducir el colesterol plasmático al quedar ácidos biliares o colesterol en el intestino. No se conoce que produzcan el efecto hipocolesterolémico de la soya.
- c) Ácido Fítico 0.5%: Inositol hexafosfato, compuesto termoestable presente en la soya y otras leguminosas. Puede reducir el riesgo de cáncer de colon por sus efectos antioxidantes.
- d) Oligosacáridos: Rafinosa, 0.8-1.0% Estaquirosa, 4-4.5 %. El remojo o las nuevas variedades de frijol atenúan estos efectos. Promueven el crecimiento de bifidobacterias, lo que disminuye el riesgo de desarrollo de cáncer de colon.
- e) Isoflavonas: Daidzeína, genisteína y gliciteína. El equol es un metabolito generado a partir de la daidzeína por la flora bacteriana del intestino. Las isoflavonas tienen baja actividad estrogénica para tener un impacto importante sobre los síntomas vasomotores de la deficiencia de estrógenos (Torres y Tovar-Palacio, 2009).

En general, son muy numerosos los trabajos que, tras años de experiencia, ponen en evidencia los beneficios de la ingesta de leguminosas: garbanzos, judías, lentejas y soya. Dichos alimentos provocan un descenso de los niveles de glucemia, porque contienen carbohidratos de digestión lenta, lo que evita los aumentos bruscos de los niveles de glucosa en sangre, como los que afectan a los diabéticos. Dicho efecto se ve acentuado porque, por su elevado contenido en fibra dietética, los carbohidratos se absorben peor a través de las paredes del intestino.

Además de su efecto hipoglucémico, existen otras sustancias contenidas en la soya a las que se le atribuyen propiedades muy beneficiosas para la salud, tanto a nivel preventivo como a nivel curativo. De entre todas ellas, destacan dos: la lecitina y las isoflavonas.

Algunas de sus propiedades terapéuticas han sido avaladas mediante la experimentación científica, llevada a cabo por numerosos especialistas en Dietética y Nutrición. Sin embargo, se atribuyen a la soya muchas otras propiedades que requieren ser avaladas científicamente.

A) Lecitina

Tras su llegada al intestino, los fosfolípidos de la lecitina se degradan. La fosfatidil-colina es absorbida mayoritariamente a través del sistema linfático. Una pequeña parte de la misma pasa hacia el torrente sanguíneo y se dirige al hígado, donde es utilizada para la síntesis de ácidos grasos, colina y glicerina-3-P. En plasma, la fosfatidil-colina y otros fosfoglicéridos transcurren ligados a albúmina y/o lipoproteínas. Posteriormente, son degradados por la acción de las fosfolipasas en ácidos grasos, colina y metabolitos glicerizados, que luego vuelven a ser sintetizados en hígado y en otros órganos.

a) Prevención de las patologías cardiovasculares

La principal enfermedad cardíaca coronaria (CHD) constituye la principal causa de mortalidad en los países occidentales y está aumentando rápidamente en los países en vías de desarrollo. Existen muchos factores de riesgo, tales como tabaquismo, hipertensión, obesidad o el elevado cociente entre el colesterol malo (LDL) y el colesterol bueno (HDL); entre otros.

b) HDL (lipoproteínas de alta densidad) o colesterol bueno. Su papel es retirar el colesterol de la sangre y transportarlo hacia el hígado. Eleva su índice la ingesta de lípidos monoinsaturados y poliinsaturados.

c) LDL (lipoproteínas de baja densidad) o colesterol malo. Su presencia en la sangre está relacionada con el depósito de colesterol en las paredes de las arterias, formando una placa de ateroma. Eleva sus índices la ingesta de lípidos saturados.

d) El riesgo de cardiopatías aumenta cuando lo hace la relación LDL/HDL. Así, se considera factor de riesgo cuando el LDL es superior a 100 mg/ dl de sangre y el HDL es inferior a los 40mg/ dl de sangre.

La cantidad de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados presentes en la lecitina, provocan una disminución de los niveles de colesterol porque, por un lado, elevan la concentración de las HDL y, por otro, debido a su bajo contenido en ácidos grasos saturados, reducen la concentración de las LDL presentes en la sangre. La elevación de las HDL junto con la reducción de las LDL contribuye a una disminución del cociente entre ambas y, por tanto, del riesgo de patologías cardiovasculares.

e) Prevención de tumores

Se ha demostrado experimentalmente que el inositol hexafosfato (conocido como IP6) presente en la soya, el sésamo, el arroz y en algunos cereales, inhibe el crecimiento de las células tumorales en ratas.

B) Isoflavonas

Las isoflavonas son fitoestrógenos (daidzeína, genisteína) que están presentes en las semillas de soya y en sus principales derivados: harina, tofú y leche de soya. Los estudios han informado de que los niveles de isoflavonas hallados en el tempeh son relativamente altos en comparación con otros productos de soya como el tofu y bebidas de soya. Otros componentes beneficiosos de la soya también se pueden consumir al lado de isoflavona, por ejemplo calcio. En la dieta de Malasia, el tempeh es también uno de los alimentos ricos en calcio, además de la leche y los productos lácteos (Haron *et al.*, 2009).

Factores antinutricionales de la soya.

El término antinutrientes se utiliza para calificar a aquellos compuestos que afectan el valor nutricional de algunos alimentos, especialmente semillas, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrientes que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal (proteínas y minerales); desde el punto de vista bioquímico estos factores son de naturaleza variada y pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables como la flatulencia, distensión estomacal, afectaciones pancreáticas, aglutinación de glóbulos rojos, disminución en la asimilación de nutrientes, entre otros; los factores antinutricionales son sustancias naturales no fibrosas, generadas por el metabolismo secundario de las plantas como mecanismo de defensa a situaciones estresantes o contra el ataque de mohos, bacterias, insectos y aves.

Los factores antinutricionales pueden clasificarse como termo estables y termo lábiles (Figura 4).

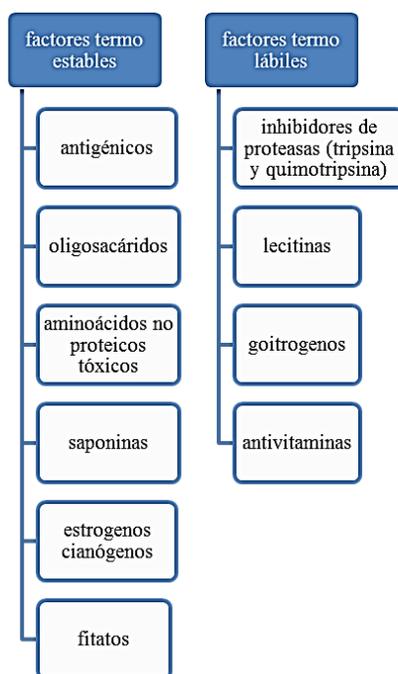


Figura 4. Factores antinutricionales presentes en el frijol de soya (Fuente: Elizade *et al.*, 2009).

Si bien los factores antinutricionales en su estado natural tienen efectos adversos sobre el aprovechamiento de nutrientes, o sobre la salud; estudios recientes han demostrado que no resultan perjudiciales en pequeñas cantidades. De otro lado, los factores antinutricionales que son termolábiles, son inactivados o destruidos mediante prácticas como la cocción, el escaldado, el tostado y la extrusión; las cuales a excepción de la extrusión son aplicadas de forma cotidiana en la preparación de alimentos; los factores termoestables pueden eliminarse mediante la combinación de otros métodos sencillos como la germinación, el remojo, la fermentación, la cocción y/o el escaldado; produciendo adicionalmente un aumento en la digestibilidad y mejoramiento de las propiedades organolépticas de las semillas tratadas (Elizalde *et al.*, 2009).

1.1.4 Productos fermentados de la soya.

Los alimentos fermentados de soya se elaboran agregando organismos vivos a las bebidas de soya o al frijol de soya. Dependiendo del producto, se puede agregar levaduras, bacterias o moho. El proceso de inocular los productos de soya con organismos vivos tiene como resultado la creación de capas complejas de sabor (Soyfoods, 2009).

Productos fermentados derivados de la soya:

- a) Miso: Pasta de soja salada, arroz, cebada y sal, que ha sido y fermentada en presencia de una bacteria (*koji aspergillus*).
- b) Salsa de soya: Líquido marrón oscuro elaborado a partir de soja fermentada durante un año y medio bajo la acción de un hongo (*Aspergillus oryzae*).
- c) Queso de soya: El queso con base de soya se elabora a partir de la bebida de soya por medio de un proceso similar al de la elaboración del queso de leche de origen animal.
- d) Yogur de soya: Este yogur, como el queso de soya, se prepara igual que su contraparte láctea (Calvo, 2003 y Soyfood, 2009)

1.1.5 Soya en México (Producción y consumo)

Originaria de Asia, la soya es la oleaginosa de mayor importancia en el mundo, tanto por los volúmenes comercializados como semilla, como por los importantes subproductos que se obtienen, los que forman parte de una larga serie de cadenas agroindustriales.

-Producción Nacional

México es considerado el cuarto importador de soya a nivel mundial, después de China, la Unión Europea y Japón. Las importaciones de México equivalen a 4.5% de la soya que se comercializa a nivel mundial y en el 2009, se estima que México importó 3.5 millones de toneladas (mdt), destinando 98% al sector pecuario, debido a que la producción es menor a su consumo.

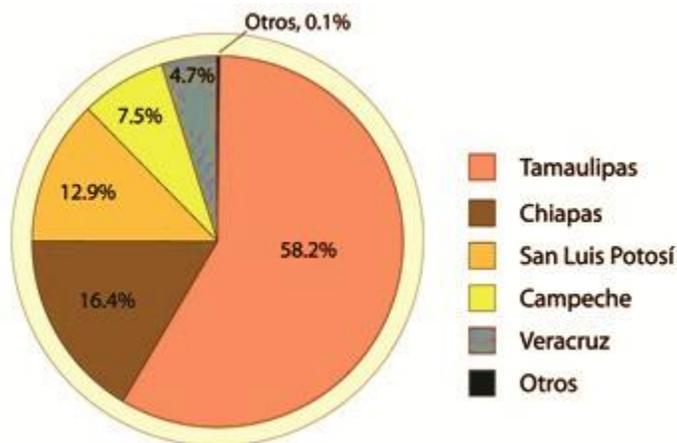


Figura 5. Principales estados productores de soya en México (Fuente: Comité Nacional Sistema-Producto-Oleaginosas 2015).

En el año 2008, en México se produjeron 153,000 toneladas de soya (Figura 5), equivalentes a 4.7% del consumo total nacional para ese año. El 87% de la producción se concentró en los estados de Tamaulipas (58%), Chiapas (16%) y San Luis Potosí (13%).

El cultivo de soya en México tiene posibilidades de crecimiento en regiones con limitantes de agua para riego, a través de variedades tolerantes a la sequía y mediante la integración de productores con industriales, asociaciones de porcicultores y avicultores, así como el uso de esquemas de agricultura por contrato.

Tabla 2. Producción nacional de soya en México

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Sup. Siniestrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Miles de pesos)
Tamaulipas	51,495	46,588	4,907	89,444	1.92	365,737
Chiapas	10,614	10,614	0	25,138	2.37	173,343
San Luis Potosí	14,770	10,273	4,497	19,672	1.92	86,952
Campeche	5,352	5,252	100	11,448	2.18	50,426
Veracruz	5,833	3,011	2,822	7,226	2.40	19,944
Chihuahua	14	14	0	42	3.00	126
Jalisco	15	15	0	53	3.50	236
Total	88,093	75,767	12,326	153,023	2.02	696,764

(Fuente: Comité Nacional Sistema-Producto-Oleaginosas 2010).

Son muchos los usos que pueden darse a la soya. Los más importantes son la obtención de proteínas, aceite, lecitina y forrajes. Se cultiva principalmente para la producción de semillas que se transforman en harina para la elaboración de alimento para el ganado. El aceite de soya

se utiliza para consumo humano y usos industriales, tales como la fabricación de margarinas, mantequillas y chocolates. Para los vegetarianos, la soya es un excelente sustituto de la carne.

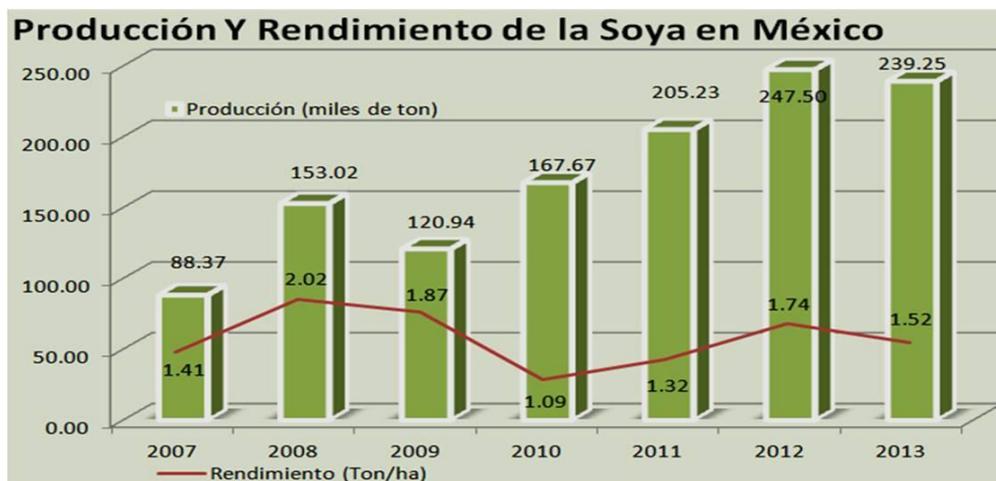


Figura 6. Producción y rendimiento de la soya en México. (Fuente: SIAP, 2016).

1.2 MAÍZ

1.2.1 Características

Por milenios, el maíz ha sido considerado como una planta humana, cultural y simbólica, ya que sin la intervención de la mano del hombre no es capaz de reproducirse por sí misma. En este sentido, más que domesticada, la planta del maíz fue creada por el trabajo humano.

El maíz, como se le conoce comúnmente, forma parte de la familia de las gramíneas. Dentro de la taxonomía convencional se le ubica como una angiosperma monocotiledónea (Figura 7).

Su nombre proviene de las Antillas, pero en México los nahuas lo denominaron centli (a la mazorca) o tlaolli (al grano). Cabe señalar que el maíz cultivado, científicamente es denominado *Zea mays spp. mays*. El vocablo «Zea», que proviene del griego antiguo, es el nombre genérico que se le daba a los granos, semillas y cereales (además también se ha sugerido que el nombre hace referencia a lo que “da o sustenta la vida”) y «mays», procede probablemente de la lengua caribeña que hablaban los grupos aborígenes donde los europeos encontraron por primera vez este cultivo.

De acuerdo a las hipótesis mejor documentadas, el maíz surgió a partir de un ancestro muy similar al denominado ‘teocintle’ —también referido como teosinte—, surgido y aún presente en algunas regiones de México. El proceso de domesticación inició hace más de 6 mil años; los rastros fósiles de aquellas plantas son notoriamente distintos a la planta que conocemos actualmente, uno de los cultivos más estudiados y productivos del planeta.

En América Latina, y particularmente en México, el maíz constituye un cultivo fundamental: ha exigido el desarrollo y mejoras continuas de técnicas de cultivo; ha conducido al surgimiento

de creencias y prácticas religiosas y ha permitido la elaboración de un arte culinario de gran riqueza (Caballero, 2012).



Figura 7. Maíz blanco. (Fuente: Caballero, 2012).

1.2.2 Composición química y aporte nutricional

Tabla 3. Composición química general de distintos tipos de maíz (%)

Componente	TIPOS							
	Blanco	salpor	Cristalino	harinoso	Amiláceo	dulce	reventador	negro
Agua	11.2	12.5	10.5	9.6	11.2	9.5	10.4	12.3
Proteína	8.66	5.8	10.3	10.7	9.1	12.9	13.7	5.2
Grasa	3.8	4.1	5.0	5.4	2.2	3.9	5.7	4.4
Carbohidratos	65.33	75.6	70.3	70.4	72.8	69.3	66.0	75.9
Fibra total	9.71	0.8	2.2	2.2	1.8	2.9	2.5	1.0
Cenizas	1.30	1.2	1.7	1.7	2.9	1.5	1.7	1.2

(Fuente: Souci *et al.*, 2008, FAO, 2012).

La información de que se dispone sobre la composición química general del maíz es abundante y permite conocer que la variabilidad de cada uno de sus principales nutrientes es muy amplia. En la Tabla 3 se muestra la composición química de distintos tipos de maíz, tomados de un estudio que resume datos de diversas publicaciones. La variabilidad observada es tanto genética como ambiental y puede influir en la distribución ponderal y en la composición química específica del endospermo, el germen y la cáscara de los granos.

Independientemente de su uso industrial, el maíz constituye un componente importante de la vida de los pueblos de América. Por ser el sustento de la dieta alimenticia de los pueblos indígenas y mestizos de nuestro continente, este cultivo ha dado lugar a una serie de sistemas agrícolas muy variados.

Como se muestra en la Tabla 3, es un alimento abundante en carbohidratos, tiene proteínas que suministran gran parte de las vitaminas necesarias para el hombre, integra una nutrición muy completa y balanceada; sobre todo si se le adiciona proteínas de origen animal y las diversas frutas, verduras y tubérculos procedentes de la milpa (Souci *et al.*, 2008).

Aporte nutricional.

a) Almidón: El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72-73 por ciento del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3 por ciento del grano.

b) Proteínas: Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11 por ciento del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo.

c) Aceite y ácidos grasos: El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18 por ciento. El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores medios del 11 y 2 por ciento, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24 por ciento. Sólo se han encontrado cantidades reducidas de ácidos linolénico y araquidónico.

d) Fibra dietética: Después de los hidratos de carbono (principalmente almidón), las proteínas y las grasas, la fibra dietética es el componente químico del maíz que se halla en cantidades mayores. Los hidratos de carbono complejos del grano de maíz se encuentran en el pericarpio y la piloriza, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen.

e) Minerales: La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente del 1.3 por ciento, sólo ligeramente menor que el contenido de fibra cruda. Los factores ambientales influyen probablemente en dicho contenido. El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11 por ciento, frente a menos del 1 por ciento en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78 por ciento de todos los minerales del grano. El mineral que más abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio (Departamento de agricultura, 2012).

1.2.3 Propiedades nutritivas

Una de las propiedades del maíz es que no contiene gluten, siendo un alimento ideal para aquellas personas ciliacas.

Gracias a sus virtudes energéticas, el consumo de maíz resulta especialmente interesante para todas aquellas personas que practican deporte, y que a fin de cuentas necesitan que les proporcionen mucha energía, la cual sea digerida rápido.

El maíz es el único cereal en el que encontramos betacaroteno, a la par que aporta fibras, hidratos de carbono, y una interesantísima cantidad de vitaminas del grupo B (en particular B1 y B3).

Por este motivo principal, el maíz ayuda a metabolizar las grasas de manera mucho más rápida, a la par que mejora el tránsito intestinal (ideal en casos de estreñimiento), y reduciendo el colesterol alto (Pérez, 2016).

Otra ventaja poco conocida del maíz es que antes de molerlo para hacer tortillas en el caso de Mesoamérica o el mote en Sudamérica, se remoja en agua con cal y de ese modo se le enriquece con calcio. Por ello en las zonas de alto consumo de maíz son raros los casos de raquitismo. El maíz también es ampliamente utilizado en medicina popular contra hepatitis, la hipertensión, la diabetes, la menorragia, los padecimientos renales, los cálculos el reumatismo, las verrugas, los tumores y otros padecimientos, en forma de cataplasmas, cocciones, ungüentos y emplastos (Asturias, 2004).

1.2.4 Productos fermentados de maíz.

Cabe destacar que estos son los productos fermentados de maíz más consumidos en México.

- a) Pozol: El nombre pozol es de origen náhuatl, pozolli que significa espumoso. Se prepara con bolas de masa de maíz nixtamalizado (ya sea blanco amarillo o negro) envueltas en hojas de plátano que se dejan fermentar. Entre las bacterias que se han aislado del pozol se encuentran *Agrobacterium azotophilum* y *Aerobacter aerogenes*.
- b) Chicha: El maíz cocido debe ser molido o licuado hasta lograr el espesor deseado. Se le agrega azúcar al gusto y se deja fermentar de siete a ocho días dependiendo al grado de licor que lo desee (Mezcla de lactobacillus y levaduras) (Wacher, 2014).

1.2.5 Proceso de nixtamalización

Del náhuatl *nextli*, cal de cenizas, y *tamalli*, masa cocida del maíz (García, 2004)

Este proceso consiste en el cocimiento del grano de maíz en suficiente agua (1:3) es decir, 1 kg de maíz por 3 L de agua, adicionando hidróxido de calcio $[Ca(OH)_2]$, sometido a una temperatura menor a la de ebullición, durante un tiempo de 12 a 14 horas en la solución de cocción (nejayote). Posterior al reposo, el nixtamal es lavado para eliminar algunos componentes orgánicos como el pericarpio, el germen, fracciones del endospermo y el exceso del calcio.

El nejayote representa uno de los efluentes más difíciles de tratar debido a que tiene un alto pH (10 a 14), contiene aproximadamente 5% de materia orgánica soluble e insoluble, restos de hidróxido de calcio (80% de hidróxido de calcio utilizado originalmente durante el proceso de Nixtamalización).

Como aumenta el valor nutritivo

La cocción alcalina y el remojo provocan la disolución y el hinchamiento de las capas del pericarpio, esto hace que las paredes celulares y los componentes de la fibra dietaria de esta parte del grano se vuelvan frágiles, facilitando su remoción, lo cual obviamente disminuye el contenido de fibra dietaria insoluble. Sin embargo, y por fortuna, en este proceso la fibra dietaria insoluble pasa de 0.9% en el maíz a 1.3% en la masa y a 1.7% en la tortilla. La fibra dietaria en general ha sido reconocida como un componente importante y altamente deseable en los alimentos, ya que ejerce diversas funciones fisiológicas asociadas a la salud. La nixtamalización también provoca que la estructura que une las células del endospermo, llamada lámina media, y las paredes celulares se degraden y solubilicen parcialmente. La mayoría del germen permanece en el grano durante la nixtamalización, lo que permite que la calidad de la proteína de los productos de la masa no se vea afectada. Otro aspecto sobresaliente es que la membrana semipermeable que esta alrededor del grano, denominada aleurona, permanece sobre el mismo durante este tratamiento, lo que minimiza la pérdida de nutrimentos hacia el nejayote por el fenómeno llamado lixiviación.

Cuando el maíz nixtamalizado se muele pierde su estructura debido a que los componentes del grano fueron acondicionados por la cocción y el remojo. La masa resultante de la molienda consiste en fragmentos de germen, residuos del pericarpio y endospermo unidos por el almidón parcialmente gelatinizado, y por las proteínas y los lípidos emulsificados (Paredes *et al.*, 2009).

Actualmente existen métodos alternativos para el proceso de nixtamalización entre los cuales figuran el proceso de nixtamalización ecológico, por extrusión, dieléctrico, con vapor, con infrarrojo y por microondas. El método empleado para la nixtamalización que se realizó en este trabajo, fue el tradicional (Cárdenas, 2014).

1.2.6 Maíz en México (Producción y consumo)

El maíz es el grano agrícola que más se produce en el mundo. Debido a sus cualidades alimenticias para la producción de proteína animal, el consumo humano y el uso industrial, se ha convertido en uno de los productos más influyentes en los mercados internacionales; es el grano forrajero más comercializado.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) Recordó que México es el principal productor de maíz blanco en el mundo. Asimismo, este es el cultivo más importante dentro del país ya que representa aproximadamente el 35% de la superficie sembrada durante un año agrícola, tanto para cultivos cíclicos como perennes. Además, se consumen anualmente alrededor de 20 mtm (millones de toneladas métricas).

Refirió la FAO el fortalecimiento de los precios internacionales incentivará la producción de granos en México. En el largo plazo, se espera que la producción de maíz blanco supere los 25 millones de toneladas.

En México la tortilla sigue siendo elaborada principalmente, con masa de maíz nixtamalizado al representar un 65%, frente a un 35% que es elaborada con harina de maíz procesada por:

maseca (25%), Minsa (8%), Harimasa (1%), Cargill (0.50%), Macsa (0.40%) y Blancas (0.20%) (EL UNIVERSAL, 2016).

En nuestro país las necesidades físicas de maíz blanco se cubren principalmente de las cosechas de los estados de Sinaloa y Jalisco, y el resto se importa (Tabla 4).

El maíz es el cultivo más importante de México. El maíz blanco en grano se utiliza principalmente para la elaboración de las tradicionales tortillas y tamales, pero de él también pueden obtenerse aceite e insumos para la fabricación de barnices, pinturas, cauchos artificiales y jabones. El maíz amarillo en grano también se utiliza para consumo humano en una amplia variedad de platillos; sin embargo, su principal destino es la alimentación del ganado y la producción de almidones. La tabla 4 se encuentra en la siguiente página.

Tabla 4. Producción y consumo de maíz blanco en México.

Año agrícola	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Superficie plantada			(miles de hectáreas)									
Sinaloa	561	530	543	537	527	529	532	535	538	541	543	545
Jalisco	534	528	540	555	543	538	537	538	538	539	539	539
Chiapas	606	611	615	642	625	615	609	607	605	604	603	602
Veracruz	589	575	580	593	576	585	560	557	558	555	553	552
Resto	5,041	5,206	5,292	5,454	5,374	5,352	5,353	5,377	5,396	5,420	5,438	5,455
Nacional	7,311	7,450	7,570	7,780	7,645	7,599	7,590	7,614	7,632	7,659	7,676	7,692
Superficie cosechada												
Sinaloa	532	523	365	518	508	510	513	517	519	522	524	526
Jalisco	462	498	515	530	518	514	513	513	513	514	514	514
Chiapas	605	600	609	635	618	608	602	600	599	598	597	595
Veracruz	519	505	544	556	540	530	525	523	521	520	519	518
Resto	3,714	4,628	4,797	4,944	4,872	4,851	4,853	4,874	4,891	4,914	4,929	4,944
Nacional	5,832	6,754	6,866	7,183	7,057	7,014	7,006	7,027	7,044	7,068	7,083	7,098
Rendimientos			(Toneladas por hectáreas)									
Sinaloa	9.8	9.9	8	10.3	10.4	10.4	10.3	10.3	10.4	10.5	10.6	10.7
Jalisco	4.7	5.7	5.7	5.8	5.9	6	5.9	6	6.1	6.1	6.2	6.3
Chiapas	1.8	1.9	2.1	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
Veracruz	2.2	1.8	1.9	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Resto	2.4	2.5	2.5	2.6	2.6	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8	2.9	2.9
Nacional	3.1	3.2	3	3.3	3.3	3.4	3.4	3.4	3.5	3.5	3.6	3.6
Producción			(Miles de Toneladas)									
Sinaloa	5,184	5,178	2,933	5,322	5,273	5,327	5,269	5,336	5,403	5,484	5,547	5,608
Jalisco	2,190	5,608	2,941	3,091	3,060	3,069	3,050	3,082	3,117	3,154	3,187	3,219
Chiapas	1,080	1,140	1,278	1,372	1,347	1,334	1,307	1,310	1,308	1,316	1,324	1,331
Veracruz	1,124	909	1,039	1,094	1,069	1,056	1,029	1,031	1,038	1,045	1,052	1,058
Resto	8,756	11,570	12,069	12,872	12,900	13,043	13,001	13,283	13,546	13,840	14,114	14,383
Nacional	18,333	21,613	20,256	23,751	23,650	23,829	23,655	24,023	24,411	24,841	25,223	25,598
Consumo												
Total	19,602	20,120	20,071	22,615	22,924	23,112	23,019	23,295	23,618	23,989	24,320	24,628

(Fuente: SFA-SAGARPA, 2015).

La producción y el consumo global de maíz mantienen tendencias a la alza y un equilibrio muy ajustado. De acuerdo con información del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, la oferta y demanda del cereal reportan tasas de crecimiento positivas y niveles máximos históricos en los últimos siete años (Hernández, 2014). Como se muestra en la Tabla 5 y 6.

Tabla 5. Oferta del maíz blanco en México.

Periodo	Oferta			
	Total (ton)	Inventario inicial (ton)	Producción (ton)	Importaciones (ton)
Oct12/Sep13	22,207	1,612	20,006	589
Oct13/Sep 14	23,161	1,860	20,484	817
Oct14/Sep 15 1	24,782	1,647	22,255	880
Oct1/Sep 16 2				
Ago	25,082	1,843	22,231	1,008
Sep	25,248	1,843	22,338	1,067

(Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2016).

Tabla 6. Demanda del maíz blanco en México.

Total (ton)	Demanda						Inventario final (ton)
	Exportaciones (ton)	Consumo humano (ton)	Autoconsumo (ton)	Consumo Pecuario (ton)	Semillas para siembra (ton)	Mermas (ton)	
20,347	493	11,759	4,429	2,671	161	834	1,860
21,514	368	11,899	5,497	2,745	158	846	1,647
22,939	747	12,096	4,858	4,156	184	896	1,843
23,383	1,201	12,399	4,266	4,440	178	900	1,699
23,678	1,498	12,399	4,266	4,440	170	904	1,570

(Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2016).

En el mes de Septiembre, El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estima que la Producción Mundial de Maíz 2016/2017 será de 1026.61 millones de toneladas, cerca de 1.79 millones de toneladas menos de lo estimado el mes pasado.

La Producción Mundial de Maíz (*) del año pasado fue de 959.02 millones de toneladas. Los 1026.61 millones de toneladas estimados este año podrían significar una disminución de 67.58 millones de toneladas o un 7.05% en la producción de maíz alrededor del mundo.

Producción Mundial de Maíz por País (Valores en toneladas métricas)

*Estados Unidos: 383,378,000

*China: 216,000,000

*Otros: 94,633,000

*Brasil: 82,500,000

*Unión Europea: 61,149,000

*Argentina: 36,500,000

*Ucrania: 26,000,000

*México: 24,500,000

*India: 24,500,000

*Rusia: 14,000,000

México ocupa el 8vo lugar dentro de los países de mayor producción de Maíz en el mundo (Producción Mundial del Maíz, 2016).

1.3 *Rhizopus oligosporus*

1.3.1 Generalidades del hongo

El *Rhizopus oligosporus* es un moho filamentoso (cuya clasificación taxonómica se presenta en la Tabla 7). Este moho es una cepa propia del tempeh, platillo indonés preparado con los granos de soya fermentados por dicho moho, que es capaz de metabolizar la mayoría de carbohidratos presentes en este grano (excepto la sacarosa, estaquiosa y rafinosa) así como algunos ácidos libres que contiene la soya y utilizarlos como fuente de energía, además de producir proteasas con las que logra digerir el alto contenido de proteínas que posee (Beuchat, 1978 y Hutkins, 2006).

Durante la Fermentación de los granos de soya por *el R. oligosporus*, la proteína cruda hidrosoluble aumenta diez veces en su contenido, lo que indica la acumulación de péptidos, aminoácidos y algunas vitaminas como la riboflavina, niacina y tiamina. El moho muestra actividad enzimática de lipasa la cual hidroliza más del 30% de los triglicéridos para el tercer día de fermentación (Beuchat, 1978).

Tabla 7. Clasificación taxonómica de *Rhizopus Oligosporus*.

REINO	<i>Fungi</i>
DIVISION	<i>Zygomycotina</i>
CLASE	<i>Zygomycetes</i>
ORDEN	<i>Mucorales</i>
FAMILIA	<i>Mucoraceae</i>
GÉNERO	<i>Rhizopus</i>
ESPECIE	<i>R. oligosporus</i>

(Fuente: Bold, 1909).

1.3.2 Fermentación (Características que le confieren al producto y cambios bioquímicos que se manifiestan durante la fermentación)

El moho crece rápidamente durante la fermentación del tempeh., la temperatura de la masa fermentada, generalmente aumenta de 5 a 7°C sobre la temperatura de la incubadora.

Los sólidos solubles totales se incrementan aproximadamente de 13 a 28 % durante 72 horas de fermentación. El nitrógeno soluble se incrementa desde 0.5 hasta 2.5% en tanto que el nitrógeno

total permanece relativamente constante. El pH al inicio es alrededor de 5.0 en el remojo, cuando se cuecen los frijoles se incrementa progresivamente hasta 7.0 y el amoníaco libre se nota en las siguientes etapas de fermentación.

Durante la fermentación, el moho digiere la matriz entre las células de la soya, esto consiste en que los cotiledones de los frijoles se van uniendo entre sí por el micelio que el moho produce haciéndolos más resistentes a la fractura.

Cuando es sometida a un tratamiento mecánico por el batido o mezclado, las células quedan intactas mientras que las células de los frijoles crudos son fácilmente susceptibles a la fractura.

El proceso de fermentación mejora el valor nutricional de tempeh mediante el aumento de la disponibilidad de agliconas de isoflavona. Estos agliconas existen en cantidades más pequeñas que en otros productos fermentados de soya como el tofu y la leche de soya (Ferreira *et al.*, 2011)

a) Cambios en lípidos

El frijol de soya crudo contiene solo el 1% de ácidos grasos libres del total de la grasa que contiene. En el tempeh después de 48 horas de fermentación el 30% del total de la grasa neutra son ácidos grasos libres, esto se debe a la gran cantidad de enzimas impolíticas que el moho produce durante la fermentación.

La grasa neutra de la soya se compone de ácido palmítico, esteárico, oléico, linoléico y linolénico, ausentes en forma libre al principio de la fermentación (De Reu *et al.*, 1994).

b) Cambios en carbohidratos

El frijol de soya contiene el 34% de carbohidratos, siendo la sacarosa la de mayor concentración seguida de estaquiosa, pentosas, galactosa y rafinosa.

En el proceso de remojo y cocimiento durante la elaboración del tempeh, la rafinosa es reducida en un 52 %, la estaquiosa en un 49 % y la sacarosa en un 59 %. Durante las primeras 48 horas de la fermentación la rafinosa se mantiene constante, sin embargo la estaquiosa disminuye en otro 59%. El decremento de los oligosacaridos es una de las razones de la buena digestibilidad del tempeh, con la consecuencia de la eliminación de los problemas de flatulencia que existen en el frijol de soya crudo (Egounlety y Aworh, 2003).

c) Cambios en aminoácidos

Bibliográficamente se conoce que la lisina y metionina disponibles sufren un decremento durante el curso de la fermentación del tempeh, lisina decrece 10% y llega hasta 25% después de la fermentación por 36 horas y 60 horas respectivamente y metionina decrece del 3 al 10% con el mismo tiempo de fermentación. Triptófano y alanina se incrementan alrededor del 20% y fenilalanina decrece alrededor del 20%. La cantidad de aminoácidos libres se incrementa a medida que progresa la fermentación, este cambio de los aminoácidos esenciales no se manifiesta completamente a 24 horas de fermentación.

d) Enzimas producidas por el hongo

La especie *Rhizopus oligosporus* produce dos sistemas de enzimas proteolíticas y lipolíticas una con la actividad óptima a un pH igual a 3.0 (proteasa) y la otra con un pH igual a 5.5 (lipasa), pero tiene máxima actividad a temperaturas de 50 a 55°C. La máxima actividad proteolítica es lograda de 72 a 96 horas a 32°C. La producción de proteasa ácida por el *R. oligosporus* se mantiene en salvado de trigo a 25 °C durante 4 días con una humedad del 50 % en el sustrato.

e) Cambios en el valor nutritivo de las proteínas del tempeh

Una de las cualidades más importantes del tempeh es su alto nivel de proteínas de hasta 40% de la masa seca. Debido a este alto contenido en proteínas, la composición de aminoácidos del tempeh supera el patrón de referencia de la FAO/WHO con la excepción de la metionina y cisteína (Winarno y Reddy 1986). Este hecho explica el gran interés en este alimento en muchos países en vías de desarrollo, los cuales pelean contra la deficiencia de proteínas, especialmente de la población joven. Una característica de la fermentación del tempeh es la producción de compuestos de menor peso molecular tales como ácidos grasos libres y aminoácidos libres (Hering *et al.*, 1991). Un aumento de la tasa de eficiencia proteica (PER por sus siglas en inglés) del tempeh fue atribuido a la mejor disponibilidad de aminoácidos. Se ha reportado un incremento en el promedio de ganancia en el peso diario en ratas alimentadas con soya fermentada con *Rhizopus oligosporus*, comparada con ratas alimentadas con soya no fermentada (Zamora y Veum, 1979). La soya fermentada también tiene mayor valor biológico y utilización neta de proteínas. Los niveles de vitaminas también pueden aumentar durante la fermentación del tempeh. Asimismo, se ha observado que la formación de la vitamina B12 por *Citrobacter freundii* durante la fermentación del tempeh es dependiente de la actividad metabólica de *Rhizopus* (Keuth y Bisping, 1993; Bisping *et al.*, 1993; Baumann y Bisping, 1995; Mejía y Lumen, 2006; Xiao, 2011; Sanjukta y Rai, 2016).

Los péptidos en los productos de soya fermentados son liberados por la hidrólisis de las proteínas de la soya durante la fermentación o producidos por los microorganismos asociados con la fermentación. Durante la fermentación de la soya son producidos péptidos bioactivos específicos como un resultado de la hidrólisis de las proteínas de la soya. Cepas microbianas individuales contribuyen en la formación de péptidos bioactivos específicos con sus respectivos beneficios a la salud dependiendo de la secuencia y composición de aminoácidos. Estos péptidos bioactivos podrían actuar como compuestos regulatorios y exhibir propiedades bioactivas tales como la anti-hipertensiva, hipocolesterolemica, quimiopreventivo, antimicrobiana, antioxidante, antidiabética y anticancer. Futuros estudios en la aplicación de cepas específicas para la fermentación de la soya podrían conducir a la formación de nuevos péptidos bioactivos con potenciales beneficios a la salud (Mejía y Lumen, 2006; Sanjukta y Rai, 2016).

Recientemente, el interés en la composición de la soya y sus productos fermentados se ha incrementado debido a que sus potenciales anticarcinogénicos y otros agentes terapéuticos han sido reportados (Messina *et al.*, 1994). Diversos grupos han mostrado que el contenido de

péptidos de los productos de soya fermentados es mayor que el de la soya sin fermentar (Okamoto *et al.*, 1995). Estos péptidos son producidos parcialmente por la acción hidrolítica de las enzimas microbianas (Hesseltine, 1983). La mayor parte de las proteínas (más del 85%) son β -conglucina y glicina. Otras proteínas menores (glicoproteínas) incluyen lipooxigenasa, lectina, inhibidores de la tripsina y α -amilasa (Liu, 1997). La glicina no contiene algún carbohidrato, mientras que la conglucina es una glicoproteína que contiene aproximadamente 4% de carbohidratos (principalmente manosa). Algunas de las proteínas menores de la soya podrían también estar fosforiladas y/o glicosiladas (Bernard *et al.*, 2004; Mejía y Lumen, 2006; Xiao, 2011; Sanjukta y Rai, 2016).

En la soya fermentada y alimentos de soya fermentados, las proteínas están solamente parcialmente hidrolizadas por la incapacidad de varias proteasas para romper las glicoproteínas, fosfoproteínas, otras especies modificadas pos-traduccionalmente, o dominios que contienen un número alto de puentes disulfuro. En un estudio fueron encontrados diversos péptidos bioactivos en alimentos de soya fermentados digeridos con enzimas proteolíticas. Glicina, una de las principales proteínas de la soya, fué el precursor de la mayoría de los péptidos aislados. Se encontró que β -conglucina la otra proteína principal de la soya, fue parcialmente resistente a la hidrólisis, incluso después de remover algunos de sus sitios de glicosilación (aproximadamente 4% de azúcares). Parece que varias de las proteasas de *Bacillus* and *Rhizopus* hidrolizaron las principales proteínas de la soya en péptidos grandes, con la subsecuente degradación a oligopéptidos principalmente por la actividad de la peptidasa en el ensayo. Ya que la soya fue hidrolizada mediante su exposición a enzimas proteolíticas y no fue expuesta a los microorganismos *Bacillus* y *Rhizopus*, se produjeron menos péptidos que en los alimentos fermentados con estos. En otros estudios se ha encontrado que la fermentación con mezcla de bacterias y el moho *R. oligosporus* producen menores niveles de aminoácidos libres pero el monto total de aminoácidos es mayor (Baumann y Bisping, 1995; Mejía y Lumen, 2006; Sanjukta y Rai, 2016).

Anti hipertensivo: inhibidores de la enzima que convierte la angiotensina ACE (Angiotensin converting enzyme, por sus siglas en inglés) y péptidos antihipertensivos han sido identificados en soya fermentada. La enzima ACE convierte angiotensina I a angiotensina II e inactiva la bradicinina un potente vasodilatador, de este modo incrementa la presión sanguínea y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Los péptidos inhibidores de ACE derivados de alimentos ricos en proteínas pueden ser usados para el tratamiento de la presión sanguínea alta e hipertensión. Los alimentos fermentados ricos en proteínas son una fuente natural de inhibidores de ACE y péptidos antihipertensivos. La presencia de aminoácidos hidrofóbicos (Try, Phe, Trp, Ala, Ile, Val y Met) ó aminoácidos cargados positivamente (Arg y Lys) tanto como Pro en la posición C terminal de los péptidos inhibidores de ACE muestra mejor afinidad con ACE (Mejía y Lumen, 2006; Sanjukta y Rai, 2016).

f) Cambios en las vitaminas y otros factores relativos a la nutrición

Ensayos microbiológicos indicaron que el contenido de vitaminas en el tempeh es alto en comparación con el inicio de la fermentación, en ciertos casos y bajos en otros.

La riboflavina se incrementa al doble, la niacina se incrementa 7 veces y la cantidad de la vitamina B₁₂ se incrementa 33 veces. La tiamina decrece, el ácido pantoténico fue reportado sin cambio, la piridoxina se incrementa de 4 a 14 veces y la niacina de 2 a 5 veces en tempeh secado al sol, como se muestra en la Tabla 8.

Biotina y folato se incrementan 2.3 y 4.5 veces respectivamente. El incremento en riboflavina, niacina, piridoxina y vit B₁₂ es considerado nutricionalmente importante. En el mundo el consumidor busca la vit. B₁₂ en leche y carne en tanto que los vegetarianos usualmente buscan alternativas en las fuentes esta vitamina, frecuentemente en cápsulas, el tempeh no solo cumple como un sustituto de la carne por su alto contenido de proteínas sino también como una fuente potencial de vit. B₁₂ (He y Chen, 2013).

Tabla 8. Vitaminas presentes en el frijol de soya y en el tempeh.

Vitamina	En frijol de soya por gramo	En el tempeh por gramo
Ribiflavina	3.0 mg/g	7.0 mg/g
Ac. Pantoténico	4.6 mg/g	3.3 mg/g
Tiamina	10.0 mg/g	4.0 mg/g
Niacina	9.0 mg/g	60.0 mg/g
B ₁₂	0.15 ng/g	5.0 ng/g

(Fuente: Chen, 2013)

Los antioxidantes producidos durante la fermentación del tempeh por el moho es un atributo que le imparte valor nutritivo ya que estabiliza los aceites. Los tempehs almacenados no desarrollan rancidez por el contenido de 6, 7, 4, - trihidroxy-isoflavina (factor 2) que es el que produce el moho.

- Efectos Anti-microbianos de *Rhizopus oligosporus*

Los mohos del género *Rhizopus* producen agentes antibióticos naturales, estables al calor frente a algunos organismos que causan enfermedades. Los Indonecios que comen el tempeh como una parte regular de su dieta los reconocen como un medicamento para la disentería y rara vez son víctimas de las enfermedades intestinales a las que están expuestos constantemente. Las personas que elaboran el tempeh consideran que la fermentación de la soya en el tempeh es dependiente principalmente del moho *Rhizopus oligosporus* (Shurtleff y Aoyagi, 2001; Feng, 2006; Dinesh y Vidhyalakshmi, 2009).

Se ha observado que el *R. oligosporus* puede inhibir el crecimiento y acumulación de la aflatoxina B1 del moho *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Se ha reportado que este moho produce 4 o 5 compuestos antibacterianos durante la fermentación de la soya en el tempeh. Además, produce compuestos fenólicos que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas tales

como *Helicobacter pylori*. Asimismo, ha sido purificada una proteína con capacidad antibacteriana del moho *R. oligosporus*, con actividad contra *Bacillus spp.* (especialmente contra *Bacillus subtilis*), *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus cremoris*. Además *R. oligosporus* puede producir compuestos que interfieren con la adhesión de *E. coli* a las microvellocidades que cubren el intestino delgado (Sin-ya, 1992; Kiers *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2004; Vатtem *et al.*, 2004).

1.3.3 Cultivo iniciador de tempeh

Los cultivos iniciadores se definen como microorganismos que se presentan en estado puro o mixto, seleccionados de acuerdo con sus propiedades específicas y que al agregarlo a los alimentos mejoran su aspecto, aroma, sabor y facilitan la tecnología (Beldarraín *et al.*, 2008). El cultivo iniciador del tempeh también llamado tempeh potencia (PTS) o la cultura tempeh, es una mezcla seca de esporas de *Rhizopus* en vivo con sustrato, que pueden ser semillas de soya o arroz, como la mayoría de productos alimenticios fermentados que necesitan un cultivo iniciador para impulsar el proceso. Por ejemplo, para hacer yogur de buena calidad se necesita un cultivo iniciador que contenga lactobacilos y estreptococos, se puede utilizar cultivos iniciadores o porción de yogurt de su lote anterior. En el último caso hay un riesgo de contaminación con otras bacterias, un riesgo que aumenta con cada lote sucesivo. El mismo principio se aplica a la fermentación del tempeh. Para producir tempeh de buena calidad se necesita un tempeh con un conteo muy alto de esporas de *Rhizopus* deseables. El tempeh puede ser producido por cepas *Rhizopus: Rhizopus oryzae* o *Rhizopus oligosporus*, ambos de los cuales pueden ser aisladas desde el tempeh fresco de indonesia.

En Indonesia, donde se originó el tempeh y todavía se produce en pequeñas tiendas de tempeh, el maestro siempre utiliza el tempeh seco. Ellos lo hacen mediante la colocación de un puñado de frijoles de soya cocidos e inoculados entre dos hojas de hibisco, lo que les permite incubar durante unos días hasta que las semillas de soja se cubren con esporas negras y finalmente los del secado en el dom. Utilizan este arrancador por el roce de las hojas de hibisco encima de las semillas de soja para ser inoculado. Como se puede entender, este tipo de tempeh puede ser fácilmente contaminado con otros moldes o bacterias. Tal vez este tipo de tempeh no causa problemas a la salud. En Indonesia, donde las personas están más expuestos a las enfermedades que causan las bacterias y que tienen la inmunidad desarrollada. Sin embargo, el tempeh indonés, importado en los EE.UU. por tempeh.

En línea, causó un grave brote de salmonela en 2012. El tempeh estilo occidental, en los países occidentales, donde la producción de tempeh es bastante nuevo, las fábricas utilizan siempre tempeh cultivos puros para asegurarse de que la calidad del acabado del tempeh sea consistente y no se contamine de coliformes o bacterias patógenas, el tempeh a menudo se extiende con arroz flor estéril o almidón para normalizar el recuento de esporas.

Tipos de iniciadores

Los iniciadores de tempeh vienen en tres diferentes tipos de “pureza”:

- a) Iniciadores cultivo-puro: Típica de los tipos a base de esporas, ahora sólidos en el oeste, solamente (o casi solamente) una especie o cepa de esporas de mohos, por lo general *Rhizopus oligosporus*. El uso de un cultivo puro da generalmente un producto uniforme, sin riesgos de microorganismos patógenos o productores de toxinas.
- b) Iniciadores mezcla de cultivo-puro: consiste en una mezcla cuidadosamente controlada de cultivos puros como *R. oligosporus* y *K. pneumoniae*, siendo esta última una bacteria que produce la vitamina B12 en el tempeh, son probablemente el tipo más fino.
- c) Iniciadores cultivo mixto: los tipos que se encuentran en la mayoría de las fermentaciones de alimentos tradicionales consisten en una mezcla de mohos y/o bacterias, algunas de las cuales no son esenciales para la fermentación. La cepa *R. oligosporus* 2710, por ejemplo, es baja en la enzima amilasa y es muy adecuada para hacer tempeh a base de granos.

Sustratos iniciadores, texturas y potencia.

Los iniciadores de tempeh pueden ser cultivados en diferentes sustratos, principalmente en frijoles de soya y arroz blanco.

Los cultivos iniciadores vienen en tres diferentes texturas y concentraciones:

- a) Esporas de textura en polvo: consta de esporas puras separadas del sustrato por tamizado; que tiene la concentración más alta, el mayor número de esporas y otros propágulos por unidad de volumen o el peso.
- b) Harina texturizada: Se hace pulverizando el sustrato esporulado (generalmente arroz) y por lo tanto contiene una mezcla de esporas, micelio y del sustrato.
- c) Extendido polvo de esporas o la textura de la comida: se hace mezclando uno de los dos iniciadores anteriores con un extensor inerte esterilizado o vehículo tal como harina de trigo o de arroz o almidón, tapioca, almidón de maíz, etc. Añadiendo el extensor facilita una medición precisa e incluso la mezcla del motor de arranque.

El cultivo iniciador del tempeh es más potente cuando está fresco (no congelado o liofilizado) durante las primeras 2 semanas después de que se ha hecho.

Los productores comerciales generalmente almacenan su cultivo iniciador en paquetes sellados de papel de aluminio en una sala de aislamiento, en paneles de madera se mantiene a baja temperatura y humedad por un sistema de control ambiental central. El cultivo iniciador se mantiene muy bien a temperatura ambiente pero se almacena mejor en refrigeración (Shurtleff y Aoyagi, 1979).

Los iniciadores de tempeh son más potentes justo después de que están recién hechos, justo en el momento en el que aproximadamente el 69 por ciento de las esporas germinan. Estas cifras

disminuyen rápidamente durante las primeras 4 a 6 semanas de almacenamiento, como se muestra en la figura 8 (Rusmin y Ko 1974).

Se encontró que en condiciones de baja temperatura y de humedad, la tasa de germinación de esporas descende a aproximadamente 35 por ciento después de 6 semanas y se mantiene prácticamente sin cambios durante más de un año: Los tempeh hechos de iniciadores almacenados durante un año en estas condiciones es idéntico en calidad y tiempo de fermentación para el tempeh hecho de iniciadores frescos; e incluso en climas tropicales o en donde la refrigeración no está disponible el cultivo iniciador se puede almacenar a temperatura ambiente (25 ° C o 77 ° F) con muy poca pérdida en la potencia, siempre y cuando la humedad relativa se mantiene cerca de cero, como se muestra en la figura 8.

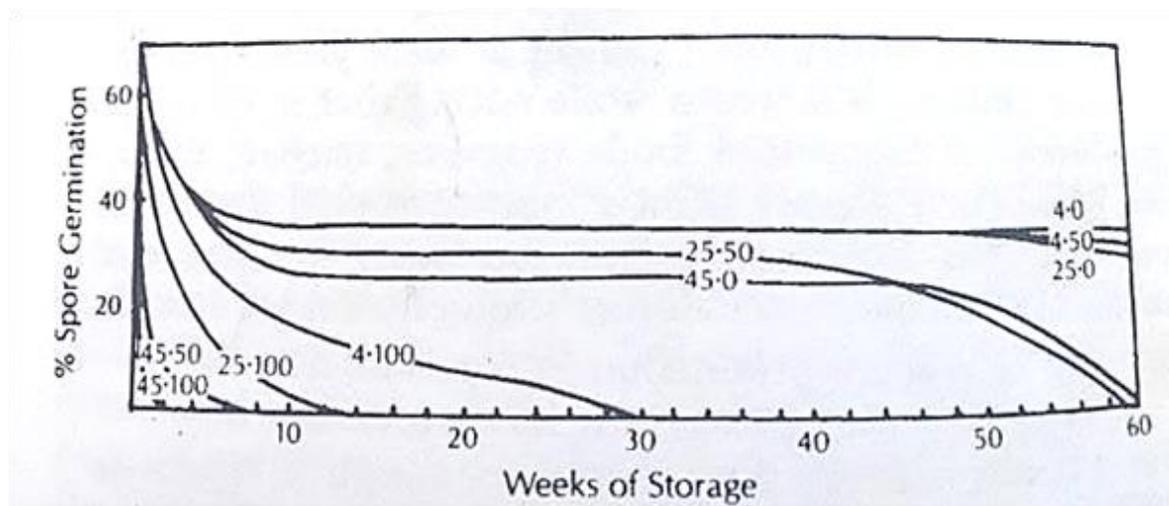


Figura 8. Pérdida de potencia de cultivo iniciador (Fuente: Shurtleff y Aoyagi, 1979).

1.4 TEMPEH

1.4.1 Definición y orígenes del tempeh

El tempeh es un alimento que resulta cocinando los frijoles de soya y adicionando un moho (*Rhizopus oligosporus*), durante el proceso de fermentación el moho forma un micelio haciendo que los cotiledones se entretejan uniéndose sólidamente y formen una masa de textura correosa y densa (figura 9) (Shurleff, 1979; Soyfoods, 2009). El tempeh tiene una textura suave, debido al rompimiento de la matriz intercelular en las células vegetales realizado por el hongo. Un ligero aroma de moho es evidente como resultado de la acción del micelio fúngico, y de las proteínas y lípidos de las semillas de soya (Hermana y Karyadi, 2001).

Los principales aspectos del tempeh, son: su atractivo sabor y textura, ciertas propiedades nutricionales y el tiempo de cocción reducido en comparación con las materias primas utilizadas. Cualquier cereal, así como residuos de los mismos, pueden utilizarse como un sustrato que proporcione soporte para el crecimiento de *Rhizopus spp* en un proceso de

fermentación y así obtener un producto apto para el consumo humano (Shurtleff y Aoyagi, 2001).

Algunas de sus características son la presencia de hormonas que ayudan a reducir los síntomas de la menopausia; los fitoesteroles, que pueden prevenir ciertas formas de cáncer; es una buena fuente de antibióticos naturales, vitaminas y minerales destacando el hierro; además de la altacalidad y digestibilidad de sus proteínas debido a la producción de proteasas durante la fermentación; así como la reducción de los oligosacáridos causantes de flatulencias (Bravía *et al.*, 2012; Taku *et al.*, 2012; He y Chen, 2013; Sanjukta y Kumar, 2016).



Figura 9. Tempeh risofus. (Fuente: Morán, 2014).

Orígenes del tempeh

El procesamiento de tempeh podía ser la tecnología de alimento, más vieja dentro de la historia de personas japonesas. Serat Centhini, un libro publicado en el siglo XVI, indica que tempeh había sido producido y consumido por la época de su publicación. tempeh podría haber sido introducido por los chinos ya que hacen un producto similar, el koji los frijoles de soya, que son frijoles de soya desgranada fermentada con hongos de *Aspergillus*. El uso de *Rhizopus* como iniciador de tempeh en Indonesia podría haber sido atribuible a su mejor adaptación al clima de Indonesia. Las primeras referencias de tempeh por un europeo apareció en 1875 en un diccionario japonés - holandés. A comienzos del siglo XX, el aumento de la popularidad del tempeh en Japón, hizo que se expandiera por Indonesia y otros países. En el 1970 la hoja de plátano que era usada como recipiente para la producción de tempeh fue reemplazada por el uso de bolsas de plástico (Shurtleff y Aoyagi, 2011; tempeh info, 2016).

En Europa, tempeh es conocido a través de los holandeses que colonizaron Indonesia. En 1895 el microbiólogo holandés y farmacéutico Prinsen Geerligts hizo el primer intento en identificar el moho de tempeh. Las primeras fábricas de tempeh en Europa se iniciaron en los Países Bajos por inmigrantes de Indonesia. El primer artículo escrito en inglés apareció en 1931 con el libro "Verduras de las Indias Holandesas", cuyo autor es J.J. Ochse. Un artículo más reciente sobre tempeh es una historia de 7 páginas publicada en 1982 en Francia en *Le Compás*.

En los USA, el tempeh se conoce solamente desde 1946 con la Publicación en el "American Journal de Nutrición clínica", con el tema, de "Posibles Fuentes de Proteínas para la Alimentación de los Niños en Países Subdesarrollados". En los años 60, se crea un nuevo interés en tempeh, con la investigación de este en la Universidad de Cornell (Nueva York) y en el

departamento de agricultura de los Estados Unidos, el centro de investigación regional del norte de (Illinois). En 1961 Mary Otten fue la primera persona en empezar a hacer tempeh. Fue un buen momento para introducir tempeh al público estadounidense. Se lo hace en una granja, dentro de una comunidad espiritual y agrícola de Summertown (Tennessee). La primera tienda comercial de tempeh se inició en 1975 con el Sr. Randall de Undadilla, Nebraska. Un artículo escrito por R. Rodale en la "Prevención" en Junio 1977 le daría gran trascendencia nacional a el y su tienda. En los años de 80s cuando la industria del tempeh se expandió, los medios de comunicación le pusieron mucho interés, y publicaron artículos que salían en revistas científicas. Durante 1983, aproximadamente 1 millón tempeh fue producido comercialmente. En 1940 Van Veen trató de introducir el tempeh en Zimbabwe. Pero los esfuerzos para presentar al tempeh como la fuente económica de proteína en Zimbabwe y otros países en vías de desarrollo (África y América del Sur) fallaron, principalmente porque las poblaciones no tenían ninguna experiencia en alimentos fermentados por moho.

En Europa, USA y otros países industrializados, el interés por el tempeh está aumentando, debido a los beneficios que los vegetarianos le han enfocado en salud y alimentación (Shurtleff and Aoyagi, 2011; tempeh info, 2016).

Diversidad microbiana en la elaboración del tempeh:

El tempeh tradicional es el resultado de una fermentación generada por una mezcla de diversos microorganismos incluyendo mohos, levaduras, bacterias acidolácticas y diversas bacterias Gram negativas (*Rhiz. oligosporus*, *Rhiz. arrhizus*, *Rhiz. oryzae*, *Rhiz. stolonifer*, *Asp. niger*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *Pseudomas fluorescens*, *Lb. fermentum*, *Lb. lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. Reuteri*). *Rhizopus oligosporus* es el moho dominante en el tempeh, aunque otros mohos como el *R. oryzae* y *Mucor spp.* podrían también contribuir al sabor, textura o valor nutritivo (Mei, 2006; Cantabrana *et al.*, 2015; Tamang *et al.*, 2016).

Formas de consumo:

En Indonesia el tempeh se consume en todos los niveles socioeconómicos, en estados unidos las comunidades autosuficientes vegetarianas que viven en pequeñas granjas utilizan al tempeh remplazando a la carne, como la mejor fuente de proteínas en la dieta.

El tempeh debe cocinarse a fuego lento en agua durante 20 minutos antes de prepararlo. Este proceso de escaldado retira el ligero sabor amargo y lo suaviza. Una vez escaldado puede prepararse de distintas maneras, como se muestra en la Tabla 9 (Soyfoods, 2009). Que se muestra a continuación.

Tabla 9. Formas de preparación de tempeh

Calor Seco	Calor húmedo
Sofrito	Asado al horno o escaldado
A la parrilla	Al vapor
Horneado en seco	
Frito en abundante aceite	

(Fuente: Soyfoods, 2009).

1.4.2 Tipos

En realidad hay decenas de variedades, sin embargo se pueden agrupar en 5 tipos:

- a) Tempeh de legumbres: incluye las variedades típicas indonesias hechas con soya (que es una legumbre), garbanzos, cacahuets, etc.
- b) Tempeh de cereales y soya: en esta categoría se incluyen los hechos con cereales/semillas mezclados con soya, como los tempehs de trigo y soya, arroz y soya, cebada, avena, centeno, mijo, etc.
- c) Tempeh de semillas: sólo las semillas, sin mezclar con soya. Por ejemplo tempehs de arroz, cebada, mijo, trigo, avena o centeno.
- d) Tempeh presscake: aprovechan las sobras nutritivas de otras preparaciones como el tofu. Es decir, están hechos con okara, coco, judías mungo (soya verde), cacahuets, soya desgrasada o algunas mezclas de los anteriores.
- e) Tempeh de semillas no leguminosas o semilla+legumbre: son menos comunes, por ejemplo el tempeh de sésamo y soya, o el de semillas de caucho.

Además de estas variedades, también se puede clasificar por su fase de fermentación. En Europa y América lo más común es encontrar sólo tempeh de soya maduro, pero de sepas que también se vende en cualquiera de las 4 fases:

1ª: tempeh prematuro. Se saca de la incubadora 4-6 horas antes de lo normal, y aun así es muy firme.

2ª: tempeh maduro. Es el más común, bien firme y duro al tacto.

3ª: tempeh muy maduro. Se deja 2-3 días más y adquiere aroma a Camembert.

4: tempeh pasado. Se deja 3-5 días después de la maduración, su olor, sabor y textura cambia, haciéndose más tierno, con un aroma mucho más pronunciado, con la misma consistencia que un queso Camembert y un sabor muy parecido (Gastronomía Vegana, 2016).

A continuación se clasifican los tipos de este alimento como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Tipos de tempeh.

Nombre	Descripción
Tempeh bongkrèk	Elaborado con coco pastel prensado
Tempeh bosok (busuk)	Tempeh descompuesto, empleado en pequeñas cantidades como saborizante
Tempeh gembus	Elaborado de okara
Tempeh gódhóng	Tempeh elaborado con las hojas del plátano
Tempeh goreng	Tempeh frito
Tempeh mendoan	Ligeramente frito
Tempeh kedelai	Simplemente tempeh, elaborado de soya
Tempeh murni	Tempeh elaborado en envoltorios de plástico (lit. pastel puro de soya)
Tempeh oncom	También onchom; elaborado de cacahuete pastel prensado; de color naranja; Neurospora sitophila
Tempeh cornejo	Elaborado con distintas especies de frijol

(Fuente: Shurtleff, y Aoyagi, 1979)

1.4.3 Composición química y aporte nutricional

En la Tabla 11 se muestra la composición de diferentes tipos de tempeh, en la cual se observa que este alimento es rico en proteínas y grasas siendo estas últimas libres de colesterol.

Tabla 11. Composición química del tempeh (Cantidad de la porción 100 gr).

Tipos de tempeh	COMPONENTES					
	Aporte energético Kcal	Proteína (g)	Hidratos de carbono (g)	Lípidos (g)	Fibra dietética (g)	Humedad (g)
Tempeh island spring soy bean	170	17	13	7	-	-
Fermented soya vean cake tempeh	-	18	13	4	-	-
Risofus tempeh	170	19.5	13.6	7.5	3.2	-
RUSTO'S tempeh	168.62	16.06	6.03	11.14	5.04	-
Tempeh (Tablas y calculadoras)	208.92	18.54	9.39	10.8	0	59.65

(Fuente: Aoyagi, 1980 & Moran, 2014, Tablas y calculadoras, 2015)

Aporte nutricional del Tempeh

Las características nutricionales y funcionales de la soya fermentada han sido examinadas y reportadas. El tempeh ha sido una comida rica en proteínas, por cientos de años favorita de Indonesia, pero recientemente ha adquirido mayor popularidad y expansión rápidamente en todas partes del mundo, puesto que las personas buscan las maneras de incrementar su consumo de frijoles de soya e isoflavonas. La gente está descubriendo la versatilidad y el sabor delicioso

del tempeh. Especialmente los vegetarianos encuentran que la soya tiene una estructura rica en proteínas muy interesante (Tempeh info, 2008).

El tempeh es:

- a) Una excelente fuente de proteínas, que contienen todos los aminoácidos esenciales, con calidad similar a las proteínas de la carne.
- b) Excelente fuente de calcio
- c) Baja en grasa saturada
- d) Alta en ácidos grasos esenciales & vitaminas
- e) Libre de colesterol
- f) Alto en fibra dietética soluble
- g) La fermentación neutraliza los fitatos presentes en la soya, por lo tanto el tempeh no restringe la absorción de los minerales
- h) De fácil digestión porque el proceso de fermentación rompe el las proteínas complejas encontradas en la soya, haciendo al tempeh más fácil de digerir que los alimentos de soya no fermentados
- i) Alta en isoflavonas
- j) Una buena fuente de ácido fólico
- k) Bajo en sodio (Tabla 12).

Tabla 12. Grasas, vitaminas y minerales en el tempeh.

Grasas	g /100 g de tempeh	Vitaminas	mg/100g de tempeh	Minerales	mg /100g de tempeh
Grasa Total	10.7831	Tiamina	0.0602	Calcio	110.84
Grasa Saturada	2.2289	Riboflavina	0.3614	Hierro	2.71
Grasa Monoinsaturada	3.0120	Niacina	2.6506	Magnesio	80.72
Grasa Poliinsaturada	3.8554	Vitamina B6	0.2410	Fosforo	266.26
Total ácidos grasos trans	-	Ácido Fólico	0.0240	Potasio	412.05
Total ac. grasos Omega-3	0.2199	Vitamina B12	0.0602	Sodio	8.97
Total ac. grasos Omega-6	3.5903	Ácido pantoténico	0.3012	Zinc	1.14
				Cobre	0.54
				Manganeso	1.32

(Fuente: SELFNutritionData. 2014)

Los principales beneficios que aporta la soya en la salud están relacionados con: su excelente contenido de proteínas y fibra libres de colesterol, su nivel elevado de ácidos grasos esenciales, sus numerosas vitaminas, minerales e isoflavonas, asimismo posee una cantidad significativa de fitoesteroles. Otro de los factores atribuibles al tempeh es la alta calidad y digestibilidad de sus proteínas esto debido a que el *Rhizopus oligosporus* produce proteasas que fragmentan a las proteínas de la soya en secuencias aminoácidos más cortas. Proporcionando así proteínas

semidigeridas que son utilizada en personas con problemas gastrointestinales. Diversos reportes sugieren que el tempeh contiene gran cantidad de nutrientes están relacionados con una impresionante gama de beneficios para la salud, incluyendo la disminución de riesgos de enfermedades del corazón y accidentes cerebrovasculares, osteoporosis, cáncer y desordenes digestivos, pérdida de peso además de aliviar algunos de los síntomas de la menopausia (Varzacas, 1986; Hutkins, 2006; Dinesh y Vidhyalakshmi, 2009; Xiao, 2011).

Proteínas de la Soya y Enfermedades Cardiovasculares: Se ha reportado evidencia del papel de las proteínas de la soya en la reducción de los riesgos de enfermedades cardiovasculares. Los productos de soya son libres de grasas saturadas implicadas en muchos problemas de salud y particularmente relacionados con problemas del corazón. Aparentemente los productos de soya disminuyen los niveles de colesterol y LDL en la sangre aproximadamente a la misma tasa de disminución de grasa en la dieta.

Proteínas de soya y salud ósea: Se ha reportado que las isoflavonas de la soya incrementan el contenido mineral en los huesos en mujeres en etapa de climaterio, disminuyendo la posibilidad de osteoporosis, siendo ésta la principal causa de discapacidad en los últimos años de vida de las personas. Las investigaciones sugieren que el consumo de proteína de soya podría ayudar a proteger los huesos, especialmente en esa etapa de las mujeres en la cual el riesgo de osteoporosis se incrementa (Lee *et al.*, 2000; Messina and Messina, 2000; de Luis y Aller, 2012).

Proteínas de la soya y el Cáncer. Se ha reportado que la proteína de soya podría tener un papel en la reducción del riesgo de ciertos tipos de cáncer, particularmente, el de seno, colon y próstata (Badger *et al.*, 2005; He y Chen, 2013).

Pérdida de peso: Se conoce que los niveles de grasa incrementan el riesgo de diversas enfermedades incluyendo las del corazón, cerebrovasculares, fracturas de hueso, cáncer de seno, y otros tipos de cáncer. Estudios han documentado dos propiedades clave de las proteínas de la soya que ayudan con la pérdida de peso independientemente de su bajo contenido de calorías y carbohidratos. Los estudios muestran que el consumo de proteínas de soya contribuye a perder peso por la disminución del contenido de grasa almacenada en el cuerpo mientras que se incrementa la masa muscular (Akesowan, 2007).

1.4.4 Elaboración

Aunque pueden ser usados diferentes sustratos para producir tempeh, el proceso básico de la fermentación es similar para todos los sustratos. Este incluye remojo, descascarado (si es necesario), cocción y fermentación. Las diferencias principales entre los sustratos usados en la fermentación del tempeh son la selección del pretratamiento óptimo (por ejemplo, cuando se usan cereales, algunas veces se requiere modificar la superficie del grano mediante el recorte, agrietado o pulido para obtener un buen crecimiento del moho), remojo, tiempo de cocción e

incubación óptimos y nivel de inoculación del microorganismo *R. oligosporus* apropiado (Feng, 1994).

Antes que nada es importante que para asegurar un buen tempeh, se debe prestar especial atención a tres puntos:

- a) Tratar de mantener un alto nivel de saneamiento en todos los aspectos de la elaboración para evitar la contaminación.
- b) Escurrir y secar muy bien los frijoles de soya antes de la inoculación para evitar el crecimiento de bacterias no deseadas, especialmente cuando el clima sea lluvioso o muy húmedo.
- c) Checar que las temperaturas y tiempos de incubación sean los apropiados (Shurtleff, y Aoyagi, 1980)

Tempeh de granos de leguminosas o cereal o mezcla de estos.

Cuando se hace un tempeh de mezcla de leguminosas y granos de cereal, se ha encontrado que es necesario cocerlos por separado y darles un tratamiento diferente después del calentamiento. Los frijoles son lavados y después calentados por 10 min en exceso de agua con 0.1% de cloruro de calcio y descascarillados antes de cocerlos.

Los cereales son calentados por 30 min, en exceso de agua y después se aplastan completamente con un mortero, pero sin lograr un descascarillado completo. Se prepara mezcla del cereal y frijol añadiendo 2 mL de suspensión de esporas por cada 50 g de mezcla. Posteriormente se incuba la mezcla en cajas de petri ó en bolsas de plástico perforadas (Cornejo, 1993)

A continuación se explica detalladamente el proceso de elaboración del tempeh conforme la figura 10.

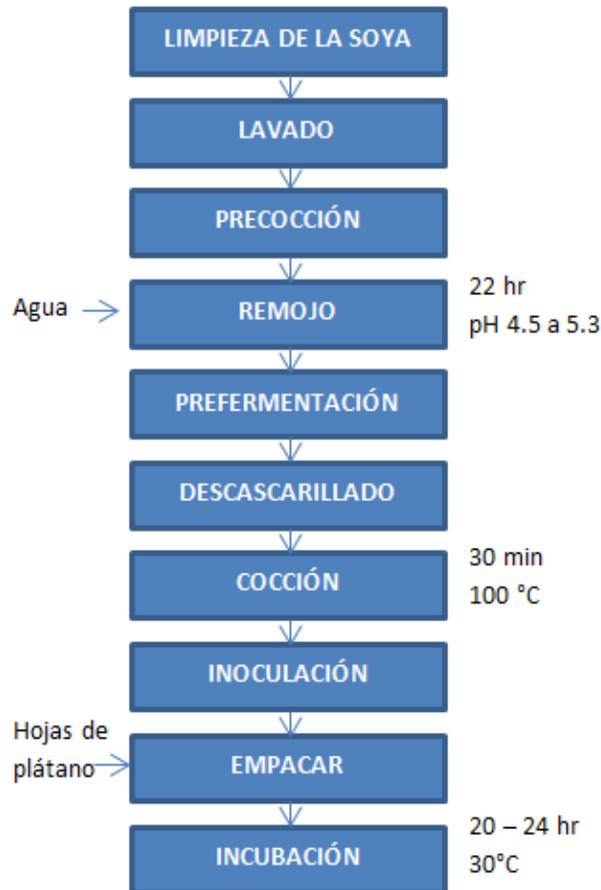


Figura 10. Diagrama de bloques de elaboración de Tempeh (Fuente: Shurtleff, y Aoyagi, 2001).

1) Saneamiento y limpieza: El saneamiento es de la mayor importancia en la producción de tempeh de muy buena calidad. Los principios básicos se deben entender completamente desde el principio y se aplican en cada fase de su operación diaria.

El problema clave que siempre con el que se tendrá que lidiar es con la propagación de bacterias de descomposición productoras pueden desempeñar un papel importante en la prefermentación del tempeh y en la producción de la vitamina B -12. Las bacterias son extremadamente pequeñas, con un promedio de un micrómetro de diámetro; 25000 colocadas lado a lado se extendería sólo una pulgada y un millón de millones encajaría en una cucharada.

2) Limpieza y descascarillado

Limpiar bien los frijoles para remover el polvo, piedras, semillas de diferentes especies, frijoles posiblemente dañados y algún otro material extraño. El hongo no es capaz de crecer en los frijoles enteros, el descascarillado es esencial en la producción de tempeh, sin embargo no siempre la cascarilla es separada completamente de los frijoles que se van a fermentar, esto no permite un buen crecimiento y hace que sea de mala calidad

3) Remojo

Este tiene como finalidad reducir el tiempo de cocimiento, estimula la prefermentación con la presencia de algunas bacterias como son los Bacillus, pediococcus, Streptococcus y Lactobacillus, además de solubilizar los carbohidratos responsables del sabor desagradable del frijol de soya y de la rafinosa.

4) Precocción

Se realiza de 15 a 30 minutos en agua a ebullición para hidratar y ablandar el frijol, así como eliminar bacterias y hongos no deseables que puedan estar presentes en el frijol, con la finalidad de facilitar el desarrollo del moho –Descascarillado

5) Descascarillado seco

Este se realiza antes del procedimiento de hidratación y es un método eficiente y deseable, se utiliza un equipo mecánico. Los cotiledones de la soya son ligeramente arrugados o aplastados para facilitar la remoción de la cascarilla, éste puede ser acompañado por aire caliente a 104°C por 10 minutos o en el sol por 1 a 2 horas. Los frijoles se pasan a través de un molino de grano para romper la cascarilla. Después continúa la limpieza del descascarillado, esta puede ser separada de los cotiledones mediante el uso de un aspirador o un separador por gravedad por un proceso de entresacado. Los cotiledones descascarillados y secos pueden ser guardados hasta que sean ocupados para hacer el tempeh

6) Descascarillado húmedo

Este siempre se ejecuta después del proceso de remojo y no requiere de otro recurso más que el de las manos frotando los cotiledones y supliendo con agua para que floten las cascaras. Las maquinas que se utilizan son como las de las maquinas en seco y esto es efectivo si primero se ajustan. Los frijoles hidratados pueden pasar a través de peladoras de vegetales o rebanadoras de carne que rompen la cascarilla.

7) Prefermentación

Ocurren dos posibles fermentaciones; la primera se manifiesta durante el remojo provocando por las bacterias y da como resultado una acidificación en los frijoles. La segunda fermentación es del moho y da como resultado un mejor crecimiento del micelio en los cotiledones del frijol si no son deshollejados e hidratados. La hidratación es el proceso en el cual los frijoles se remojan en un exceso de agua lo cual les permite absorber aproximadamente el doble de su peso original. Durante la fermentación ácida por las bacterias el pH baja a un rango de <4.5 a 5.3>1. Esto no afecta el crecimiento del hongo, y es benéfico ya que inhibe el crecimiento de bacterias no deseables y que pueden competir con el hongo.

La fermentación ácida no ocurre normalmente cuando los frijoles son remojados toda la noche a temperatura ambiente, por lo tanto es conveniente acidificar el medio en forma artificial mediante la adición de ácido acético durante el remojo y la cocción. Las bacterias durante el

remojo fermentan la estaquiosa y la rafinosa que son los primeros componentes en la producción de flatulencia cuando los frijoles son consumidos

Otra razón para recurrir a la acidificación artificial en los frijoles es que el hongo tiene alta actividad proteolítica; la desaminación seguida de la hidrólisis libera amoníaco causando que el pH se incremente alrededor de pH 7.0, como consecuencia suficiente amoníaco libre mata al hongo, por lo que un pH inicial bajo alarga el tiempo de la fermentación antes que el amoníaco sea liberado (Tüncel *et al.*, 1989).

Los frijoles de soya contienen componentes estables que se hacen solubles y que pueden inhibir el crecimiento del *Rhizopus Oligosporus* y esta misma fracción puede inhibir a las enzimas proteolíticas en el hongo, estos hallazgos sugieren que los frijoles deben remojarse sin descartar este paso ya que es esencial para la obtención del tempeh. La hidratación generalmente involucra uno o más periodos de remojo o varios espaciados de dos a 20 horas y puede incluir el paso de la Precocción, puesto que los tiempos de remojo varían desde una hora a ebullición en agua, 2 horas a 70°C, pero la hidratación más común es de 12 a 15 horas (una noche) a temperatura ambiente, ocurriendo así la fermentación acida por las bacterias.

8) Cocción

Los frijoles son parcialmente cocidos para:

- 1-Destruir la contaminación por bacterias que pueden interferir en la subsecuente fermentación.
 - 2-Destruir el inhibidor de tripsina.
 - 3-Liberar algunos nutrientes requeridos para el crecimiento del *Rhizopus oligosporus*.
- Tradicionalmente se cuecen en tiempos que varían de 10 minutos a 3 horas a ebullición.

9) Inoculación

El inóculo puede ser obtenido de las diferentes fuentes

1. Esporas del tempeh
2. Tempeh secado al sol y pulverizado
3. Hojas secas de *Hibiscus tiliaceus* donde crece el hongo
4. Pastel seco de tempeh ragi
5. *Rhizopus Oligosporus*

Generalmente de 1 a 3 gramos de tempeh seco y pulverizado son usados para inocular 1000 gramos de soya precocida remojada y deshollada, el inóculo debe ser completamente distribuido sobre la superficie de los frijoles. El polvo seco del tempeh o las hojas secas de *Hibiscus tiliaceus* se espolvorean sobre la superficie de los cotiledones y después se mezclan completamente para distribuir las esporas del hongo sobre la superficie de todos los frijoles. Si la torta fresca de tempeh desmenuzado es utilizada como inóculo se debe cuidar que esta entre en contacto con el mayor número posible de cotiledones.

10) Envases para la fermentación

Hojas de plátano *Musa sapientum* o algunas otras hojas largas como *Dillinia indica*, hojas de *Baccaurea motiyana* son excelentes empaques para fermentar el tempeh. Algunos investigadores utilizan bolsas de polietileno perforadas, otros emplean recipientes de acero inoxidable y de vidrio, los cuales permiten una buena formación del pastel de tempeh.

Cualquier empaque ya sea de plástico, vidrio, hojas o el acero inoxidable pueden ser utilizados para la fermentación porque:

1. Permiten el acceso de suficiente oxígeno para el crecimiento del hongo
2. Si el acceso de oxígeno no es suficiente se promueve la esporulación y el oscurecimiento del micelio
3. Puede ser controlada la temperatura
4. Los frijoles retienen la humedad en el transcurso de la fermentación
5. No hay agua libre en contacto con los frijoles no favoreciendo el desarrollo de bacterias que lo contaminan
6. La fermentación se mantiene limpia, intacta y salubre.

11) Temperatura de incubación

La incubación puede realizarse a intervalos de temperatura que van de 25 a 37 °C la más alta temperatura permite mayor crecimiento del hongo particularmente *Rhizopus Oligosporus*.

Las temperaturas mayores de 30°C promueven en los frijoles un mejor crecimiento del micelio dando un producto compacto entre 18 y 24 hr, se debe cuidar que la temperatura no sea mayor a 37°C por que causa daño en el crecimiento del hongo. Se tienen dos importantes razones para no aumentar demasiado la temperatura ya que se favorece el desarrollo de *Klebsiella pneumoniae* y *Burkholderia cocovenenans*.

Por lo tanto se debe tomar en consideración las medidas necesarias para llevar a cabo la incubación del tempeh, manteniendo constantes las condiciones de humedad, oxígeno y temperatura para el buen desarrollo del moho. Bajas concentraciones de oxígeno inhiben el crecimiento y altas concentraciones provocan una esporulación prematura en el producto, temperaturas inferiores al intervalo señalado óptimo dan como resultado un lento crecimiento del moho, por consiguiente un incremento en la temperatura provoca una inhibición en el crecimiento.

12) Conservación

Se puede conservar durante las primeras 24 horas a temperatura ambiente, si se desea conservar por un periodo mayor se debe refrigerar, es factible el poderlo conservar ya cocinado en refrigeración, deshidratado y congelado (Shurtleff y Aoyagi, 1980)

1.4.5 Tempeh en México.

El interés por el tempeh se ha incrementado debido a los beneficios que se han observado a través de diversos estudios enfocados en la salud y alimentación (tempeh info, 2008).

En México, existen por lo menos dos empresas productoras de tempeh. El tempeh Risofus es una empresa productora y distribuidora de tempeh orgánico, ubicados en Querétaro, México. Elaboran tempeh original de soya congelado y empacado al vacío para restaurantes y consumidores en general. De venta en el D.F. y la ciudad de Querétaro con los siguientes distribuidores: (Morán, 2015)

- a) Gold Taco (Colonia Narvarte, México D.F.)
- b) Origenes Organicos (Condesa y Roma, México D.F.)
- c) Mi Tiendita Vegetariana (Colonia Carretas, Querétaro, Qro.)
- d) Mora, Estilo Vegano (Tienda en línea, entregas en Querétaro)
- e) Orgánico y Sano (Milenio III, Querétaro, Qro.)
- f) Orgánica (Álamos, Querétaro, Qro.)
- g) Nutriorgánica (Centro Sur, Querétaro, Qro.)

La información de la comercialización del tempeh se encuentra únicamente en su página de Facebook.

Por otro lado, también existe el tempeh Murni GDL, el productor se encuentra en Guadalajara, Jalisco. Para poder consumir tempeh Murni es necesario hacer contacto con ellos vía Facebook, dejarles un mensaje en su página para poder hacer el pedido del tempeh (Tempeh Murni GDL, 2015).

También se han realizado investigaciones del tempeh en México, en las que destacan:

- a) Tempeh Cornejo, es un tempeh realizado con diferentes especies de frijol por la I.A Ma. De los Ángeles Cornejo, esta investigación fue realizada en 1993 en la Universidad Nacional Autónoma de México.
- b) Propiedades Nutricionales de Tempe de Garbanzo, realizado por Sarmiento-Machado Rosa Maria; Cuevas-Rodríguez Edith; Mora Rochín Saraid; Mora-Escobedo Rosalva, Milán-Carrillo Jorge y Reyes-Moreno Cuautémoc. Dicho estudio fue presentado en el IV Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica del 4 al 7 de abril del 2006 en Morelia Michoacán, México.
- c) Tecnología de fermentaciones alimentarias, esta investigación fue realizada por Matsumoto, y Malpica, el trabajo habla sobre la Fermentación en estado sólido con *Rhizopus oligosporus*: Elaboración de tempeh, fue realizada en el año 2013 por la Universidad Autónoma Metropolitana.
- d) Estudio Sobre la Fermentación de Soya (*Glycine max*) con *Rhizopus oryzae*, realizada por (Munguía, *et. al.*) En la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México en el año 2014.

Por otro lado, en la Figura 11 se muestra un compilado de algunas marcas de tempeh en el mundo.



Figura 11. Marcas de tempeh en el mundo. (Fuente: Morán, 2015).

1.5 DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS.

1.5.1 Definición.

El desarrollo de productos es una tarea que consiste en introducir o adicionar valor a los satisfactores, a fin de que cambien o incrementen sus características para cubrir o acrecentar el nivel de satisfacción de las necesidades y deseos de quienes lo consumen.

También se puede decir que el desarrollo de nuevos productos es la tarea sistemática que tiene como propósito generar nuevos satisfactores, ya sea modificando algún producto existente o generando otros completamente nuevos y originales (Lerma, 2011).

1.5.2 Ciclo de vida de un producto.

Al igual que las personas, los productos tienen un período de gestación, nacimiento, madurez y, finalmente, la muerte, que es lo que se conoce normalmente como ciclo de vida del producto y se define en función de dos dimensiones: El volumen de ventas y el tiempo; el transcurso del tiempo irá variando el grado de compatibilidad del producto como satisfactor de la necesidad, que lleva asociada y dicha variación determinará el ciclo de vida de tal producto (Schnarch, 2009).

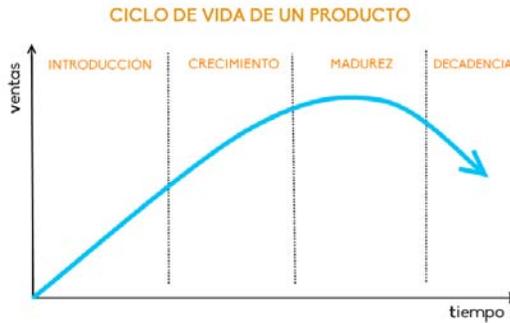


Figura 12. Ciclo de vida de un producto (Fuente: Schnarch, 2009).

A continuación se describe cada etapa a detalle de la figura 12.

- a. **Introducción al mercado:** Es común que cuando un producto o un servicio aparecen por primera vez en el mercado tengan ventas muy lentas. En esta etapa se supone que se debe trabajar en dar a conocer y encontrar nuevos consumidores.
- b. **Crecimiento del producto:** Las ventas se multiplicarán si se ha hecho una buena promoción; si el producto es bien aceptado en el mercado y si responde a una necesidad real del consumidor.
- c. **Madurez:** Algunos la llaman “etapa de estancamiento”. En esta etapa, las ventas del producto se mantienen por un tiempo sin hacer esfuerzos adicionales, ya que tiene una aceptación bastante grande. Es aquí cuando se empieza a ver la saturación del mercado y se prevé una caída de las ventas.
- d. **Decadencia:** También llamada etapa de declive o residual. Aquí las ventas y la rentabilidad del producto caen rotundamente (cuando alcanza el 50 % de las ventas). ¿Por qué sucede esto? Puede que responda a cambios en las tendencias de consumo, introducción de una nueva tecnología, errores estratégicos de tu marca, introducción de leyes o normas que limiten a tu producto o 0influencias políticas (Polo, 2015).

1.5.3 Etapas para el desarrollo de nuevos productos.

A continuación se muestran algunos autores que definen las etapas que se requieren para elaborar nuevos productos (Tabla 13).

Tabla 13. Etapas para el desarrollo de nuevos productos.

AUTOR	ETAPA					
	I	II	III	IV	V	VI
Philip Kotler	Generación de ideas	Tamizado preliminar	Desarrollo y pruebas del concepto	Análisis financiero	Desarrollo del producto	Comercialización
William Stanton		Discernir y valorar ideas	Análisis del negocio	Desarrollo del producto	Prueba de mercado	Comercialización
Joseph Guiltinan/ Paul Gordon		Selección de ideas	Prueba de concepto	Mercado de prueba	Introducción al mercado	Lanzamiento
Robert Cooper		Describir oportunidad es y generar ideas	Identificar alcance del proyecto	Construir caso de negocio	Diseño del nuevo producto	

(Fuente: Carmona, 2014)

1.6 MERCADOTÉCNIA.

1.6.1 Definición

La mercadotecnia estratégica es el arte y la ciencia de determinar lo que tus clientes presentes y futuros realmente necesitan y quieren –pueden usar y pueden pagar- y luego ayudarles a conseguirlo mediante la creación y estructuración de tus proyectos y servicios de tal manera que satisfagan las necesidades específicas de los clientes que has identificado (Tracy, 2014).

1.6.2 Tipos de Mercado

a) Competencia perfecta: es una representación idealizada de los mercados de bienes y servicios en la que la interacción recíproca de la oferta y la demanda determina el precio. Aquí existen muchos compradores y vendedores, de forma que ninguna parte ejerce influencia decisiva sobre el precio. El mercado determina el precio y las empresas se deben acatar a esto, a partir de esto cada empresa producirá la cantidad que indique su curva de oferta para ese precio, ésta se verá condicionada por sus costos de producción. Para obtener mayores beneficios se debe recurrir al máximo aprovechamiento de la tecnología, siempre renovando.

b) Monopolio: es aquel mercado en el que existe un solo oferente que tiene plena capacidad para determinar el precio.

c) Oligopolio: es una forma de mercado en la cual éste es dominado por un pequeño número de vendedores. Debido a que hay pocos participantes en este tipo de mercado, cada oligopólico está al tanto de las acciones de los otros. El oligopolio supone la existencia de varias empresas, pero de tal forma que ninguna de ellas puede imponerse totalmente en el mercado.

d) Competencia monopolística es un tipo de competencia en la que existe una cantidad significativa de productores actuando en el mercado sin que exista un control dominante por parte de ninguno de estos en particular (Mochón, 2003).

1.6.3 Producto, Precio, plaza y promoción.

a) Producto

En un principio, la teoría hablaba de definir aquellos productos o servicios -en cuanto a sus garantías, valor agregado, tamaño y duración, por ejemplo- que una marca ofrecía al mercado, con lo que la idea central era definir la oferta antes de conocer a profundidad la necesidad que buscaba cubrir. En la actualidad, y ante la creciente competencia en todas las categorías y la poca lealtad que los consumidores pueden tener por una firma, determinar la exigencia del mercado que se desea atacar y con base en eso definir la capacidad del producto para adaptarse a los nuevos hábitos del consumidor y ser un elemento dinámico -en la medida de lo posible- en la cadena productiva entendiéndolo cómo, por qué y cuándo de cada acto del target. El producto se convierte en un medio más, no en el fin de la estrategia.

b) Plaza

La concepción original de este rubro habla, en términos generales, de la capacidad que la empresa tenía para entregar el producto o servicio al consumidor, con lo que era un aspecto meramente logístico. No obstante, ahora no sólo basta con tener pensar en los canales indicados de distribución, sino que además es vital considerar la inmediatez y facilidad que se ofrece al consumidor para solucionar sus necesidades. Es decir, ahora el consumidor es quién decide cuándo y desde dónde consume la oferta de la marca; esta decisión ya no está más en manos de las empresas.

c) Precio

En la concepción de McCarthy la idea era definir el valor monetario de cada servicio o producto en función de los beneficios que tanto el consumidor como la empresa recibían en cada operación de compra/venta. Aunque hoy el precio bajo esta definición aún es un factor determinante para posicionarse en el mercado -aunque en un terreno cada vez más relativo-.

El precio también es uno de los elementos más flexibles de la mezcla del marketing. A diferencia de las características de los productos, el precio se puede modificar fácilmente. Al mismo tiempo, la fijación de precios y la competencia de precios son el problema número uno que muchos ejecutivos de marketing enfrentan y muchas compañías no manejan bien la fijación de precios. Un problema frecuente es que las compañías reducen los precios muy rápidamente para obtener una venta en vez de convencer a los compradores de que su producto tiene mayor valor y

que le precio más alto vale la pena. Otras equivocaciones comunes incluyen precios orientados excesivamente hacia los costos en vez de hacia el valor para el cliente y precios que no toman en cuenta el resto de la mezcla de marketing.

d) Promoción

Comunicar, informar y persuadir al cliente para orientar su compra a favor de un producto eran los pilares de la promoción. Desde el punto de vista más estricto, esta función es obsoleta y poco funcional frente a audiencias que no son más simples receptores y que, ahora gracias a las nuevas tecnologías, encontraron el poder para ser parte de esa comunicación y exigir interacción cercana con las marcas (González, 2015).

1.7 EVALUACIÓN SENSORIAL

1.7.1 Definición.

La disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído” (Hough, 2010). En la figura 13 se muestran los campos de acción de la evaluación sensorial.

La evaluación sensorial es una función que la persona realiza desde la infancia y que le lleva, consciente o inconscientemente, a aceptar o rechazar los alimentos de acuerdo con las sensaciones experimentales al observarlos o ingerirlos. Sin embargo, las sensaciones que motivan este rechazo o aceptación varían con el tiempo y el momento en que se perciben. De esta manera, la calidad sensorial de un alimento es el resultado de la interacción entre el alimento y el hombre, dando origen a una sensación provocada por determinados estímulos procedentes del alimento a veces modulada por las condiciones fisiológicas, psicológicas y sociológicas de la persona o grupos de personas que la evalúa.



Figura 13. Campos de aplicación de la evaluación sensorial (Fuente: Hough, 2010).

1.7.2 Tipos de Jueces

Los instrumentos principales para efectuar la evaluación sensorial son los órganos sensores y la capacidad integradora de los jueces.

Se llama Juez al individuo que está dispuesto a participar en una prueba para evaluar un producto valiéndose de la capacidad perceptiva de uno o varios de sus sentidos. Es necesario determinar, en primer lugar, el número de jueces que deben participar, y después hay que seleccionarlos, explicarles de forma adecuada como han de realizar sus evaluaciones y darles el entrenamiento adecuado (De Leo, 2007). A continuación se muestra en la figura 14 los tipos de jueces que existen.

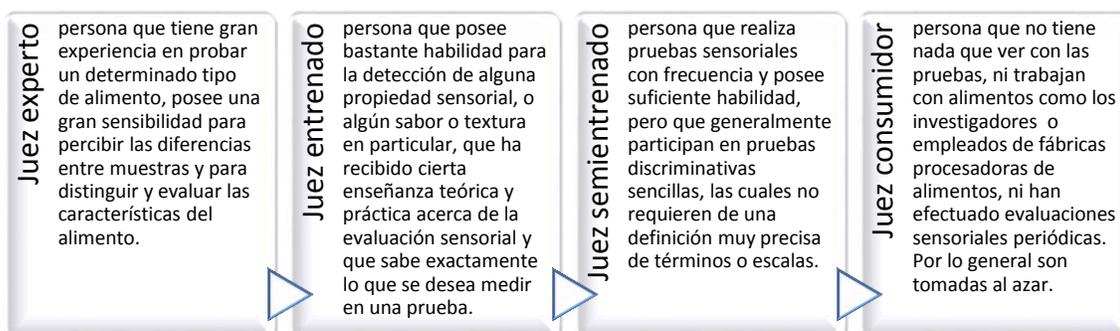


Figura 14. Tipos de Jueces (Anzaldúa, 2005)

1.7.3 Métodos de la evaluación sensorial.

Métodos de evaluación sensorial.

Métodos Analíticos (a nivel laboratorio)

Sensitivo

1. Umbral
 - a) límites
 - b) Ajustes
 - c) Frecuencia

Cuantitativo

1. Gradiente
 - a) Ordenación
 - b) Intervalos
 - c) Estimulación por magnitudes

Cualitativo

2. Análisis descriptivo
 - a) Perfil del sabor
 - b) Perfil por disolución
 - c) Perfil de textura
 - d) Análisis cuantitativo
 - e) Análisis descriptivo

2. Diferenciación

- a) Comparación por pares
- b) Dúo-Trío
- c) Doble referencia
- d) Triangular

2. Duración

- a) Tiempo-Intensidad Referencia

3. Metodos afectivos (en el nivel consumidor)

- a) Aceptación: Aceptación rechazo cuando no hay opciones
- b) Preferencia: Selección entre dos o más opciones
- c) Hedónico: Nivel de agrado Referencia (Hough, 2010).

1.8 VIDA ÚTIL

1.8.1 Definición

La vida útil de un alimento es el tiempo finito después de la producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que un alimento tiene una pérdida de sus propiedades sensoriales, nutritivas y fisicoquímicas, así como un cambio en su perfil microbiológico. Entre los factores que pueden influenciar la vida útil de un alimento se encuentran: la calidad de la materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias durante el proceso, en envasado, almacenamiento, distribución del producto y las prácticas de los consumidores (Carrillo y Mondragón, 2011).

La vida útil de un alimento representa aquel periodo de tiempo durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables (Hough, y Fiszman, 2005).

1.8.2 Factores que afectan la calidad y vida útil.

En muchos alimentos, la vida útil está limitada por uno o varios atributos claves, que pueden predecirse cuando se está diseñando el producto, o por los siguientes factores que se muestran a continuación en la Figura 15.

Factores intrínsecos	Factores extrínsecos
<ul style="list-style-type: none"> -Actividad de agua (a_w) (agua disponible). -pH/ acidez total. Tipo de ácido. -Microflora natural y número de microorganismos sobrevivientes en el producto final. -Disponibilidad de oxígeno. -Potencial redox (Eh). -Química/bioquímica natural del producto. -Conservantes añadidos. -Formula del producto. -Interacciones con el envase. 	<ul style="list-style-type: none"> -Combinación tiempo-temperatura elegida para el tratamiento térmico -control de la temperatura durante el almacenamiento. -Humedad relativa (HR) durante el almacenamiento y la distribución. -Exposición a la luz (ultravioleta e infrarroja) durante el almacenamiento y la distribución. - Composición de la atmósfera dentro del envase. -Manejo por parte del consumidor

Figura 15. Factores intrínsecos y factores extrínsecos que afectan la calidad y vida útil (Fuente: Richard *et al.*, 2004).

1.8.3 Diseño escalonado para determinar vida útil.

A nivel sensorial, la vida útil en estantería de los alimentos depende de la aceptación, al interactuar el alimento con el consumidor. Por ello los consumidores son la herramienta más apropiada para determinarla. Cuando se realizan pruebas sensoriales, el número de muestras representa un punto crítico y se determina según el tipo de diseño experimental, sea básico o escalonado. En el diseño básico se almacena un lote de muestra en las condiciones seleccionadas e ir haciendo un muestreo en tiempos prefijados, mientras que en el diseño escalonado se almacenan diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos.

Diseño escalonado consiste en almacenar diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos, de forma de obtener en un mismo día todas las muestras con los diferentes grados de deterioro y en ese día analizarlas (Valencia *et al.*, 2008).

JUSTIFICACIÓN/MOTIVACIÓN DEL PROYECTO

El propósito de la tesis es elaborar un producto, tempeh complementado con maíz blanco, el cual tenga las propiedades nutricionales para poder disponer de una amplia variedad en el mercado de alimentos nutritivos a un precio más bajo, esperando ayudar a la gente de escasos recursos, vegetarianos y a la población mexicana en general y complementar su dieta diaria de proteínas, las cuales son fundamentales para tener una vida saludable, además de otras propiedades que contiene el producto, como antibióticos y hormonas naturales los cuales ayudan a reforzar los huesos, ayudan a aliviar los síntomas de la menopausia, reducen el riesgo de enfermedades coronarias del corazón, ciertos tipos de cáncer y aumentan la resistencia del cuerpo a infecciones intestinales.

El tempeh se puede consumir en infinidad de platillos como la carne, se puede cocinar, freír o se puede consumir sin algún proceso de cocción, ya que tiene una cocción previa, tiene una textura semi-rígida y una elasticidad característica que lo hace muy manejable, además de que su vida útil es de aproximadamente de dos semanas si se mantiene en refrigeración.

Se desea introducir este producto al mercado, haciéndolo accesible para toda la población mexicana, principalmente en supermercados y tiendas pequeñas de abarrotes. Por lo tanto se busca su producción a gran escala.

Con la creación de este producto se espera ayudar a los agricultores mexicanos de soya y maíz comprándoles la materia prima a precios justos y razonables y así incrementar el consumo de estos granos en México.

CAPÍTULO II METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

2.1 OBJETIVOS

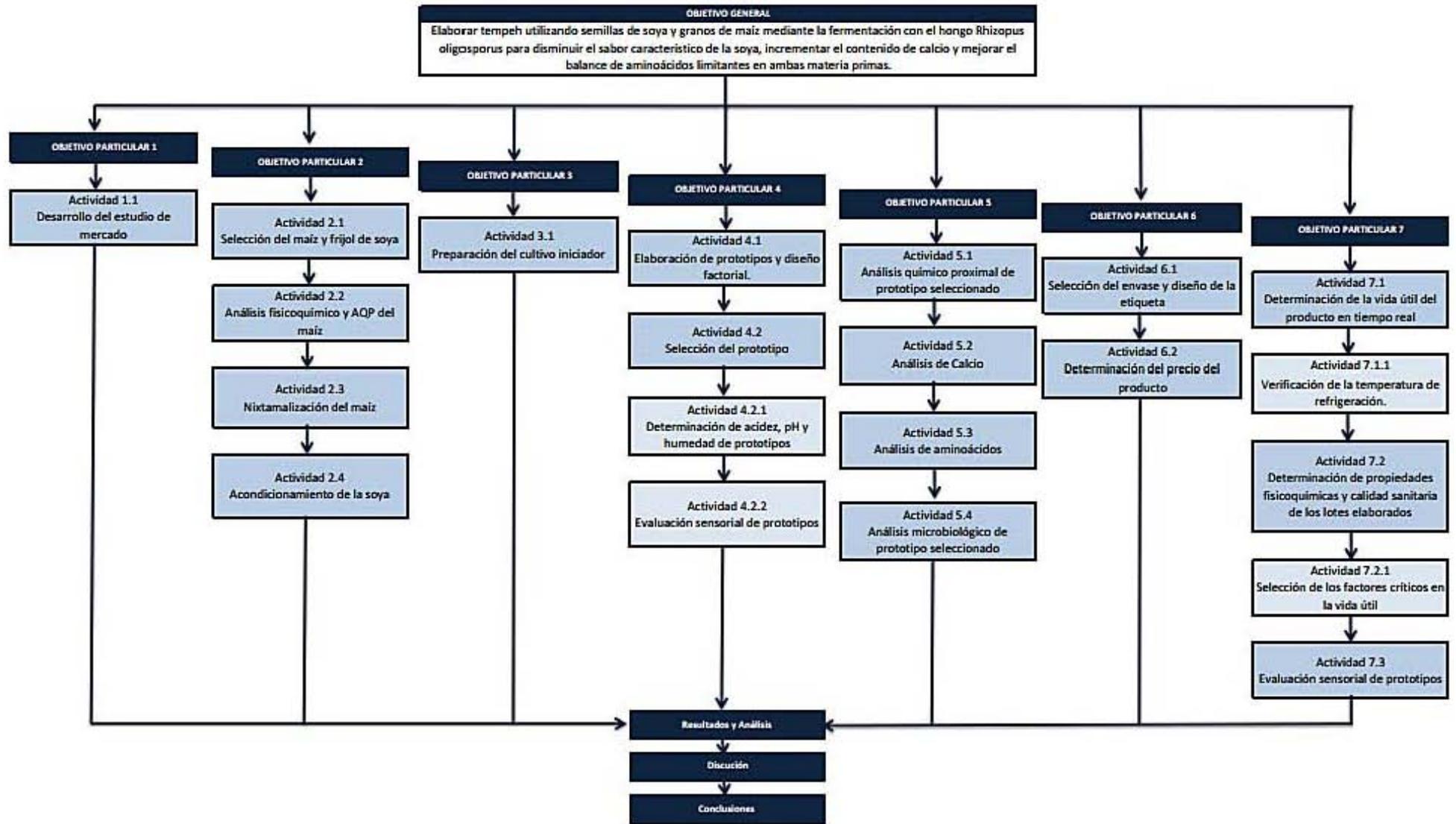
OBJETIVO GENERAL

Elaborar tempeh utilizando semillas de soya y granos de maíz mediante la fermentación con el hongo *Rhizopus oligosporus* para disminuir el sabor característico de la soya, incrementar el contenido de calcio y mejorar el balance de aminoácidos limitantes en ambas materia primas.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar un estudio de mercado para conocer la viabilidad comercial del producto a elaborar por medio de una encuesta a 50 personas del área de Atizapán, Tlalnepantla y Cuautitlán Izcalli.
2. Acondicionar las semillas, soya y maíz, mediante los procesos de cocción y nixtamalización respectivamente para la elaboración del tempeh.
3. Preparar un cultivo iniciador utilizando un medio de crecimiento sólido de arroz para la elaboración del tempeh.
4. Seleccionar un prototipo mediante pruebas fisicoquímicas, de humedad y sensoriales con jueces semi-entrenados a partir de un diseño factorial 2^3 , variando las proporciones de soya-maíz (80:20, 60:40), tiempo de fermentación (24 y 48 hrs) y concentración del inóculo (10^2 y 10^4 ufc).
5. Realizar al prototipo seleccionado un análisis químico proximal así como un análisis microbiológico mediante normas mexicanas vigentes y técnicas del AOAC, para corroborar las propiedades nutricionales y evaluar la calidad higiénica del tempeh elaborado.
6. Seleccionar el envase y diseñar la etiqueta del producto de acuerdo a las características del alimento y la normatividad vigente para su presentación y comercialización.
7. Estimar la vida útil del producto mediante un experimento escalonado en tiempo real a la temperatura de 4° C realizando pruebas de acidez, pH, humedad, calidad sanitaria y de evaluación sensorial.

2.2 CUADRO METODOLÓGICO



2.3 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

2.3.1.1 Desarrollo del estudio de mercado.

Para conocer la aceptación del producto, su mercado meta, la opinión de los consumidores hacia el producto y las necesidades del consumidor, se realizó una encuesta con 10 preguntas a 50 personas de entre 20 y 60 años de edad, en el área de Atizapán, Tlalnepantla y Cuautitlán Izcalli.

La encuesta, que se puede observar en la Figura 16, fue elaborada con preguntas dirigidas al sector de la población antes mencionado, buscando conocer la siguiente información:

- a) Si a la gente le gusta consumir productos de soya, ya que es nuestra materia prima principal
- b) Como nuestro producto es un producto existente con modificaciones en su formulación y proceso, nos interesaba saber si conocían el producto ya que en la ciudad de México existe competencia.
- c) Durante la encuesta se les dio una pequeña introducción de lo que es el tempeh para que conocieran sus beneficios y pudieran contestar las preguntas con mayor certeza.
- d) Uno de los objetivos del producto es que el consumidor pueda sustituir o complementar el consumo de carne por ello para calcular un aproximado del consumo semanal de nuestro producto, fue importante saber cuántas veces a la semana consumen carne.
- e) Así mismo se cuestionó si sustituirían el tempeh por la carne de su dieta.
- f) El tempeh al ser un producto fermentado tiene sabores fuertes, por ello se indago si determinados sabores como el queso añejo les gustaban y con qué tipo de picante les gustaría condimentar el producto.
- g) Otro de los aspectos importantes a conocer es cuanto estarían dispuestos a pagar por una porción de tempeh de 350 gr para poderle asignar un costo al producto.
- h) Y por último se les pidió a los encuestados que nos indicaran en donde suelen consumir productos vegetarianos para conocer en donde tenemos más mercado.

Debido a las propiedades nutricionales del Tempeh es bueno para todo público y para todas las edades, sobre todo para personas vegetarianas que quieren sustituir o complementar su dieta diaria de proteínas.

Para el análisis de los resultados de la encuesta, se realizó una gráfica de círculo para cada pregunta.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CHIAPITLÁN
INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Sexo: _____ Edad: _____

INSTRUCCIONES: Circule su respuesta.

1. ¿Consumen usted productos de soya?
a) Sí cuales _____ b) No
2. ¿Conoce usted el Tempeh?
a) Sí b) No
3. Sabía Usted que el Tempeh es un alimento fermentado de soya que contiene proteínas e isoflavonas. Las isoflavonas refuerzan los huesos, ayudan a aliviar los síntomas de la menopausia, reducen el riesgo de enfermedades coronarias del corazón y ciertos tipos de cáncer, además de que aumenta la resistencia del cuerpo a infecciones intestinales. ¿Comprende Usted el concepto?
a) Sí b) No
4. ¿Cuántas veces a la semana consume carne?
a) 1 - 3 b) 3 - 5 c) 5 - 7
5. Sabía que el Tempeh de soya con maíz contiene más proteínas que la carne, además de muchos beneficios para el organismo.
a) Sí b) No
6. ¿Le gustaría consumir Tempeh para sustituir o complementar las proteínas de la carne en su dieta diaria?
a) Sí b) No
7. ¿Le gustan los sabores fuertes, como a queso añejado?
a) Sí b) No
8. El producto va a ser condimentado, ¿con qué tipo de chile le gustaría condimentar el tempeh?
a) Chipotle b) Chile verde c) Guajillo
9. ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por una porción de tempeh condimentado de 350 gr?
a) 30-40 b) 40-50 c) 50-60
10. ¿Dónde suele consumir productos vegetarianos o de origen orgánico?
a) Tiendas naturistas b) tiendas departamentales c) farmacias

Figura 16. Encuesta para realizar el estudio de mercado.

2.3.2.1 Selección del maíz y frijol de soya

El objetivo de esta actividad fue elegir y seleccionar el maíz y el frijol de soya que presentarán buenas características para poder elaborar el tempeh. El maíz se compró a granel en el mercado de Tlalnepantla en el Estado de México, y se realizó un análisis selectivo por daños y defectos (DICONSA, S.A. DE C.V). Para la soya, se compraron empaques de 1 Kg de la empresa “Productos Selectos” en la tienda “El mundo de la Soya”.

- **Análisis selectivo por daños y defectos (DICONSA, S.A. DE C.V).**

Consiste en la identificación, separación y cuantificación del porcentaje de granos con daños, defectos y grado de mezcla de variedades en una muestra.

2.3.2.2 Análisis fisicoquímico y AQP del maíz

Se realizó un análisis químico proximal (AQP) y un análisis fisicoquímico (acidez y pH) al maíz en base a las normas establecidas para determinar si la materia prima cumple con las especificaciones bibliográficas.

Cada determinación se realizó por triplicado y a los resultados se les calculó; el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Análisis químico

- **Humedad**

Método rápido de la Termobalanza (NMX-F-428-1982)

La humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, el cual emplea una balanza de torsión sensible para pesar la muestra y una lámpara infrarroja para secar.

Equipo:

- Balanza de determinación de humedad equipada con una lámpara infrarroja de 250 W (Ohaus Mb25)

- **Proteína**

Método de Micro-kjeldahl (AOAC 960.52)

Se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El nitrógeno y el carbón de la materia orgánica se oxidan para formar agua y dióxido de carbono, El ácido sulfúrico se transforma en (SO₂), el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio. El amoníaco se libera después de la adición de hidróxido de sodio y se destila recibiendo en una solución saturada de ácido bórico, se titula el nitrógeno amoniacal con una disolución valorada de ácido, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra.

Equipo:

- Digestor y destilador MicroKjeldahl marca Labconco.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.

Cálculos:

$$\% \text{ Proteína} = \left(\left(\frac{(V-V_b) * N * 0.014}{P} \right) * 100 \right) (\text{Factor})$$

Dónde:

V = Volumen de HCl empleado en la titulación de la muestra (mL)

V_b = Volumen de HCl empleado en la titulación del blanco (mL)

N = Normalidad del HCl

0.014 = miliequivalente de nitrógeno

P = peso de la muestra (g)

Factor = 6.25

- **Cenizas**

Método Gravimétrico (NMX-F-066-S-1978)

Se basa en la destrucción de materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo.

Equipo

- Mufla, marca Blue M, Modelo M25A-2^a
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg, marca August Sauter Gmb HD-7470, Albstadt 1-Ebeingen.

Cálculos:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P-P_1}{P_2} * 100$$

Dónde:

P = Peso del crisol con las cenizas (g).

P₁ = Peso del crisol vacío (g).

P₂ = Peso de la muestra (g).

- **Fibra Cruda**

Método de Kennedy (Lees, 1982)

Se fundamenta en la digestión primero ácida y después alcalina donde se hidrolizan y solubilizan las proteínas, grasas y azúcares quedando como residuo la fibra.

Equipo:

- Digestor Labconco, modelo 30021-L
- Mufla, marca Blue M, modelo M25A-2^a
- Estufa eléctrica con control de temperatura (100 – 110 °C), marca MAPSA, modelo HDP-334

Cálculos:

$$\% \text{ fibra} = \frac{[(P1-P2)-(P3-P4)]}{P5} * 100$$

Dónde:

P1 = Peso del papel con fibra (g).

P2 = Peso del papel (g).

P3 = Peso del crisol con ceniza (g).

P4 = Peso del crisol (g).

P5= Peso de la muestra (g).

- **Grasa**

Método Soxhlet (NMX-F-089-S-1978)

La extracción de grasa de un alimento se lleva a cabo mediante la extracción continua de éter anhídrido o éter de petróleo previamente desecado, obteniéndose el total de grasa tras la evaporación del solvente.

Equipos:

- Digestor de soxhlet
- Balanza Sauter modelo GmbH D-7470

Cálculos:

$$\% \text{ grasa} = \frac{P-P1}{M} * 100$$

Dónde:

P = Peso del matraz con grasa (g).

P1= Peso del matraz (g).

M = Peso de la muestra (g).

Análisis fisicoquímico

- **Acidez Total**

Método titulación ácido-base (NMX-F-102-S-1978)

Su determinación se basa en una reacción de valoración mediante la cual se determina la cantidad de analito presente en una muestra problema por la adición de un volumen conocido de otra sustancia de concentración conocida (valorante), que es necesario para reaccionar completamente con dicho analito.

Cálculos:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{G * N * F}{p} * 100$$

G = Gasto de NaOH (ml).

N = Normalidad del NaOH.

F = Miliequivalentes del ácido en términos del cual se expresa la acidez sabiendo que 1ml de la solución 0.1N de hidróxido de sodio equivale a 0.064g de ácido cítrico

P = Peso de la muestra (g).

• **pH en alimentos**

Método por Potenciómetro (NMX-F-317-S-1978)

Está basado en la medición de la fuerza electromotriz (fem) de un acelda galvánica utilizando un par de electrodos. Uno de los electrodos es de referencia ya que mantiene un potencial constante, mientras que el otro es de medida o indicador, debido a que su potencial depende de la composición de la solución electrolítica.

Equipos:

- Potenciómetro, Conductronic pH 120

2.3.2.3 Nixtamalización del maíz

Se seleccionaron las condiciones adecuadas para la nixtamalización, tales como la concentración de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, el tiempo de cocción del maíz (NMX-FF-034/1-SCFI-2002) y el tiempo de reposo después de la cocción. Así como las condiciones para el acondicionamiento de la soya; tiempo de remojo y cocción del frijol a partir del diagrama del tempeh tradicional, el cual se encuentra en el capítulo 1 punto 1.4.4 Elaboración del tempeh.

Se determinó la dureza para los granos de maíz, para conocer la calidad de nixtamalización que tiene el maíz de acuerdo al tiempo de cocción en el medio alcalino, indirectamente relacionada con la dureza del grano por medio del índice de flotación y la cantidad de agua absorbida por el maíz, el pericarpio remanente y la pérdida de materia seca.

Este método se basa en el principio de que los granos duros son de mayor densidad y por lo tanto tales granos flotan en menor cantidad que los granos de menor densidad, en la solución de nitrato de sodio al 1,25 g/ml de densidad, para obtener esta solución se ajusta a una concentración de nitrato de sodio del 41 %, sin embargo esta concentración puede variar de acuerdo a la pureza del reactivo.

Para realizar la evaluación se tomaron 100 granos limpios (libres de impurezas) y se vertieron en 350 mL de la solución de nitrato de sodio previamente preparada, después de 1 minuto se tomó la lectura y el número de granos que ascendieron a la superficie se usó como el índice de flotación. Este procedimiento se repitió 3 veces (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

En la Tabla 14. Podemos observar la relación de la cantidad de granos flotantes con la clasificación de dureza y el tiempo de cocción para cada situación, el análisis se realizó por triplicado.

Tabla 14. Índice de dureza del grano de maíz y tiempo de nixtamalización.

GRANOS FLOTANTES	DUREZA	TIEMPO DE COCCIÓN (MIN)
0-12	Muy duros	45
12-37	Duros	40
38-62	Intermedios	35
63-87	Suaves	30
88-100	Muy suaves	25

Fuente: (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

Se llevó a cabo la Nixtamalización del maíz, en donde por cada 500 gr de maíz se utilizaron, 2 L de agua y 2.5 gr de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. (García, 2004), además de realizar una cocción de 60 minutos en olla de presión, este tiempo fue definido a partir de la determinación de dureza de los granos de maíz que se encuentra en el punto anterior (NMX-FF-034/1-SCFI-2002). Posterior a la cocción se dejó reposar el nixtamal (maíz después de la nixtamalización) por 18 horas en la solución del nejayote, al terminar el tiempo de reposo, el nixtamal fue descascarillado y lavado para eliminar algunos componentes orgánicos como el pericarpio, el germen, fracciones del endospermo y el exceso del calcio, por último el maíz nixtamalizado fue decantado y troceado, para eliminar el exceso de agua a la hora de realizar el proceso de mezclado e inoculación (Figura 17).

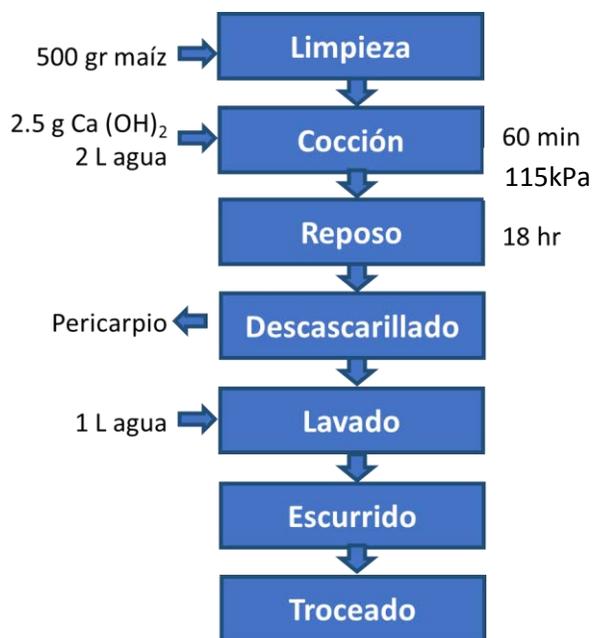


Figura 17. Nixtamalización del maíz (Fuente: NMX-FF-034/1-SCFI-2002)

2.3.2.4 Acondicionamiento de la soya

El acondicionamiento de la soya se determinó a partir del proceso tradicional de elaboración del tempeh, reportado (Shurtleff y Aoyagi, 2001; Dinesh *et al.*, 2009; Sanjukta and Kumar, 2016) para el cual se definió un remojo de 18 horas lo que provoca que la semilla aumente el doble de su tamaño con la absorción del agua, además de facilitar el descascarillado, posteriormente se realizó un lavado y una cocción de 30 minutos en olla de presión (Figura 18). Una vez que ambos granos pasaron por los procesos antes mencionados, se realizó un mezclado de la soya con el maíz en las proporciones definidas en la Tabla 12: cuadro de variables para la elaboración del tempeh (80:40, 60:40, soya:maíz). La mezcla se acidificó con 25 mL de ácido acético para disminuir el pH del medio a un rango de entre (4-5). Posteriormente se realizó la inoculación con el cultivo iniciador y la incubación se llevó a cabo a 31°C por 24 y 48 hrs, terminando el tiempo de incubación el tempeh fue envasado en bolsas de plástico al vacío y se mantuvo en refrigeración, Figura 19.

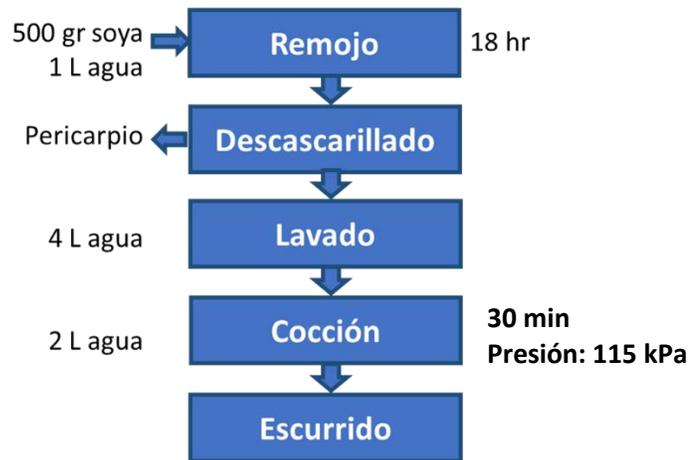


Figura 18. Acondicionamiento de la soya.



Figura 19. Diagrama de proceso tempeh tlayoli.

2.3.3.1 Preparación del cultivo iniciador

Inicialmente se llevó a cabo la reactivación del hongo *Rhizopus oligosporus* para establecer las condiciones de crecimiento y posteriormente preparar el cultivo iniciador.

Con el fin de verificar la pureza del moho liofilizado, se resuspendió 1 azada del microorganismo liofilizado en 5 mL de agua destilada estéril y se sembró 1 mL de esta dilución en agar papa dextrosa, posteriormente se incubó a una temperatura de 34°C durante 18 horas.

Se preparó el cultivo iniciador a partir de un sustrato sólido. Para ello fueron remojados 150 gramos de arroz con 2 litros de agua a 80 °C durante 1 hora. Posteriormente el arroz fue lavado con 2 litros de agua a temperatura ambiente y se llevó a cabo una cocción durante una hora a temperatura de ebullición. El arroz cocido y escurrido fue inoculado con esporas del

moho *Rhizopus oligosporus* resuspendidas en 10 ml de agua estéril, una vez inoculadas en el arroz, éste fue incubado durante 72 horas a 31°C. A continuación el arroz fue secado a 50°C durante 48 horas y finalmente fue triturado en mortero para obtener el cultivo iniciador. La pureza del microorganismo en el cultivo fue evaluada mediante su crecimiento en placas de agar papa dextrosa acidificado, la concentración en el cultivo iniciador fue de 10^4 ufc/gr.

Para preparar los inóculos se resuspendieron 0.5 gramos del cultivo iniciador en 50 mL de agua estéril y con esta se inocularon cajas de agar papa dextrosa, las cuales fueron incubadas durante 72 horas a 35°C. Una vez transcurrido ese tiempo, el moho fue cosechado y resuspendido en agua estéril con lo cual se obtuvieron inóculos de 10^6 - 10^7 ufc/mL para la elaboración del tempeh.

2.3.4.1 Elaboración de prototipos y diseño factorial.

Se elaboraron los diferentes prototipos propuestos (Tabla 15). Los cuales fueron elaborados mediante el proceso descrito en la Figura 19. De los ocho prototipos fue seleccionado el mejor prototipo mediante pruebas fisicoquímicos (acidez, pH y humedad) y sensoriales con jueces semi-entrenados.

Una vez seleccionada las condiciones adecuadas de la soya y el maíz, se elaboraron 8 prototipos de acuerdo al diseño factorial 2^3 mostrado en la Tabla 15. Fueron incubados a 31°C, 50 gr de mezcla de granos utilizando las proporciones de soya-maíz 80:20 y/o 60:40, se utilizaron tiempos de incubación de 24 y/o 48 hrs, la concentración del inóculo fue de 10^6 y/o 10^7 ufc, y se realizaron 3 réplicas por cada prototipo.

Tabla 15. Cuadro de variables para la elaboración del tempeh.

Factor de variación	Nivel de variación	Réplicas	Variables de respuesta	Técnicas y métodos	Análisis estadístico
Concentración Soya-maíz	80-20 60-40	3	Acidez pH Humedad Atributos sensoriales	Titulación ácido-base Potenciómetro Termobalanza Pruebas sensitivas de diferenciación	Factorial 2^3
Tiempo de fermentación (hr)	24 48	3			
Concentración del inóculo (mL)	1Ml 2Ml	3			

2.3.4.2 Selección del prototipo

Determinación de acidez, pH y humedad de prototipos

Cómo variables de respuesta se determinaron los análisis fisicoquímicos; humedad por termobalanza (NMX-F-428-1982), acidez por titulación ácido-base (NMX-F-102-S-1978) y pH por potenciómetro (NM-F-317-S-1978), siguiendo la metodología descrita en el objetivo

particular 2, para seleccionar el prototipo que se acerque más a los parámetros fisicoquímicos del tempeh tradicional.

Evaluación sensorial de prototipos

Se realizó una prueba descriptiva de ordenamiento con 50 jueces semi-entrenados en la cual cada juez tenía que ordenar 4 muestras en forma decreciente para cada uno de los atributos que se evaluaron (sabor, olor, color y dureza), con el fin de seleccionar el prototipo que sea de mayor preferencia para los encuestados.

Los jueces empleados fueron alumnos de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán campo 1, que tuvieran conocimientos previos de evaluación sensorial.

A los resultados obtenidos en la evaluación sensorial se les aplicó un análisis estadístico en Excel por medio de una gráfica radial para observar el efecto de los atributos sobre los prototipos.

En la Figura 20. Se puede observar el formato de la encuesta aplicada.

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

NOMBRE _____ FECHA _____

NOMBRE DEL PRODUCTO _____

Frente a usted hay 4 muestras de Tempeh que usted debe ordenar de forma creciente de acuerdo a sus diferentes atributos, sabor, olor, color, dureza.

Cada muestra tiene que tener un orden diferente, dos muestras no deben tener el mismo orden.

ORDEN DE LAS MUESTRAS	GRADO DE;			
	SABOR	OLOR	COLOR	DUREZA
La que más me gusta	1. _____	1. _____	1. _____	1. _____
↓	2. _____	2. _____	2. _____	2. _____
	3. _____	3. _____	3. _____	3. _____
La que menos me gusta	4. _____	4. _____	4. _____	4. _____

Figura 20. Formato de la encuesta de evaluación sensorial.

2.3.5.1 Análisis químico proximal de prototipo seleccionado

Se llevó a cabo un análisis químico proximal al prototipo seleccionado para determinar la composición química del tempeh y un análisis microbiológico para evaluar la calidad higiénica del producto. Todos los análisis se realizaron por triplicado y bajo las normas mexicanas vigentes y técnicas del AOAC.

Las técnicas de: humedad por termobalanza (NMX-F-428-1982), proteínas por método de MicroKjeldahl (AOAC 960.52), cenizas por método de klemm (NMX-F-066-S-1978), fibra dietética por método de Kennedy (Lees, 1982), grasa por Soxhlet (NMX-F-089-S-1978), acidez por titulación ácido-base (NMX-F-102-S-1978) y pH por potenciómetro (NM-F-317-S-1978), se realizaron siguiendo la metodología descrita del objetivo particular 2.

2.3.5.2 Análisis de calcio

Se realizó el análisis de calcio para conocer el aumento de este mineral en el tempeh, debido a que el maíz que se utilizó para la mezcla fue nixtamalizado, en comparación del tempeh tradicional que únicamente contiene soya.

La determinación de calcio en el tempeh se realizó mediante el método descrito por la norma NMX-AA-072-SCFI-2001. El método se basa en la formación de complejos por la sal disódica del ácido Etilendiaminotetraacético con los iones calcio y magnesio. Consiste en una valoración empleando un indicador visual de punto final, el negro de eriocromo T, que es de color rojo en la presencia de calcio y magnesio y vira a azul cuando estos se encuentran acomplejados o ausentes. El complejo del EDTA con el calcio y el magnesio es más fuerte que el que estos iones forman con el negro de eriocromo T, de manera que la competencia por los iones se desplaza hacia la formación de los complejos con EDTA desapareciendo el color rojo de la disolución y tornándose azul.

Se preparó una muestra de modo que el contenido de calcio oscile entre 5 y 10 mg. Para ello, fueron incinerados en mufla a 500°C 10 g de tempeh y las cenizas obtenidas se resuspendieron en 25 ml de agua destilada (Solución “A”).

Para la valoración se prepararon y valoraron diluciones a partir de la muestra resuspendida anterior. La valoración se llevó a cabo con EDTA valorado (0.0192M), ajustando el pH con Buffer de amoníaco pH 9.5, se utilizó el Indicador NET (negro de eriocromo T).

Cálculos

$$\text{Dureza total expresada como CaCO}_3 \text{ (mg/L)} = \frac{(A-B) \times C \times 1,000}{D}$$

Donde:

- A son los mL de EDTA gastados en la titulación en la muestra.
- B son los mL de EDTA gastados en la titulación en el blanco (fí fue utilizado)
- C son los mg de CaCO₃ equivalentes a 1 mL de EDTA
- D son los mL de muestra

La dureza total se expresa como mg/L CaCO₃ con la precisión correspondiente.

2.3.5.3 Análisis de aminoácidos

Esta actividad se llevó a cabo debido a la importancia de conocer la cantidad y el tipo de aminoácidos presentes en el tempeh, al ser un producto compuesto a partir de una leguminosa

y un cereal, teóricamente esta mezcla proporciona una proteína más completa similar a la de la carne.

Para determinar el perfil de aminoácidos, se preparó una muestra de 1 Kg de tempeh el cual fue deshidratado a temperatura de 70°C durante 72 horas.

Esta muestra fue enviada a la empresa Evonik Degussa Mexico (1643), AMINO Lab. Para su análisis, el cual se basa en los métodos cromatográficos clásicos.

2.3.5.4 Análisis microbiológico de prototipo seleccionado

Se realizó un análisis microbiológico para evaluar la calidad higiénica del producto a partir de microorganismos indicadores, ya que su detección en el laboratorio es más sencilla y advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos.

Para el análisis microbiológico del prototipo se determinaron: bacterias aerobias (NOM-092-SSA1-1994), coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994) y, mohos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994).

Para la preparación de la muestra se diluyeron 10 gr de tempeh en 90 mL de agua, de la cual se tomó 1 mL con pipeta estéril y se transfirió a un tubo con 9 mL de diluyente, esto se realizó de la misma forma para las siguientes 2 diluciones, en total se realizaron 3 diluciones con replica para cada análisis.

A continuación se sembró 1 mL de cada dilución en cajas Petri y se vertió el medio previamente preparado.

CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA (NOM-092-SSA1-1994)

Estima la cantidad de microorganismos viables presentes en un alimento, agua potable y agua purificada, por la cuenta de colonias en un medio sólido, incubado aeróbicamente.

El fundamento de la técnica consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores.

Medio de Cultivo.

Agar Tripton-Extracto de Levadura (agar para cuenta estándar).

Temperatura y tiempo de incubación

Mesofílicos aerobios* 35 ± 2°C 48 ± 2 h

Expresión de resultados

Después de la incubación, contar las placas que se encuentren en el intervalo de 25 a 250 colonias. Las placas de al menos una de tres diluciones deben estar en el intervalo de 25 a 250. Calcular la cuenta promedio por gramo o mililitro de dicha dilución y reportar.

Después de contabilizar las colonias en las placas seleccionadas, multiplicar por la inversa de la dilución para obtener el número de UFC por mililitro o gramo de la muestra.

Informe de la prueba

Reportar como: Unidades formadoras de colonias, ___ UFC/g o ml, de bacterias aerobias en placa en agar triptona extracto de levadura o agar para cuenta estándar, incubadas _____ horas a _____ °C.

CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTO (NOM-111-SSA1-1994))

Determina el número de mohos y levaduras viables presentes en productos destinados al consumo humano por medio de la cuenta en placa.

El método se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3,5 e incubado a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos.

Medio de cultivo

- Agar papa - dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada.
Acidificar a un pH de $3,5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10%

Temperatura y tiempo de incubación

Temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 5 días

Expresión de resultados

Considerar las cuentas de placas con 10 a 150 colonias como las adecuadas para el informe. Multiplicar por el inverso de la dilución, tomando en consideración los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa, para la expresión de resultados.

Informe de la prueba

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de mohos en agar papa - dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días

CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA (NOM-113-SSA1-1994)

Determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en productos alimenticios por medio de la técnica de cuenta en placa.

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares

Reactivos

- Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA)

Acidificar a un pH de $7.5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10%.

Temperatura y tiempo de incubación

Temperatura de 35°C , 24 horas

Expresión de resultados

Placas que contienen entre 15 y 150 colonias características. Contar las colonias presentes. Calcular el número de coliformes por mililitro o por gramo de producto, multiplicando el número de colonias por el inverso de la dilución correspondiente, tomando los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.

Informe de la prueba

Informar: UFC/g o ml en placa de agar rojo violeta bilis, incubados a 35°C durante 24 ± 2 h.

En caso de emplear diluciones y no observar crecimiento, informar utilizando como referencia la dilución más baja utilizada, por ejemplo dilución 10-1.

En caso de no observar crecimiento en la muestra sin diluir se informa: "no desarrollo de coliformes por ml".

2.3.6.1 Selección del envase y diseño de la etiqueta

Para la selección del envase se consideraron las características fisicoquímicas y sensoriales del producto que se quieren conservar, como la humedad, el sabor, color y la consistencia, además de elegir no permitiera el crecimiento del microorganismo con la finalidad de aumentar su vida de anaquel (Shurtleff y Aoyagi 2001). También se consideró la disponibilidad del envase, el precio y que fuera transparente para que el consumidor pueda ver el producto, ya que al ser nuevo, es difícil que la gente se imagina sus características.

En cuanto a la etiqueta se siguieron las especificaciones de las normas oficiales mexicanas: NOM-051-SCFI-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados, y el “MANUAL DE ETIQUETADO FRONTAL NUTRIMENTAL” de la COFEPRIS, en la Figura 21 se muestra un ejemplo de las pilas que se deben incluir el envase con la información nutrimental que aporta el producto. Otra norma que se tomó en cuenta para el desarrollo de la etiqueta fue la NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. “Alimentos y Bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición, Especificaciones nutrimentales”.



Figura 21. Ejemplo de la declaración por envase. (Fuente: NOM-086-SSA1-1994).

En la etiqueta también se incluirá la marca, logotipo, imagen del producto, explicación corta del alimento, frases llamativas sobre el mismo y sugerencias de uso.

2.3.6.2 Determinación del precio del producto

Se determinó el precio a partir de los costos del producto: materia prima, envase, etiqueta, un estimado de luz, gas, agua y mano de obra.

Otro de los parámetros fue el precio de la competencia, se estima que al tener un aporte mayor de nutrientes, tempoh “tlayolli” va a tener un precio más elevado que el de la competencia.

2.3.7.1 Determinación de la vida útil del producto en tiempo real

La vida útil de un producto depende de varios factores como la temperatura, la humedad, la manipulación, el proceso térmico al que es sometido, la calidad de la materia prima entre otras cosas, por tal motivo para la determinación de vida útil es necesario controlar todos estos factores.

Se estimó la vida útil del producto mediante un experimento escalonado durante 15 días, obteniendo 7 lotes al finalizar, cada dos días se almacenó un lote en el refrigerador a la temperatura de 4°C en tiempo real.

En la Figura 22. Se observan una gráfica en donde indica el tiempo que permanecieron almacenados los 7 lotes, el lote que permaneció más tiempo en almacenamiento fue el LOTE 1 con 15 días terminando con el LOTE 7 que no permaneció en almacenamiento.



Figura 22. Almacenamiento de los lotes para determinación de vida útil.

Verificación de la temperatura de refrigeración.

Durante el experimento los lotes se almacenaron a una temperatura de 4 °C, por lo tanto se verificó que la temperatura del refrigerador estuviera estandarizada, asegurando la misma temperatura en todos los puntos.

Se utilizaron 4 termómetros, los cuales se colocaron en 4 puntos distintos del refrigerador dos en cada extremo de la parte superior y 2 en los dos extremos de la parte inferior, se tomaron 4 lecturas una cada hora.

Para garantizar la estandarización de la temperatura del refrigerador la temperatura de los 4 termómetros tiene que ser la misma.

2.3.7.2 Determinación de propiedades fisicoquímicas y calidad sanitaria de los lotes elaborados

Selección de los factores críticos en la vida útil

Los factores críticos se determinaron a partir de las reacciones fisicoquímicas que presenta el producto. El pH y la acidez, en esta experimentación se utilizaron como variables de

respuesta del estudio de vida útil, ya que fueron las variables que pueden presentar mayor cambio en el tempeh, debido a la fermentación del producto que a mayor tiempo, la acidez aumenta y el pH disminuye; además se determinó la humedad por termobalanza. Dichas determinaciones se realizaron siguiendo la metodología descrita del objetivo particular 2 (NM-F-317-S-1978, NMX-F-102-S-1978, NMX-F-428-1982) y se evaluaron a través de tablas y gráficas en el programa Excel.

Para corroborar la calidad sanitaria de los lotes del producto se determinó: cuenta de bacterias aerobias en placa (NOM-092-SSA1-1994), cuentas de mohos y levaduras en alimentos (NOM-111-SSA1-1994), cuenta de microorganismos coliformes totales en placa (NOM-113-SSA1-1994).

2.3.7.3 Evaluación sensorial de prototipos

Se realizó un análisis sensorial de aceptación a 50 jueces semi-entrenados, alumnos de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la FES Cuautitlán, en el cual a través de una encuesta (Figura 23), cada juez tenía que probar las 7 muestras, las cuales se encontraban codificadas, y marcar para cada muestra una “X”, en la sección de me gusta o no me gusta dependiendo el caso, para definir hasta que lote los jueces aceptan el producto.

En las encuestas se les preguntó su nombre, el su sexo, además de indicarles las instrucciones para realizar la degustación.

Los resultados de la encuesta se analizaron estadísticamente por mediante el programa R, en el cual se utilizó el modelo loglogistic, para obtener el % de rechazo y además el tiempo de vida útil.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Nombre: _____ Sexo: F M

INSTRUCCIONES: Frente a usted se encuentra un set de 7 muestras, pruebe de izquierda a derecha y marque con una X la característica que mejor describa su opinión.

# Muestra	Me gusta	No me gusta
67452		
95634		
59025		
9153		
96354		
10824		
30928		

MUCHAS GRACIAS!!!!

Figura 23. Encuesta de evaluación sensorial para la determinación de vida útil.

CAPÍTULO III RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1.1 Desarrollo del estudio de mercado

Este estudio se realizó con la finalidad de conocer la aceptación del producto en el mercado, para calcular el precio y para conocer la opinión de los consumidores. Debido a que el tempeh es un producto poco conocido por la población mexicana, se les dio a los encuestados una pequeña introducción de lo que es el tempeh y sus propiedades nutritivas, a continuación se muestra la introducción:

“Sabía usted que el tempeh es un alimento fermentado de soya que contiene proteínas e isoflavonas, las isoflavonas refuerzan los huesos, ayudan a aliviar los síntomas de la menopausia, reducen el riesgo de enfermedades coronarias del corazón y ciertos tipos de cáncer, además de que aumentan la resistencia del cuerpo a infecciones intestinales.”

Los resultados obtenidos en el estudio de mercado mostraron que si bien la mayoría de la población (de entre 20 y 60 años) carece de conocimientos del tempeh y sus beneficios (Figura 24), el 58% indicó que si conocen las ventajas que existen al consumir la mezcla de una leguminosa con un cereal, en este caso, la soya con el maíz, que representa una mejora en el balance de aminoácidos (Figura 25).

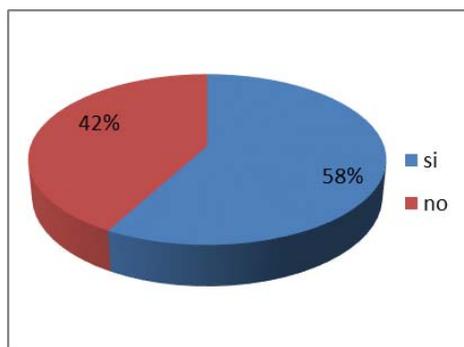


Figura 24. Personas que conocen los beneficios al mezclar una leguminosa con un cereal

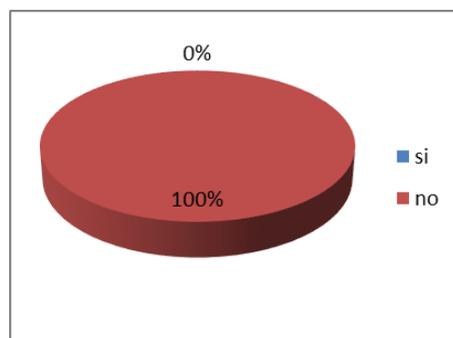


Figura 25. Personas que conocen los beneficios del tempeh

Después de informales a los encuestados sobre las propiedades y beneficios que se consiguen al consumir el tempeh, se observó que el 90% de los encuestados entendió el concepto y mostraron interés en consumirlo para complementar su dieta diaria de proteínas (Figura 26), e incluso un 70% indicó que le gustaría sustituir la carne por el tempeh (Figura 27), esto favorece al producto debido a que el 48% mencionó que consume carne de 1 a 3 veces por semana y un 42% de 3 a 5 veces (Figura 28), el 62 % conoce algunos productos derivados de la soya (Figura 29), sin embargo, no conocen algún producto que posea las características y propiedades del tempeh (Figura 30). Estos productos derivados de la soya, son adquiridos principalmente en tiendas naturistas y departamentales (Figura 31), esto nos da una idea del punto de venta en el cual se puede lanzar el Producto.

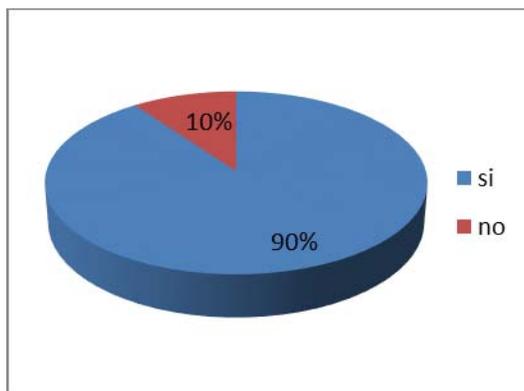


Figura 26. Encuestados que entendieron los beneficios del tempeh.

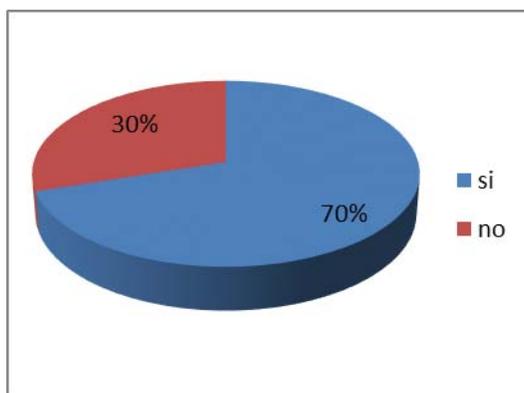


Figura 27. Encuestados que les gustaría sustituir la carne de su dieta por el tempeh

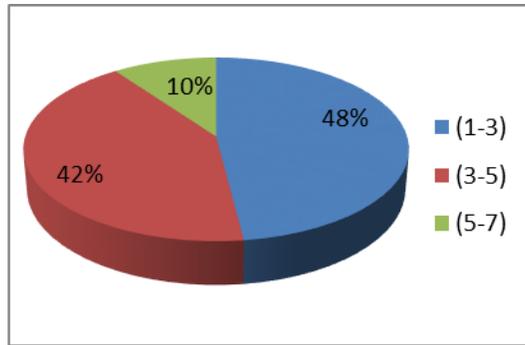


Figura 28. Gráfico semanal del consumo de carne

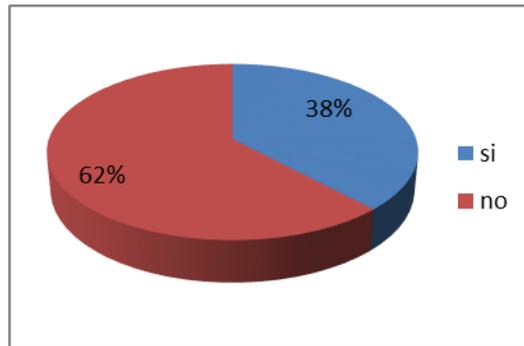


Figura 29. Encuestados que conocen productos de la soya

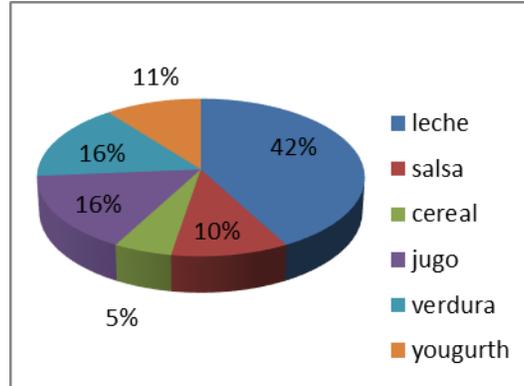


Figura 30. Productos de la soya y vegetarianos conocidos por los encuestados

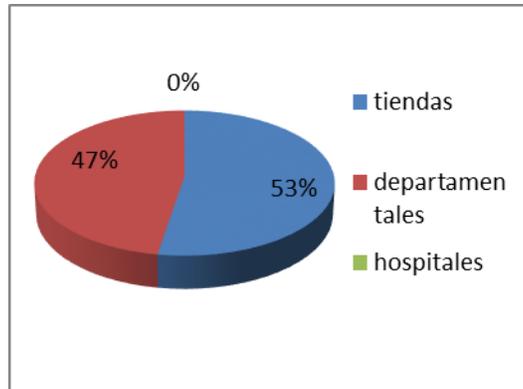


Figura 31. Lugares donde los encuestados compran sus productos derivados de la soya

El 80% de los encuestados contestó que sí les gustaría condimentar el tempeh y el condimento elegido fue el chile. (Figura 32) Se les sugirió 3 tipos de chile y el 50% eligió el chipotle (Figura 34).

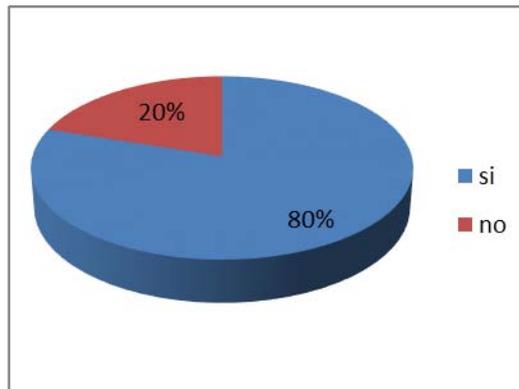


Figura 32. Encuestados que prefieren el tempeh condimentado

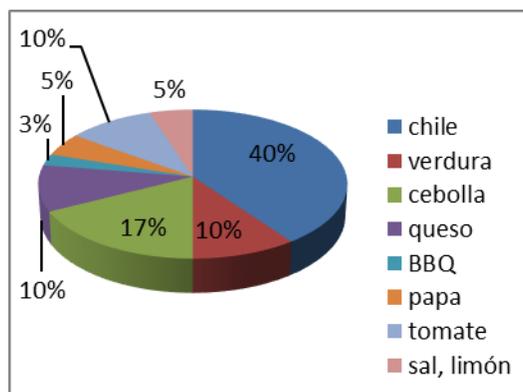


Figura 33. Condimentos sugeridos por los encuestados

Por último se les preguntó cuánto estarían dispuestos a pagar por una porción de tempeh de 350gr, el 154% de los encuestados contestaron que pagarían un precio de 30 a 40 pesos, argumentando que al no ser carne ni un derivado tendría que ser más económico, aunque un

30 % estuvo de acuerdo en pagar de 40 a 50 pesos debido a los beneficios que el tempeh presenta y por el valor agregado del producto. (Figura 35)

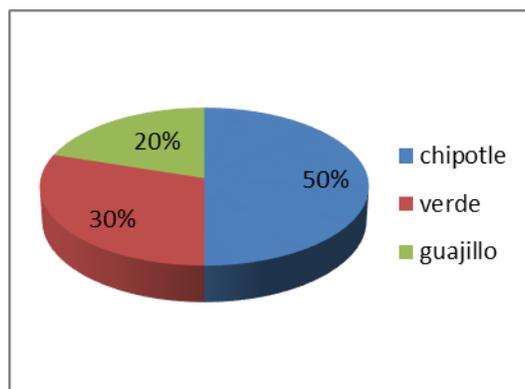


Figura 34. Chile que les gustaría adicionar al tempeh

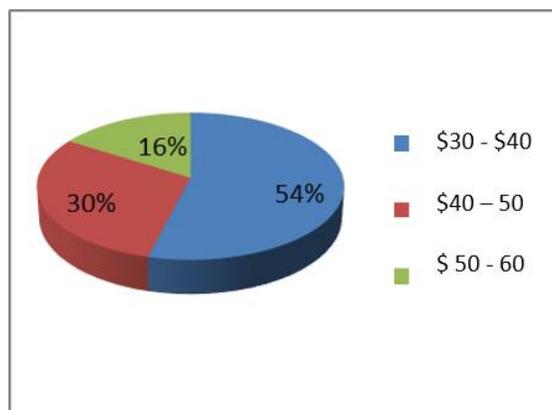


Figura 35. Precio que pagarían por una porción de 350 gr de tempeh

De acuerdo a este estudio realizado, se puede observar que los encuestados están interesados en consumir un producto que tenga beneficios para la salud y que sea económico adquirirlo, especialmente para las mujeres, ya que debido al contenido de isoflavonas, es un producto que alivia los malestares en la etapa del climaterio. (Nakajima *et. al*, 2005). También se mostró interés por parte de las personas que quieren sustituir o complementar su consumo diario de proteínas. La gente está descubriendo la versatilidad y el sabor delicioso del tempeh. Especialmente los vegetarianos encuentran que la soya tiene una estructura rica en proteínas muy interesante (tempeh info, 2008; Galbis, 2012).

Los productos alimenticios fermentados constituyen una parte importante de la dieta en los países en desarrollo y el Lejano Oriente. En Occidente, con las excepciones de pan, queso, embutidos y alimentos fermentados se han desvanecido en gran medida a un segundo plano con el arribo de las tecnologías modernas tales como la refrigeración. Sin embargo, hay un renovado interés en los alimentos fermentados tradicionales en los últimos tiempos,

impulsado principalmente por los supuestos beneficios a salud de los alimentos fermentados, como vehículos de los organismos probióticos y metabolitos que promueven la salud. Los alimentos fermentados se están promoviendo actualmente para prevenir o curar una serie de enfermedades desde la obesidad hasta el cáncer. Las conclusiones de recientes modelos in vitro y en animales, así como estudios de intervención humana, apoyan algunas de estas afirmaciones (Netsanet, 2016).

3.2.1 Selección del Maíz y Frijol de Soya

Debido a que el maíz fue adquirido a granel, no se encontraba limpio, por lo tanto fue necesario realizar un análisis selectivo por daños y defectos siguiendo las instrucciones del Manual de Muestreo y Análisis de Maíz, Frijol y Arroz (DICONSA, S.A. DE C.V.) esto para asegurar la calidad del maíz a utilizar en el proceso de acuerdo al análisis antes mencionado. Para el cual se realizó un balance de materia, que se puede observar en la Figura 36, en el cual fueron separados los granos dañados que presentaron modificaciones en sus características a tal punto de ser objetables para su consumo, como daño por hongos, calor, por insectos, granos podridos, etc., además de eliminarse la basura, piedras y cualquier agente externo al maíz (DICONSA, S.A. DE C.V.).

Existen dos factores que pueden provocar daños y defectos en el maíz, factores ambientales y factores genéticos, la variación ambiental es aquella atribuida a factores que no dependen del origen del grano y la variación genética es la que depende del origen o constitución genética de la planta de tal manera que al reproducirse transmiten sus características a la descendencia (Carballo y Hernández 2013).

De 5 kg que se compraron, quedaron 4.8133 kg de maíz considerado como limpio y apto para el proceso de tempeh, el resto del total que se obtuvo 0.18670 kg se consideró como basura, entre piedras, material extraño y grano dañado que no cumplieron con las características definidas por el análisis.

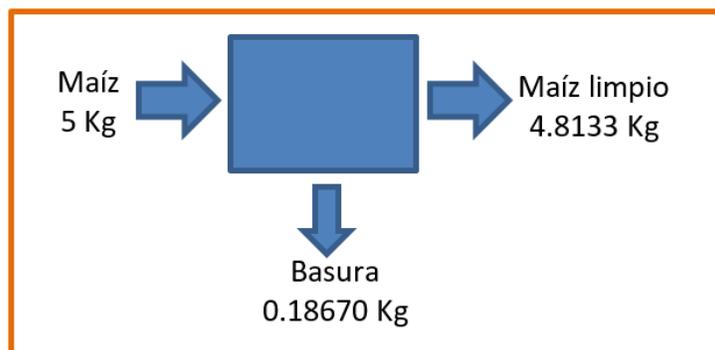


Figura 36. Cuadro de balance para limpieza del maíz

En el caso de la soya no fue necesario realizar una limpieza debido a que fue comprada en empaques de 1 Kg, de la empresa “Productos Selectos” en la tienda “El mundo de la Soya”. El cual ya se encontraba limpio, libre de agentes extraños y granos de soya dañados.

1.2.2 Análisis fisicoquímico de la soya y del maíz y AQP del maíz.

Se realizó un análisis químico proximal únicamente para el maíz, debido a que fue comprada a granel y no se contaba con la información nutrimental para verificar que el material es apto para consumo y si coincide con los datos bibliográficos, en el caso de la soya no fue necesario realizar análisis químico proximal debido a que el empaque ya contaba con la información nutrimental del producto.

En la Tabla 13, se puede observar la información nutrimental de las materias primas, soya y maíz. En el caso del maíz se observa que los carbohidratos son los que se encuentran en mayor proporción, con un resultado de 69.76% que es similar al valor de referencia 64.2% (Souci *et al.*, 2008), con tan solo 5% de diferencia entre ambos datos, y las cenizas son las que representan la menor proporción de la composición nutrimental 1.56%, coincidiendo con el dato bibliográfico de 1.3% (Souci *et al.*, 2008).

Los resultados de fibra 2.86% son los que presentaron mayor diferencia porcentual en comparación al valor teórico 9.71% (Souci *et al.*, 2008), el valor teórico presenta un 6.84% más de fibra en comparación al valor experimental obtenido por el método de Kennedy, el dato obtenido por este método es el resultado de fibra cruda, la fibra cruda es el residuo de cenizas que resulta de la digestión ácida y alcalina de la muestra (Lees, 1982), en comparación al dato teórico que representa el valor de fibra que es la suma de la fibra cruda y la fibra soluble, sin embargo si comparamos el resultado de fibra 2.86% con respecto al dato reportado por la FAO 2.7% fibra cruda los valores son similares (FAO, 2012).

En el caso de la soya al comparar la información nutricional del empaque con los datos reportados (Badui, 1993; Souci *et al.*, 2008), se observó valores similares en proteína y grasa, en cuanto a humedad, fibra y cenizas, el empaque no contaba con esa información, por lo tanto no fue posible realizar una comparación con respecto a la referencia citada, en cuanto al contenido de carbohidratos reportado en el empaque (33.5%), se observó una diferencia significativa con respecto al dato reportado por (Souci *et al.*, 2008) (6.28%), analizando los datos antes mencionados podemos considerar que lo reportado en el empaque está considerando el porcentaje de carbohidratos y de fibra como un total, lo que corresponde con la suma del dato de fibra y carbohidratos del autor (Tabla 16).

Tabla 16. Composición nutrimental del maíz y la soya.

Análisis	Maíz (%)				Soya (%)		
	Método	\bar{X}	S	C.V.	(Souci <i>et al.</i> , 2008)	Información de empaque	(Souci <i>et al.</i> , 2008)
HUMEDAD	Termobalanza (NMX-F-428-1982)	15.00	0.50	3.33	17	-	11
PROTEÍNA	MicroKjeldahl (AOAC 960.52)	7.29	0.18	2.49	8.03	34.1	34.9
FIBRA	Kennedy (Lees, 1982)	2.87	1.64	5.72	9.71	-	22
GRASAS	Soxhlet (NMX-F-089-S-1978)	3.51	0.17	4.95	3.80	17.7	18.3
CENIZAS	Klemm (NMX-F-066-S-1978)	1.56	0.53	3.71	1.30	-	4.6
CHOS	Diferencia	69.77			64.20	33.5	6.29

También se determinó acidez y pH para el maíz y la soya. El pH del grano nos da una idea del grado de madurez del mismo.

En la Tabla 17, podemos observar que los resultados de pH tanto de la soya como del maíz se encontraron alrededor de 7, lo que corresponde con los datos reportados por (Food-info.net, 2014). Esto nos indica que el estado de las semillas es el adecuado para el proceso de elaboración del tempeh.

Tabla 17. Análisis Físicoquímico del maíz y la soya.

Análisis	Método	Producto	\bar{X}	σ	C.V.	Bibliografía (Food-info.net, 2014).
ACIDEZ (%)	Titulación ácido-base (NMX-F-102-S-1978)	MAÍZ	0.0871	0.0052	5.9726	-
		SOYA	0.4114	0.0227	5.5108	-
pH	Potenciómetro (NM-F-317-S-1978)	MAÍZ	7.200	0.058	0.806	6 – 7.5
		SOYA	7.167	0	0	6 - 8

3.2.3 Nixtamalización del maíz y acondicionamiento la soya

La determinación de la dureza para los granos de maíz se realizó para conocer al tiempo de cocción necesario en el medio alcalino, indirectamente relacionado con la dureza del grano por medio del índice de flotación y la cantidad de agua absorbida por el maíz, el pericarpio remanente y la pérdida de materia seca (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

En la Tabla 18 se observa que los resultados de la prueba de dureza por índice de flotación, de acuerdo a los rangos de la norma de nixtamalización NMX-FF-034/1-SCFI-2002 (Tabla 14), en la cual se clasificaron los granos como “duros”, debido a que en las 3 réplicas se obtuvieron resultados de entre 13 - 37 granos flotantes de 100 (Figura 37). Por lo tanto se

necesitó un tiempo mínimo de 40 minutos para la cocción en el medio alcalino $\text{Ca}(\text{OH})_2$ asegurando así la nixtamalización.

Tabla 18. Índice de dureza del grano de maíz y tiempo de nixtamalización.

Repetición	Granos flotantes	Dureza	Tiempo de cocción (min)
1	26	Duros	40
2	29	Duros	40
3	35	Duros	40



Figura 37. Índice de flotación del maíz

En la nixtamalización del maíz que se puede observar en la (Figura 19), la cocción se realizó durante 60 minutos en una olla de presión, con presión de entre 100 a 115 kPa según ficha técnica de proveedor. Esto debido a que al aplicar una cocción en olla convencional durante el tiempo obtenido en la prueba de índice de flotación (40 minutos), no se obtuvo el maíz con la apariencia y suavidad deseada para la elaboración del tempeh según la evaluación sensorial interna, requiriendo así una segunda cocción durante 60 minutos para que el maíz tuviese las características deseadas. También se implementó la operación de troceado, esto para que el maíz tuviese un tamaño aproximado al de la soya (5 – 11 mm de diámetro) y mejorar su apariencia, para homologar el tamaño del maíz este fue troceado en 4 partes iguales, debido a que el grano cocido mide entre 15 a 20 mm de diámetro, obteniendo 4 partes de aproximadamente 5 a 10 mm de diámetro que son similares al tamaño de la soya.

3.2.4 Acondicionamiento de la soya

En el caso de la soya las primeras tres operaciones fueron modificadas respecto a lo reportado (Dinesh *et al.*, 2009; Sanjukta y Kumar, 2016), dejando en primer lugar el remojo, seguido por el descascarillado y por último el lavado, esto por cuestiones prácticas para facilitar el descascarillado del frijol (Figura 18). También se determinó el tiempo de cocción en 30 minutos, ya que en los primeros ensayos se realizaban 2 cocciones, una de 60 minutos en una olla convencional y otra de 40 minutos en olla de presión, presentando una sobre cocción en los granos de soya la cual provocó que se desbarataran formando una masa. Sin embargo, al realizar solo una cocción por 30 minutos en olla de presión se obtuvo la consistencia deseada en el grano (Figura 38).



Figura 38. Mezcla de granos de Soya cocidos y Maíz nixtamalizados

3.3.1 Preparación del cultivo iniciador

Con el fin de establecer las condiciones de crecimiento del hongo *Rhizopus oligosporus* y posteriormente preparar el cultivo iniciador, se resuspendió el hongo liofilizado en agua estéril y de esta se sembró 1 mL en agar papa dextrosa acidificada. Al incubar estas placas a 35°C, se obtuvieron placas incontables del hongo en 48 horas las cuales fueron cosechadas en agua estéril para usarlas como inóculo en la preparación del cultivo iniciador. A continuación se muestra el crecimiento en agar papa dextrosa del hongo liofilizado resuspendido en agua estéril, primera (izquierda) y segunda resiembra (derecha). (Figura 39). El cultivo iniciador se obtuvo a partir de su crecimiento en arroz cocido, el cual fue secado posteriormente en estufa y finalmente fue molido en mortero para disminuir el tamaño de partícula a 0.59 mm para lo cual se utilizó una malla número 30 (Figura 40). Posteriormente se evaluó la pureza del cultivo iniciador mediante su crecimiento en agar papa dextrosa acidificada (Figura 41).



Figura 39. Crecimiento en agar papa dextrosa del hongo liofilizado resuspendido en agua estéril y resiembra.



Figura 40. Cultivo iniciador a partir del crecimiento del hongo en arroz cocido..



Figura 41. Pureza del Rizhopus oligosporus en el cultivo iniciador

3.4.1 Elaboración de los prototipos.

Antes de determinar las variables a utilizar en la fabricación del tempeh, se realizó una serie de pruebas para ajustar las condiciones de proceso más adecuadas en la fermentación del tempeh. A partir del diagrama de proceso del tempeh tradicional que se encuentra en la Figura 10 y la norma de Nixtamalización (NMX-FF-03411-SCFI-2002), se desarrolló el diagrama de proceso para la elaboración de tempeh con una mezcla de soya:maíz, tratando de disminuir el tiempo de operación para hacer al proceso más eficiente (Figura 19).

Para la mezcla de soya y maíz se propusieron dos proporciones de soya:maíz (80:20% y 60:40%), en ambas propuestas se mantuvo el porcentaje de soya más elevado en comparación al maíz, esto pensando en el valor proteico que representa la soya dentro de esta mezcla. Al realizar el primer ensayo de la elaboración de tempeh en el cual se adicionó el cultivo iniciador en polvo y se utilizaron hojas de plátano para envolver los granos como se hace tradicionalmente, se pudo observar que el crecimiento del moho se efectuaba de manera lenta, obteniendo poco micelio en 24 o 48 horas a 31°C, por lo cual la unión de los granos no fue la esperada, aunque la hoja de plátano le impartió su aroma característico ambos presentaron olor y sabor agradable (Figura 42). Con base a estos resultados se llevaron a cabo varios ensayos más en los que se varió el grado de cocción de los granos y la cantidad de cultivo iniciador (Figura 43), el tiempo y temperatura de incubación así como los tipos de envases

como son bolsas de polietileno y cajas de petri de plástico (Figura 44), la humedad inicial de los granos (Figura 45), y la acidificación inicial de los granos (Figura 46). Cada vez que se realizó la inoculación de tempeh, se comprobó la pureza del hongo *Rhizopus oligosporus* en tubos de agar, para verificar la pureza y viabilidad del hongo (Figura 47).

Uno de los cambios que se efectuaron en el diagrama de proceso del tempeh tradicional fue la acidificación del medio con vinagre, se utilizaron 5 mL en 100 gr de la mezcla, ya que el crecimiento del moho se favorece con pHs de 5.19 a 5.49 (Shurtleff y Aoyagi, 1979). Además de seleccionar el mejor envase para la incubación, se probaron hojas de plátano pero le imparten sabores y olores desagradables y requieren de un tratamiento para su utilización, también se probaron cajas petri de plástico perforadas y bolsas de plástico igualmente perforadas sin resultados favorables, por último se seleccionaron las cajas petri de vidrio, las cuales no le aportan sabores ni olores, además que pueden ser esterilizadas y fue el recipiente que presentó un mejor comportamiento para la formación del tempeh. Otra variable que se consideró fue la concentración y viabilidad del inóculo, ya que se vio la necesidad de reactivar el moho y aumentar su concentración en el inóculo para acelerar el crecimiento del moho debido a que no se producía el suficiente micelio para formar el tempeh en los tiempos estipulados de 24 y 48 horas a 31 °C.

La reactivación se llevó a cabo resuspendiendo en agua estéril el cultivo iniciador el cual fue resemebrando en agar papa dextrosa y el crecimiento obtenido fue posteriormente cosechado con agua estéril con lo cual se obtuvo el inóculo. El progreso en materia de conservación de microorganismos no ha impedido que la conservación en agua destilada estéril siga acaparando un lugar de preferencia por ser este un método simple, económico y seguro, capaz de garantizar la supervivencia de los cultivos fúngicos por periodos prolongados, a la vez que evita el pleomorfismo y la contaminación con ácaros. Con este método se han mantenido los cultivos de hongos filamentosos de los derivados de la caña de azúcar de Cuba por periodos prolongados, sin que se produzcan cambios en sus características morfológicas y fisiológicas (Bueno y Gallardo, 1998).

Haciendo las modificaciones antes mencionadas al cultivo iniciador se obtuvieron las concentraciones del inóculo que se utilizaron finalmente: 1mL (10^6 ufc) y 2 mL (10^7 ufc) por 50 gramos de mezcla de granos (Figura 48). Feng y colaboradores también prepararon el tempeh en cajas petri, para 60 gramos de cebada por caja, usaron un inóculo de 10^4 esporas por gramo de cebada húmeda (10^6 esporas por caja), y lo incubaron a 35°C. Probaron varios inóculos y monitorearon su crecimiento cada 4 horas durante 44 horas, tomando fotografía. Los datos del análisis de imagen indicaron que un nivel de inóculo de 10^4 esporas por gramo de cebada húmeda resultó en el proceso de fermentación más rápido, con la cobertura micelial más completa. Sin embargo, el crecimiento del moho en un nivel de inoculación de 10^6 esporas por gramo de cebada mojado fue más rápido que con 10^4 esporas por gramo (Feng *et al.*, 2007).

Dos eventos característicos del crecimiento del moho necesitan tener lugar para que la mezcla de granos fermentados se convierta en tempeh. Primero los granos individuales son rodeados en una torta sólida por el micelio del moho, haciendo más resistente la fractura (Ferreira, *et al.*, 2011) Y segundo, los granos de soya son digeridos parcialmente por las enzimas del moho (Dinesh *et al.*, 2009), este cambio es en cuanto a textura y estructura del tempeh. A nivel nutricional se generan otros cambios, por ejemplo; durante la fermentación de los granos de soya por el *R. oligosporus*, la proteína cruda hidrosoluble aumenta diez veces en su contenido, lo que indica la acumulación de péptidos, aminoácidos y algunas vitaminas como la riboflavina, niacina y tiamina (Beuchat, 1978).

Otro punto a destacar en el proceso del tempeh es la capacidad del hongo para metabolizar la mayoría de carbohidratos presentes en este grano (excepto la sacarosa, estaquiosa y rafinosa) así como algunos ácidos libres que contiene la soya y utilizarlos como fuente de energía, además de producir proteasas con las que logra digerir el alto contenido de proteínas que posee (Beuchat, 1978 y Hutkins, 2006).

Con las modificaciones realizadas al diagrama de proceso del tempeh tradicional y el acondicionamiento de la soya y el maíz se desarrolló el diagrama de proceso descrito en la metodología con el cual se logró obtener un tempeh con las características deseadas, a partir del cual se elaboraron los 8 prototipos con los 3 niveles de variación, la concentración de soya:maíz, el tiempo de incubación y el inóculo. En la Figura 49 podemos observar los granos acondicionados antes de la fermentación y en la Figura 50 podemos observar el tempeh después del tiempo de incubación.



Figura 42. Primer ensayo de la elaboración de tempeh, 24 y 48 horas de incubación



Figura 43. Tempeh en el que se varió el grado de cocción de los granos y la cantidad del cultivo iniciador.



Figura 44. Tempeh en el que se varió el tiempo y temperatura de incubación así como los tipos de envases (bolsas de polietileno y cajas de petri de plástico).



Figura 45. Tempeh en el que se varió la humedad inicial de los granos.



Figura 46. Tempeh en el que se varió la acidificación inicial de los granos.



Figura 47. Comprobación de la pureza y viabilidad del hongo Rhizopus.

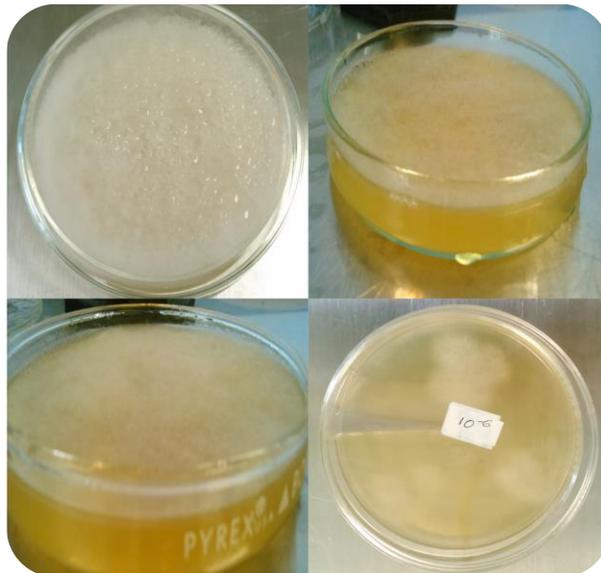


Figura 48. Reactivación y cuantificación del inóculo en agar papa dextrosa acidificado.



Figura 49. Prototipos que contienen los granos acondicionados e inoculados para su incubación, proporción 80:20 y 60:40.



Figura 50. Prototipos después de la fermentación

3.4.2 Selección del prototipo con las mejores características Determinación de acidez, pH y humedad de los prototipos.

A los 8 prototipos se les determinó humedad, pH y acidez para elegir el prototipo con las propiedades más parecidas a las del tempeh tradicional.

En la Tabla 19, se muestra el porcentaje de humedad de los prototipos, en ella podemos observar que los valores obtenidos son similares en todas las muestras, con tan solo 3.5 % de diferencia entre el valor más elevado con respecto al valor más bajo, no parece haber una relación entre la humedad con respecto al resultado de pH, acidez o la proporción de mezcla de granos; aunque los prototipos con mezcla de granos de soya:maíz 80:20 con tiempo de fermentación de 48 horas reportaron datos de humedad ligeramente menores en comparación a los prototipos con tiempo de fermentación de 24 horas.

Al comparar el promedio de la humedad de los prototipos entre ambas mezclas de granos se observó una variación de 0.56% siendo más elevada para la mezcla 60:40 (61.71%) y al comparar los porcentajes de humedad obtenidos con respecto al tempeh tradicional (cerca al 60 %), se encontró que la diferencia fue mínima lo cual podría sugerir que las condiciones de proceso seleccionadas fueron correctas.

En cuanto a la acidez, se observó una ligera diferencia respecto al tiempo de incubación, a mayor tiempo de incubación, mayor fue el porcentaje de acidez alcanzado y no presentó

diferencia respecto a la cantidad de inóculo (1 y 2 mL). Además se encontró que los prototipos que contienen mayor proporción de soya en la mezcla alcanzaron un porcentaje más elevado de acidez, lo cual podría indicar que el moho fermenta con mayor facilidad o está mejor adaptado al grano de soya respecto al de maíz, lo cual coincide con el ensayo de (Baumann y Bisping, 1995) en donde fueron encontrados diversos péptidos bioactivos en alimentos de soya fermentados digeridos con enzimas proteolíticas, en donde se encontró que varias de las proteasas de *Rhizopus*, hidrolizaron las principales proteínas de la soya en péptidos grandes, con la subsecuente degradación a oligopéptidos principalmente por la actividad de la peptidasa en el ensayo.

Aunque también pudo haber influido el hecho de que el grano de maíz fue nixtamalizado, lo cual modifica su acidez y su contenido de calcio, afectando ambos a la fermentación que realiza el moho en los granos.

En la soya fermentada y alimentos de soya fermentados, las proteínas están solamente parcialmente hidrolizadas por la incapacidad de varias proteasas para romper las glicoproteínas, fosfoproteínas, otras especies modificadas pos-traduccionalmente, o dominios que contienen un número alto de puentes disulfuro. Al determinar el pH de los prototipos se detectó diferencias en los valores obtenidos con respecto al tiempo de incubación, siendo los prototipos con 48 horas, los que en general reportaron valores de pH menores. En los prototipos con mezcla de soya:maíz 80:20 también se observó una diferencia entre los valores obtenidos respecto a la cantidad de inóculo, los prototipos con 2 mL de inóculo fueron los que reportaron valores de pH menores, sin embargo, no sucedió lo mismo en los prototipos con mezcla de granos 60:40.

Tabla 19. Resultados de los análisis fisicoquímicos de los 8 prototipos.

Resultados análisis fisicoquímicos						
#	%	mL	Hr	Humedad	pH	Acidez
1	60:40	1	24	61.01	5.87	0.16
2	60:40	1	48	62.60	5.18	2.13
3	60:40	2	24	60.39	6.16	0.16
4	60:40	2	48	62.87	5.40	2.54
5	80:20	1	24	63.36	6.54	0.28
6	80:20	1	48	59.89	5.90	3.15
7	80:20	2	24	61.48	6.36	0.24
8	80:20	2	48	59.87	5.43	3.04

Evaluación sensorial de prototipos

Uno de los parámetros importantes para la selección del prototipo es la evaluación sensorial, ya que esta nos ayuda a medir las reacciones que el tempeh les provoca a los sentidos de los consumidores, en escala de agrado o desagrado (Hough y Fiszman, 2005).

La evaluación sensorial se realizó a través de una prueba descriptiva de ordenamiento con 50 jueces en la cual cada juez tenía que ordenar 4 muestras en forma decreciente para cada uno de los atributos que se evaluaron (sabor, olor, color y dureza), con el fin de seleccionar el prototipo con mayor preferencia para los encuestados.

Para la evaluación de las encuestas se realizó una gráfica de araña en el programa Excel con el resultado de la sumatoria de las encuestas aplicadas. En la Figura 51 se puede observar claramente que el área azul es la que abarcó mayor superficie dentro de la gráfica, lo que significa que el prototipo con la mezcla de granos 60/40 y con 48 horas de fermentación fue el que obtuvo mejores resultados en comparación con el resto de los prototipo, presentando mayor agrado por parte de los jueces en 3 de los 4 atributos, sabor, consistencia y color.

Otro de los prototipos que abarcó un área importante dentro de la superficie de la gráfica fue el elaborado con la mezcla de granos 80/20 y 24 horas de incubación cuya área está indicada con el color verde, éste prototipo obtuvo el segundo lugar en general en el agrado de los jueces ya que se encuentra en segundo lugar en el atributo de sabor y en primer lugar en el atributo de olor.

El hecho de que los jueces hayan preferido el prototipo (60/40 a 48 horas) que presentó un resultado de acidez ligeramente superior respecto al prototipo de color verde (80/20 24 horas), pudiera ser debido a que los prototipos con mayor proporción de soya presentaron un sabor más intenso respecto a aquellos con menor proporción de soya, dicho sabor es generado principalmente por la hidrólisis que el moho realiza en las proteínas presentes en la soya el cual puede llegar a saber más fuerte y más intenso en comparación a los prototipos con mezcla de 60/40. Los sabores intensos no son muy aceptados en México sobre todo la gente joven, sin embargo, los sabores ácidos sí, por lo tanto al tener mayor porcentaje de maíz en la mezcla disminuye el sabor intenso lo cual mejora el sabor del tempeh. Además ha sido reportado que el tempeh tiene un mejor sabor cuando tiene un pH entre 6.3 y 6.5 (Dinesh *et al.*, 2009), ambos prototipos se encuentran dentro de este rango de pH, Tabla 16 Resultados análisis fisicoquímicos que se encuentra en el punto anterior.

Evaluación Sensorial

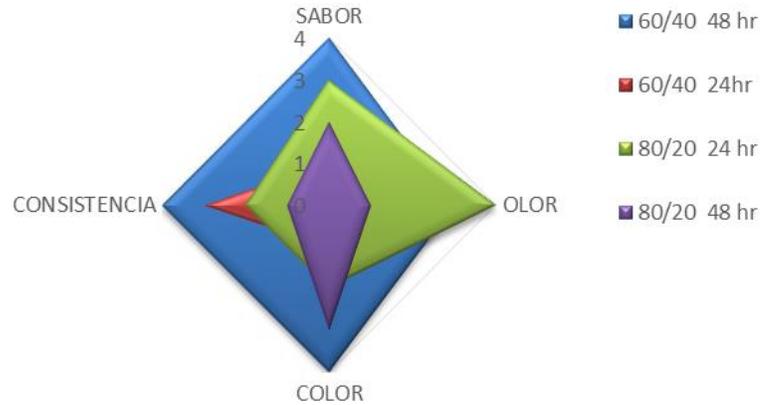


Figura 51. Resultados de la evaluación sensorial.

Selección del prototipo

Los parámetros bajo los que se analizaron los prototipos fueron la humedad, pH, acidez y los atributos sensoriales. Asimismo, al considerar que el aporte principal del tempeh son las proteínas y debido a que el objetivo del proyecto fue obtener un producto nutritivo y agradable que pudiese sustituir la carne, también se determinó el porcentaje de proteína presente considerando los dos prototipos con mejores resultados en los análisis anteriores. En dicho análisis se encontró que el prototipo con la mezcla 80:20 y un tiempo de fermentación de 24 horas resultó con mayor porcentaje de proteína respecto al prototipo 60:40 48hr (Figura 52).

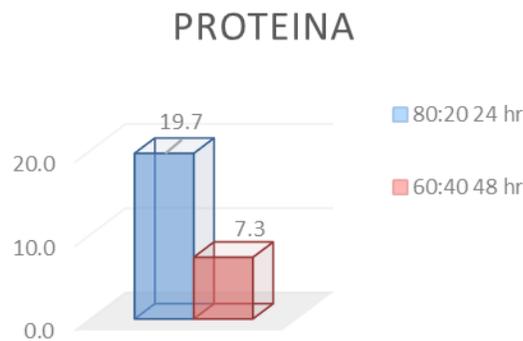


Figura 52. Contenido de proteína en los prototipos con mejores atributos sensoriales y propiedades fisicoquímicas.

Con base a la preferencia de los jueces, su aporte de proteína y pH, fue seleccionado el prototipo con mezcla de soya-maíz 80:20 inoculado con 10^7 ufc de *Rhizopus oligosporus* e incubado durante 24 horas a 31°C al cual se le dio el nombre de tempeh Tlayolli para poder comercializarlo; Aunque fue el segundo prototipo con mayor preferencia en el análisis

sensorial, se eligió porque aporta mayor cantidad de proteína (19.7%) y reportó un pH final de 6.36 (Figura 53). Se ha observado que el tempeh tiene mejor sabor cuando su pH se encuentra entre 6.3 y 6.5 (Dinesh *et al.*, 2009).

Aunque las antiguas civilizaciones desarrollaron la fermentación principalmente como una manera de preservar los productos agrícolas perecederos, la tecnología ha evolucionado más allá de preservación en una herramienta para la creación de perfiles organolépticos deseables en los alimentos y mejorar su palatabilidad. La fermentación también ayuda a eliminar factores antinutricionales y toxinas en materiales alimenticios y mejora su perfil nutricional (Chen *et al.*, 2013; Soni y Dey, 2014). Por los resultados obtenidos en el análisis sensorial, podemos considerar que el aporte de maíz a la mezcla mejora las características sensoriales del tempeh, impartándole un sabor más aceptable para la población mexicana.



Figura 53. Imagen del tempeh prototipos

3.5.1 Análisis químico proximal del prototipo seleccionado pH y acidez.

Una vez seleccionado el prototipo, este fue sometido a una serie de análisis para conocer su composición química y poder plasmar dichos datos en la etiqueta esto en base a la NOM-051-SCFI/SSA-2010.

En la Tabla 20 Se muestran los resultados de los análisis además de las técnicas que se utilizaron para cada determinación, también se analizaron propiedades fisicoquímicas como acidez y pH, valores que determinan el nivel de fermentación del tempeh y le permiten al microorganismo formar un micelio haciendo que los cotiledones se entretejan uniéndose sólidamente y formen una masa de textura correosa y densa (Shurfleff, 1979; Soyfoods, 2009),

Otro de los factores atribuibles al tempeh es la alta calidad y digestibilidad de sus proteínas esto debido a que el *Rhizopus oligosporus* además del proceso de fermentación produce proteasas que fragmentan a las proteínas de la soya en secuencias de aminoácidos más cortas proporcionando así proteínas semidigeridas que son utilizadas en personas con problemas

gastrointestinales (Varzacas, 1986). La alta actividad proteolítica; la desaminación seguida de la hidrólisis libera amoníaco causando que el pH se incremente alrededor de pH 7.0, el cual puede provocar la muerte del hongo y por lo tanto disminuir el tiempo de fermentación, (Tuncel *et al.*, 1989), por lo anterior es necesario acidificar el medio con ácido acético para iniciar el proceso de fermentación con un nivel de pH bajo, lo que alarga el tiempo de fermentación y produce un producto con mejor apariencia y calidad.

Tabla 20. Resultado análisis químico proximal pH y acidez.

Determinación	Resultados	Datos bibliográfico	Tablas y calculadoras
Humedad	61	-	59.65
Proteína	19.7	16-19.5	18.54
Fibra	7.4	0-5.4	-
Grasas	1	4-11.14	10.8
Cenizas	1.8	-	-
Carbohidratos	9.1	6-13.6	9.39
Acidez	0.8	-	-
pH	6.4	-	-

(Fuente: Shurfleff y Aoyagi, 1979; Moran, 2014)

El resultado de los carbohidratos fue obtenido por diferencia, en la Tabla 20 se puede observar que el resultado de humedad (61%) se encuentra ligeramente por encima del valor de referencia 59.65% (Shurfleff y Aoyagi, 1979; Moran, 2014), esto pudo ser provocado por la adición del maíz, debido a que el maíz absorbe más del 70 % de agua durante el nixtamalizado.

La proteína es uno de los nutrientes más representativos dentro del proyecto y es uno de los que destaca dentro de la Tabla nutrimental con un 19.7% y observando la Tabla 8 del capítulo 1 (Composición química del tempeh), el dato obtenido coincide con lo reportado por (Aoyagi 1979 y Moran, 2014). Al realizar el tempeh con una mezcla de soya y maíz se esperaba un aumento en el valor de carbohidratos debido que el maíz tiene un contenido alto de carbohidratos (>60%) respecto a la soya, sin embargo, al estar presente el maíz en un porcentaje bajo dentro de la mezcla de granos para la elaboración del tempeh, no representó una diferencia considerable en este componente en relación al valor teórico del tempeh tradicional. La grasa representa el valor más bajo dentro del porcentaje total, estando por debajo del valor de referencia. En cuanto a la fibra, se presentó un aumento en comparación al valor teórico, ambas diferencias podrían estar relacionadas con la adición del maíz a la mezcla de granos.

En estudios realizados por (Mogula, 1992) se ha reportado que en el tempeh elaborado con una mezcla de maíz-soya no cambió la composición de manera significativa respecto al tempeh tradicional. Sin embargo, la fibra dietética se incrementó, las concentraciones de hierro total, calcio y fósforo no cambiaron mientras el contenido de fitato disminuyó un 67%

y la absorción del hierro aumentó 2.5 veces, esto se puede demostrar a través de técnicas que logran reducir el nivel de fitatos en las leguminosas y cereales, estas técnicas tienen como finalidad romper el lazo entre el ácido fítico y el mineral para que sea absorbido de mejor manera, para esto es recomendable colocar las leguminosas y cereales en remojo (Baena y Galisteo, 2015). La cocción ayuda a reducir el ácido fítico, pero se tiene que asegurar un remojo previo de las leguminosas y cereales en un medio ácido, algunos de los medios recomendables para realizar el remojo es agua con; kéfir, vinagre de manzana o limón. De esta forma el agua tibia acidificada, permite la fermentación y reduce aún más el ácido fítico. (Foerster, 2012).

El coeficiente de digestibilidad y la proporción de la proteína aumentaron hasta ser comparable con leche descremada. En otros estudios se ha encontrado que el contenido de proteína incrementó en los tempehs de soya (6.89-21%) respecto al grano de soya, posiblemente debido a las operaciones de cocción y fermentación durante la elaboración del tempeh, las cuales favorecen la pérdida de sustancias solubles (minerales y azúcares) de los granos de soya. Debido a que el tempeh es preparado con los granos de soya descascarados, es natural el incremento en la concentración de nutrientes, también se ha visto que el contenido de grasa varía poco entre el tempeh y la soya, disminuyendo 1 - 2.5 % (Vaidehi and Rathnamani, 1990; Ferreira *et al.*, 2011; Bavia *et al.*, 2012). En el presente estudio se observó un incremento del 25.26% de proteína en el tempeh desarrollado con mezcla de soya:maíz nixtamalizado.

También se comparó el tempeh tlayolli con un tempeh elaborado de garbanzo, para demostrar las diferencias nutrimentales entre ambos, en la Tabla 18 podemos observar que la cantidad de proteína que se encuentra en el tempeh mezcla soya-maíz es superior que la reportada en el tempeh de garbanzo. Además, el tempeh tlayolli tiene un porcentaje inferior de grasa y de carbohidratos, lo cual lo hace más atractivo para las personas que gustan de cuidar su alimentación, consumiendo mayor cantidad de proteína y cantidades menor cantidad de grasa y carbohidratos, (Encuentro vegano, 2016).

A partir de los resultados de la composición química se calculó la Tabla nutrimental que por legislación tiene que estar dentro de la etiqueta y de acuerdo al valor de porciones y al número de porciones por envase. El tempeh según el manual de etiquetado frontal de COFEPRIS, entra en la categoría de alimento de consumo familiar, por lo tanto únicamente se considera una porción, que sería el contenido neto (50 gr), además de crearse las pilas, las cuales se tiene que ubicar al frente del envase.

Para obtener el contenido energético total, se consideró que las grasas contienen 9 Calorías, las proteínas 4 calorías y los carbohidratos 4 calorías por gramo además se calculó el porcentaje de grasas y azúcares que representa el tempeh dentro de la recomendación que genera COFEPRIS para el consumo de estos nutrientes en base a una dieta de 2000 Calorías. La recomendación para las grasas es de 400 calorías y para los carbohidratos 360 calorías,

por lo tanto el tempeh aporta 1.2% de grasas y 5.1 % de azúcares totales del % total de los nutrientes diarios y en cuanto a energía total aporta únicamente 62.4 cal/kg lo que es realmente bajo en comparación a la carne que tiene 71.5 cal/kg en 50 gr sin considerar que la carne contiene 80% de agua en comparación al tempeh que contiene 60 %, lo que significa que con la misma porción te sentirás más satisfecho con el tempeh.

En la Figura 54, se observa la Tabla nutricional del tempeh y el diseño de las pilas, ambas figuras se consideraron dentro del diseño de la etiqueta Figura 56.

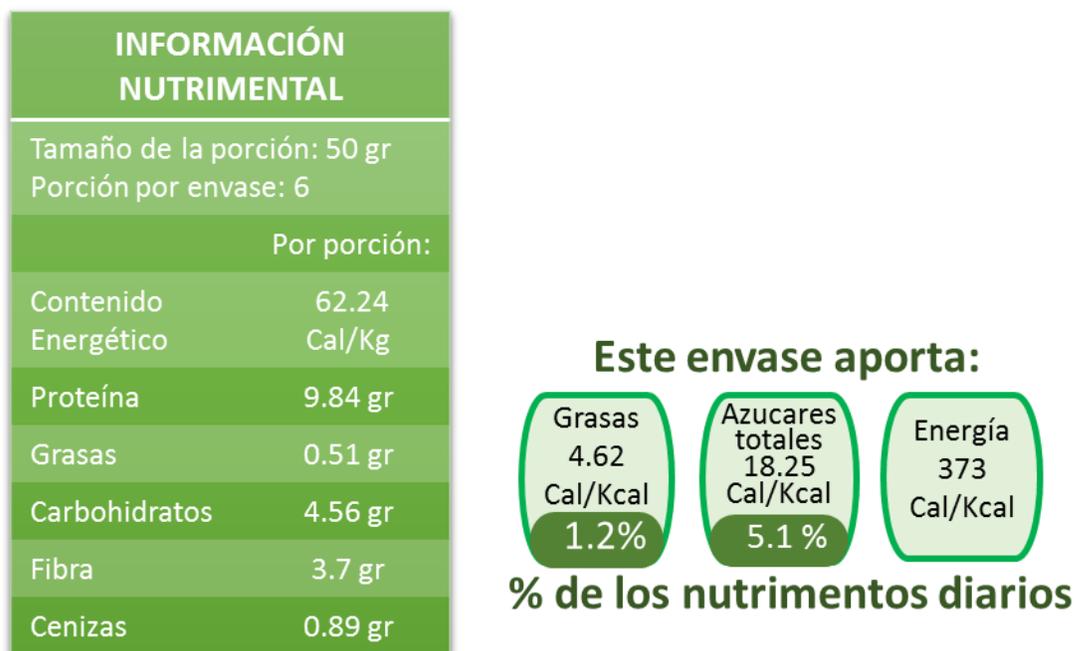


Figura 54. Tabla nutricional y pilas para el envase.

3.5.2 Análisis de calcio

Se realizó un análisis de calcio para conocer el aporte que representa este mineral al tempeh tlayolli comparado con el tempeh tradicional como se muestra en la tabla 21.

Tabla 21. Resultados de calcio.

Componente	Tempeh soya-maíz	Tempeh tradicional	Masa de maíz nixtamalizado
Calcio	240 mg	110 mg	70 mg

(Fuente: Chávez *et al.*, 2014 y Castillo, *et. al.*, 2009)

Debido a la nixtamalización del maíz, aumentó el contenido de calcio en el tempeh desarrollado reportando el doble (240 mg/100g) respecto al tempeh tradicional que se reporta (111mg/100g), y con respecto a la masa de maíz nixtamalizado (70 mg), aumento tres veces (Chávez *et al.*, 2014). Durante la nixtamalización del maíz es importante el tiempo de cocción del maíz y la concentración del Ca(OH)₂ ya que estos dos parámetros van ligados al aumento

del calcio en el maíz. Un estudio de “Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal” realizado por el Instituto Tecnológico de Durango indica que estas condiciones permitieron obtener un nixtamal con mayor capacidad de absorción de agua y se espera obtener productos de mejor calidad (Castillo, *et. al*, 2009).

3.5.3 Análisis de aminoácidos

El perfil de aminoácidos se determinó con el método cromatográfico clásico por Evonik Degussa México. A continuación se presenta la comparación de los resultados obtenidos con el de un tempeh tradicional. Los resultados se muestran a continuación en la tabla 22.

Tabla 22. Contenido de aminoácidos en el tempeh maíz-soya y el tempeh tradicional de soya.

Aminoácido	Contenido en gramos / 100 g de tempeh	
	tempeh Tlayolli soya-maíz	tempeh tradicional de soya*
Alanina	1.135	0.960
Arginina	1.119	1.25
Acido Aspártico	2.421	2.000
Acido Glutámico	3.244	3.290
Cisteina	0.282	0.190
Fenilalanina	1.134	0.890
Glicina	0.894	0.750
Histidina	0.560	0.470
Isoleucina	1.034	0.880
Leucina	1.743	1.430
Lisina	1.166	0.910
Metionina	0.295	0.180
Prolina	1.044	1.030
Serina	1.022	1.020
Tirosina	-	0.660
Treonina	0.838	0.800
Triptofano	-	0.190
Valina	1.073	0.920
Total	19.005	17.820
<i>Amoniaco</i>	0.674	0.720
<i>Proteína Cruda</i>	19.679	18.54

(Fuente: Los alimentos, 2015, tablas y calculadoras, 2015).

El tempeh desarrollado presentó un aumento de 63.9% en metionina, 48.4% en cisteína y 28.1% lisina respecto al tempeh tradicional (Los alimentos y sus propiedades, 2014). La concentración proteica de la soya es la mayor de todas las legumbres. Pero no sólo es importante por la cantidad, sino que también lo es por su calidad. Por lo general, las proteínas

provenientes de los alimentos de origen vegetal tienen un bajo contenido de aminoácidos sulfurados (metionina y cisteína) (Ridner., *et. al.*, 2006). Se sabe que al combinar las semillas de las leguminosas y los granos de los cereales la calidad de la proteína aumenta debido a que presenta un balance en los aminoácidos (Sanchez., *et al.*, 2007) ya que la soya presenta un bajo contenido de aminoácidos azufrados y el maíz le aporta los aminoácidos carentes en la soya (FAO, 2012).

Asimismo, se ha reportado que después de la nixtamalización, la lisina y el triptófano, se incrementan en 2.8 veces, y la relación de isoleucina a leucina aumenta 1.8 veces. Lo anterior indica que el proceso de nixtamalización incrementa el balance de aminoácidos esenciales, agregándole más valor nutricional a las proteínas (Castillo *et. al.*, 2009). Por lo antes mencionado, al nixtamalizar el maíz utilizado en la mezcla de granos para la elaboración del tempeh, también se mejora el aporte nutricional del producto desarrollado en este trabajo.

Las leguminosas son una fuente alimenticia abundante y económica. Sus proteínas también carecen de ciertos aminoácidos indispensables, pero aquellos aminoácidos en que son deficientes se encuentran abundantemente en los cereales y viceversa. Por esto se dice que las proteínas de los cereales y las leguminosas se complementan, y se recomienda comerlas juntas en un mismo plato. De todas las leguminosas, la soya es la que tiene mayor cantidad y mejor calidad de proteínas y por esto se utiliza para fortificar productos a base de cereales como el maíz y el trigo (Luna, 2007).

3.5.4 Análisis microbiológico de prototipo seleccionado

Además de determinar las propiedades fisicoquímicas y su composición química, se realizó un análisis microbiológico del prototipo seleccionado con el fin de corroborar su calidad sanitaria. Una vez transcurrido el tiempo de incubación de acuerdo a las normas (NOM-092-SSA1-1994) bacterias aerobias, (NOM-113-SSA1-1994) coliformes totales y (NOM-111-SSA1-1994) mohos y levaduras, conteo en placas se puede reportar que:

- Hay ausencia de unidades formadoras de colonias de bacterias aerobias en placa en agar triptona extracto de levadura o agar para cuenta estándar, incubadas 48 ± 2 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Hay ausencia de unidades formadoras de colonias de coliformes totales en placa de agar Maconkey, incubados a 35°C durante 24 ± 2 h.
- Hay ausencia de unidades formadoras de colonias por mililitro de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días
- UFC incontables por mililitro de mohos en en tres diluciones sembradas en agar papa dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

En el caso del resultado del conteo de mohos, se pudo corroborar la viabilidad del *Rhizopus oligosporus* el cual fue inoculado para efectuar la fermentación e hidrólisis en la mezcla de granos además de la generación del micelio que produce la unión de los granos para obtener una torta blanca llamada tempeh.

Por lo anterior se puede considerar que el manejo de la materia prima y el proceso de elaboración del tempeh fueron realizados adecuada e higiénicamente con lo que podemos asegurar la calidad sanitaria del producto.

3.6.1 Selección de envase y diseño de la etiqueta

Selección del envase

Para el empaque primario se decidió que fuera en bolsas de plástico de polietileno transparente debido a que los envases de plástico juegan un papel significativo en la vida útil y existe mayor facilidad de almacenamiento de muchos alimentos. Los envoltorios de plástico suelen tener, instrucciones sobre cómo utilizarlos de forma segura para evitar la migración química al mínimo (One moment, 2015), además de tener la propiedad de ser transparente lo cual era una característica que se buscó para el envase del tempeh, esto para que el consumidor pudiera ver el producto y saber lo que va a consumir. Algunos investigadores han utilizado bolsas de plástico debido a los beneficios que presentan, entre ellos destacan que las bolsas permiten que la fermentación se mantenga salubre, limpia e intacta (Streinkraus, 1985., Shurfleff y Aoyagi, 1973). Además, se decidió empacar las bolsas al vacío para aumentar la vida útil del tempeh debido a que de este modo se forma una barrera apropiada contra el oxígeno, excluye el aire y el oxígeno del envase, inhibiendo consecuentemente el crecimiento de algunos organismos alterantes, este aumento en la vida comercial es muy importante para los productos frescos y mínimamente procesados.

Después de envasar el tempeh en una bolsa de polietileno, se generó el vacío en la misma extrayendo el aire a través de una máquina para empacar al vacío hasta que se alcanzó el nivel de vacío deseado. Una vez finalizado el proceso de evacuación, la bolsa fue sella con el alimento, como se muestra en la Figura 55 (Multivac, Food Engineering Magazine, Flexible Packaging, 2015).



Figura 55. Tempeh empaquetado en bolsa de plástico

Marca

Ya que significa maíz en náhuatl, la etiqueta es de color oscura para que represente seriedad y clase al producto, en la parte superior del logotipo tiene 5 estrellas para representar alta calidad y el elote representa la unión de los dos granos (Figura 56).

Diseño de la etiqueta

Para el diseño de la etiqueta, se utilizó una foto del producto para que la gente lo conozca, se le puso el nombre de Tlayolli.

Dentro de la etiqueta se colocó la Tabla nutrimental, el listado de ingredientes, el contenido neto, una pequeña descripción del producto, además de las pilas, las cuales representan el porcentaje de los nutrientes del tempeh dentro de una dieta diaria basada en 2000 Kcal (NOM-051-SCFI-1994 y COFEPRIS).

Además se colocaron leyendas para exponer los beneficios del tempeh los cuales están fundamentados por el proyecto.

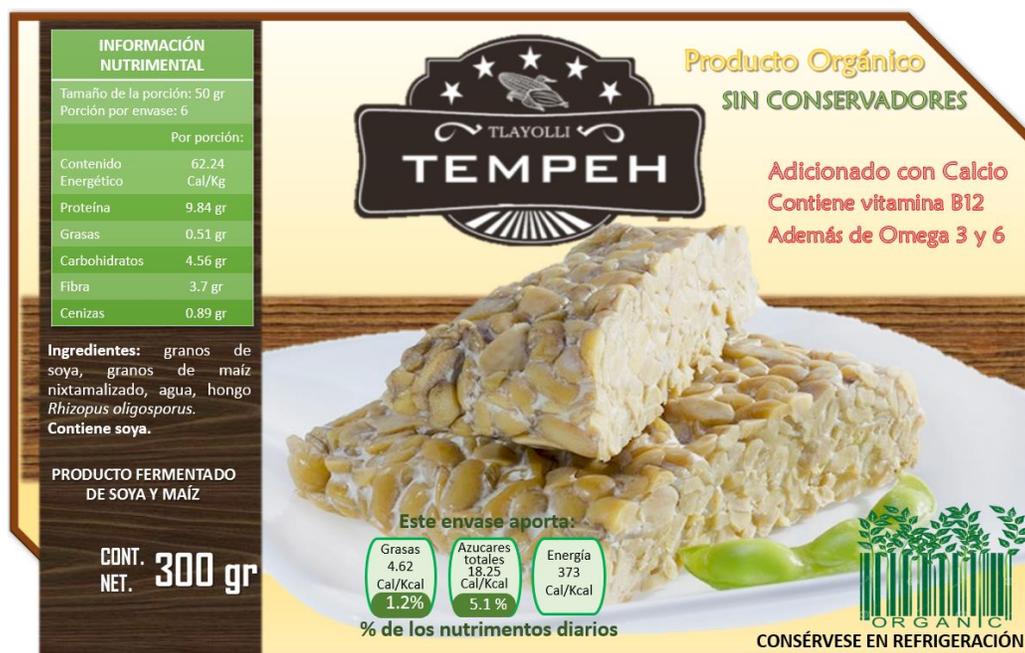


Figura 56. Etiqueta del producto.

3.6.2 Determinación del precio del producto

Para determinar el precio de venta del tempeh se consideró un tamaño de 300gr, que es el contenido idóneo para 4 o 5 porciones, además que es un formato parecido que el de la competencia (350 gr). Se realizó un balance entre la inversión inicial, \$212,880.00 pesos, los gastos mensuales operacionales \$57,540.00 (Tabla 23), otro punto importante a considerar fue el precio de venta de la competencia, dando como resultado un valor de \$45 pesos, precio

de venta mayoreo para el formato de 300 gr, también se sugirió el precio de venta al consumidor final de \$50.00 pesos por 350 gr en relación al precio de la competencia. Considerando que, siendo el tempeh Tlayolli un tempeh con mayor aporte nutricional respecto al de la competencia debido al aporte del maíz nixtamalizado y siguiendo la propuesta comercial, que es destacar los beneficios del tempeh Tlayolli se estima que el costo del producto podría ser superior que al de la competencia (Tabla 24).

Tabla 23. Capital requerido.

<i>Inversión Inicial</i>	\$212,880.00
<i>Gastos Mensuales Operación (3 meses)</i>	\$57,540.00
<i>Total</i>	\$270,420.00

Tabla 24. Tabla de precios.

<i>Presentación</i>	Precio de venta Mayorista	Precio de venta al consumidor	Precio de venta de la competencia
<i>300 gr</i>	\$45.00	\$60.00	-
<i>350 gr</i>	-	-	\$50.00

3.7.1 Estimación de la vida útil del producto.

Elaboración del producto de acuerdo al calendario establecido

Para estimar la vida útil del producto, se obtuvieron las muestras de acuerdo al experimento escalonado, presentado en la Figura 19 que se encuentra en el capítulo 2 (Almacenamiento de los lotes para determinación de vida útil), estas se almacenaron en un refrigerador marca HERFRIMEX. S.A. modelo vr2L2, a temperatura de 4°C con un tiempo máximo de 15 días. Al finalizar el tiempo de almacenamiento se analizaron las variables críticas seleccionadas (humedad pH y acidez).

3.7.2 Determinación de acidez, y pH a los prototipos

Se seleccionó la acidez y el pH como variables de respuesta, debido a que son las variables que presentan mayor cambio en la producción del tempeh. En el ensayo de vida útil se observó una tendencia en los resultados de acidez, obteniéndose un porcentaje de acidez más alto a mayor tiempo de almacenamiento; el lote 1 el cual ingresó primero a refrigeración fue el que tuvo mayor tiempo de almacenamiento y mayor % de acidez, sin embargo en el lote 7 cuyo tiempo de almacenamiento fue menor, se obtuvo un porcentaje de acidez menor. También se encontró una tendencia en el pH, aunque no tan marcada como con la acidez, las muestras que pasaron más tiempo en almacenamiento obtuvieron un valor de pH menor

respecto a las que se elaboraron posteriormente (Figura 57). En base a los resultados obtenidos, se podría sugerir que posiblemente incluso a una temperatura de 4°C, la fermentación generada por el hongo continúa durante su almacenamiento a baja temperatura.

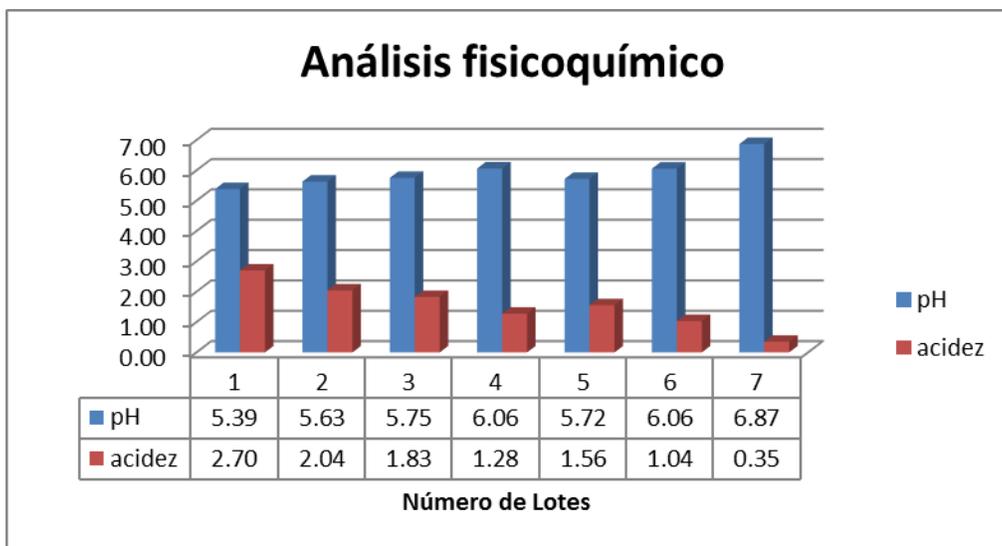


Figura 57. Resultados de acidez y pH obtenidos de los lotes elaborados para el ensayo de vida útil.

3.7.3 Evaluación sensorial.

Se realizó un análisis sensorial a 50 jueces semi entrenado de la carrera de ingeniería en alimentos de la FES Cuautitlán para determinar la vida útil del producto por medio del grado de aceptación de los jueces.

Para la evaluación se realizó una encuesta en la cual los jueces, tenían que indicar si la muestra fue de su agrado o no, los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el programa R y las funciones Hough (2010), esta función selecciona el modelo más apropiado para la estimación de la vida útil, mediante esta función se seleccionó el modelo loglogistic, Tabla 22, para obtener el porcentaje de rechazo y el tiempo de vida útil del tempeh.

Tabla 25. Resultados vida útil modelo loglogistic.

loglogistic				
%Rechazo	Estimación	Intervalos de confianza		Error estandar
		bajo	alto	
10	5.751679	3.508397	9.429325	1.450634
25	9.426574	6.927376	12.82741	1.481567
50	15.449453	11.875255	20.099408	2.073985

Los resultados obtenidos mediante el programa se muestran en la tabla anterior, en donde se ve la vida útil estimada y su error estándar para los porcentajes de rechazo 10, 25 y 50. A

partir de estas estimaciones se seleccionó el porcentaje de rechazo de 25 % el cual tiene un estimado de 9 días de vida útil para el tempeh Tlayolli almacenado a 4°C, lo cual es favorable si comparamos el tiempo de vida útil con el de la carne que es de aproximadamente 5 días o el pollo que dura 3 días en refrigeración, esto es una ventaja en cuanto a distribución y comercialización, debido a que el producto tiene menos tiempo de rotación en tienda y el tiempo en el que el consumidor puede utilizar el producto también es mayor en comparación a los productos antes mencionados.

Si comparamos la vida de anaquel del tempeh Tlayolli con los de la competencia, tabla 26. Podemos observar que entran en el mismo rango de 9 a 10 días, aunque la vida de anaquel del tempeh casero es inferior a la de los tempehs comerciales.

Tabla 26. Vida de anaquel de tempeh.

	tempeh tlayolli	tempeh casero	tempeh murní	tempeh risofus	tempeh tlayolli	Carne	Pollo
Vida de anaquel	9 días	6-7 días	9 -10 días	9-10 días	9 días	5 días	3 días

Fuente: (Morán, 2015 y Tempeh Murni GDL, 2015).

La fermentación es una tecnología que utiliza las actividades de crecimiento y metabolismo de los microorganismos para la preservación y transformación de materiales alimenticios. Durante la fermentación de alimentos, el crecimiento de organismos alterantes y patógenos es inhibido por los metabolitos generados por los organismos fermentadores, extendiendo de este modo la vida útil del producto perecedero. Además de la conservación, la fermentación imparte aroma característico, sabor, textura, y un perfil nutricional dentro de alimento (Chen *et al.*, 2013; Soni y Dey, 2014).

La carne se refiere a piezas enteras o molidas de tejidos de origen animal con un contenido importante de proteínas, así como los triglicéridos, fosfolípidos y carbohidratos. A pesar de su consumo histórico, existe una creciente presión por parte de activistas y agencias gubernamentales para reducir la producción de carne debido a preocupaciones éticas y medio ambientales. La producción de ganado para la obtención de proteínas provoca un impacto medioambiental mucho mayor que en el mismo rendimiento de proteínas procedentes de fuentes no cárnicas, tales como cereales, legumbres y semillas. Si mantenemos nuestro actual consumo de proteínas per cápita, el aumento de la población mundial requerirá una mayor producción de proteína comestible. Una forma de hacer esto sin aumentar la producción ganadera no amigable con el ambiente es extraer y procesar las proteínas de los vegetales, granos, semillas y otras fuentes no animales, con el fin de simular productos cárnicos tradicionales. Proteínas derivadas de hongos o varios vegetales son actualmente utilizados como sustitutos de los tejidos animales en los productos cárnicos. Opciones de análogos de carne incluyen las preparaciones tradicionales altas en proteínas, tales como el tempeh (pastel de soya fermentada), tofu (proteína de soya aglomerada) y sei-tan (gluten de trigo cocido) (Asgar *et al.*, 2010; Day, 2013; Kumar *et al.*, 2015; Griffith, 2016).

Los alimentos fermentados son una de las 10 tendencias en 2016, continuando con esta tendencia en los últimos años. Las compañías de alimentos están respondiendo a esta tendencia cada vez mayor, ya sea mediante la comercialización de alimentos fermentados tradicionales o el desarrollo de nuevos alimentos fermentados basado en los tradicionales. Varios productos probióticos a base de cereales, y soya también se encuentran en el mercado en respuesta a la creciente prevalencia de la alergia a las proteínas de leche, intolerancia a la lactosa y gluten, y opciones de estilo de vida, tales como el veganismo (Riley, 2015; Netsanet, 2016).

El futuro de los alimentos fermentados parece ser brillante, alimentado por el creciente interés de los consumidores en todo lo que se percibe como algo natural y la promoción de la salud y la longevidad. Los fabricantes de alimentos también están volviendo a descubrir la posibilidad de crear un sabor único y característico, la textura, el perfil nutricional y beneficios para la salud, manteniendo al mismo tiempo una etiqueta 100% natural a través de la fermentación y están aprovechando esta oportunidad, como lo ejemplifican los diversos productos que ya están en el mercado, una tendencia que va a continuar (Hugenholtz, 2013; Netsanet, 2016).

CONCLUSIONES

De acuerdo con el estudio de mercado realizado, podemos concluir que el tempeh va a tener una buena aceptación en el mercado, ya que por ser un producto con muchos beneficios para la salud lo hace atractivo para el consumidor, especialmente para las mujeres en etapa de climaterio y también para la gente que quiera sustituir o complementar su dieta diaria de proteínas, además de ser más económico que la carne.

A partir de los ocho prototipos que se realizaron, el prototipo que cuenta con la mezcla soya-maíz 80:20 con fermentación de 24 hr fue seleccionado debido a que es el que presenta mayor aporte proteico y con un buen perfil sensorial.

Gracias a que se sometió al maíz al proceso de nixtamalización podemos comprobar que aumentó el contenido de calcio en el producto dos veces más con respecto al tempeh tradicional reportado y aumentó tres veces con respecto a la masa de maíz nixtamalizado, por lo anterior se corroboró que el proceso de nixtamalización incrementa el balance de aminoácidos esenciales, agregándole más valor nutricional a las proteínas.

Debido a que bibliográficamente se sabe que las leguminosas son carentes de aminoácidos azufrados, se decidió hacer una mezcla soya-maíz, esto con la finalidad de complementar a los aminoácidos en la soya y de realizar un producto que tuviera alto contenido nutrimental, el aminograma dio como resultado que el producto final contaba con un aumento de 63.9% en metionina, 48.4% en cisteína y 28.1% lisina respecto al tempeh tradicional.

En el análisis microbiológico realizado al tempeh se concluye que el manejo de la materia prima y el proceso de elaboración fueron realizados adecuada e higiénicamente con lo que podemos asegurar la calidad sanitaria del producto ya que no hubo ninguna amenaza de algún microorganismo patógeno.

Para el empaque se seleccionó una bolsa de polietileno de alta densidad y se realizó el proceso de vacío, el vacío extrae el oxígeno e inhibe el crecimiento de algunos microorganismos alterantes. El empaque ayuda a que la vida útil del producto aumente y mantenga sus características físicas y químicas, además de que las bolsas de plástico no confieren sabores al producto y ayudan a que la fermentación se mantenga salubre, limpia e intacta.

Al realizar un estudio de vida útil mediante análisis químicos, fisicoquímicos y una prueba sensorial con 50 jueces semi entrenados, se concluye que el tempeh tiene una vida útil de 9 días almacenado a una temperatura de 4°C en refrigeración.

El estudio sirvió para establecer el precio del producto que fue de \$45.00 (precio mayoreo), ya que los encuestados opinan que al ser un producto con tantas propiedades y beneficios para la salud merece tener un costo más elevado que otro producto derivado de la soya lo

cual se concluye el tempeh tlayolli es competente con los otros productos existentes en el mercado.

RECOMENDACIONES

Con base a los resultados obtenidos se recomienda utilizar un conservador natural (benzoato de sodio) para así poder alargar la vida de anaquel del tempeh ya que es relativamente corta.

Después de realizar el estudio de mercado, la gente mencionó que le gustaría un tipo de tempeh con sabor diferente, se recomienda condimentar el tempeh.

De acuerdo con los resultados obtenidos, hacer mezclas de tempeh con otro tipo de granos mejora el sabor del producto, por lo cual, se recomienda hacer tempeh con mezcla de otros cereales u otras legumbres.

REFERENCIAS

- 1 Asgar M. *et al.* (2010). “Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs”. *Comp Rev Food Sci Food Saf*, 9:513-529.
- 2 Akewan, A. (2007). “Effect of a Konjac Flour / Soy Protein Isolate Mixture on Reduced-fat, Added Water Chiffon Cakes”. *AU J.T.* 11(1): 23-27.
- 3 Antonio, D. y Aller, R. (2012). “Efecto del consumo de soja sobre la masa ósea en mujeres menopáusicas. Effect of soy consumption on bone mass in menopausal females”. *Med Clin (Barc)*;138(2):60–61.
- 4 Anzaldúa, A. (2005). “La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica”. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- 5 Aponte, M. *et al.*, (2011). “Fitoquímicos”. 12/10/16, de Gobierno Bolivariano de Venezuela Sitio web: <http://www.inn.gob.ve/pdf/docinves/fitoquimicos.pdf>
- 6 Asturias, M. (2004). “Maíz, de alimento sagrado a negocio del hambre”. Quito, Ecuador Editorial HIVOS.
- 7 Baena, E. y Galisteo, J. (2015). “El ácido fólico, ¿nutriente o antinutriente?”. 15/03/17, de dietistas vegetarianos Sitio web: <http://www.dietistasvegetarianos.com/2015/11/el-acido-folico-nutriente-antinutriente-2/>
- 8 Badger T. *et al.*, (2005). “Soy Protein Isolate and Protection against Cancer”. *Journal of the American College of Nutrition*, importance of traditional fermented foods. 24(2): 146S-149S.
- 9 Baumann, U. y Bisping, B. (1995). “Proteolysis during tempe fermentation”. *Food Microbiology*, 12, 39-47.
- 10 Bavia, A. *et al.* (2012). “Chemical composition of tempeh from soybean cultivars specially developed for human consumption”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 32(3): 613-620, jul.-set.
- 11 Beldarraín, T, *et al.*, (2008). “Caracterización de cultivos iniciadores en productos cárnicos”. 03/05/2016, de Ciencia y Tecnología de Alimentos Sitio web: <http://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/4896/Tatiana%20Beldarrain.pdf?sequence=1>
- 12 Bello, J. (2000). “Ciencia bromatológica principios naturales de los alimentos”. Madrid, España: Editorial Diaz de Santos S.A.
- 13 Beuchat, L. (1978). “Food and beverage mycology”. AVI publishing Company. Inc.
- 14 Bisping, B, *et al.*, (1993). “Tempe fermentation: some aspects of formation of γ -linolenic acid, proteases and vitamins”. *Biotech Adv*, 11:481-493.
- 15 Bold, H., Alexopoulos, C. y Delevoryas T. (1909). “Morphology and fungi. Harper Collins Publishers”. New York. pp. 724-732.

- 16 Bueno, L. y Gallardo, R. (1998). “Preservación de hongos filamentosos en agua destilada estéril”. *Rev Iberoam Micol*; 15: 166-168.
- 17 Caballero, M. (2012). “Estudio de gran visión y factibilidad económica y financiera para el desarrollo de infraestructura de almacenamiento y distribución de granos y oleaginosas para el mediano y largo plazo”. 21/12/16, de SAGARPA Sitio web: http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/GRANOS.pdf
- 18 Calvo, D. (2003). “La soja: Valor dietético y nutricional”
- 19 Cantabrana, I., Perise, R. y Hernández, I. (2015). “Uses of *Rhizopus oryzae* in the kitchen”. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2:103–111.
- 20 Carballo, A. y Hernandez, A. (2013). Selección y manejo de maíces criollos. 11/03/2017, de SAGARPA Sitio web: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Selecci%C3%B3n%20y%20manejo%20de%20ma%C3%ADces%20criollos.pdf>
- 21 Cárdenas, D. (2014). “Efecto del proceso de nixtamalización por microondas sobre el contenido de fumonisinas en las tortillas de maíz”. (Tesis que para obtener el título de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos). UNAM, México.
- 22 Carmona, O. (2014). “Aspectos técnicos a considerar en el desarrollo de nuevos productos “.Cuautitlán Izcalli Estado de México, UNAM, FESC Campo 4. Departamento de educación continua.
- 23 Carrillo, M. y Mondragón, F. (2011). “Estudio de vida útil del queso asadero”. *Revista salud pública y nutrición*. 12(3).
- 24 Chen, L. *et al.*, (2013). “Value – added products from soybean: removal of anti-nutritional factors via bioprocessing”. In: El-Shemy, H.A. (Ed.), *Soybean – Bioactive Compounds*. InTech, pp. 161–179.
- 25 Comité nacional sistema-producto oleaginosas. (2010). “Alternativas para el desarrollo Soya, situación actual, mundial y nacional (Primera parte)”. 07/06/16, Disponible en: http://www.oleaginosas.org/impr_338.shtml
- 26 Cornejo, M.A. (1993). “Alternativas en la producción de Tempeh con diferentes variedades de frijol de consumo nacional”. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Estado de México.
- 27 Correia, R. *et al.*, (2004). “Amylase and *Helicobacter pylori* inhibition by phenolic extracts of pineapple wastes bioprocessed by *Rhizopus oligosporus*”. *Journal of Food Biochemistry*, 28: 419-434.
- 28 Day L. (2013). “Proteins from land plants—potential resources for human nutrition and food security”. *Trends Food Sci Technol* 2013, 32:25-42.
- 29 De Leo M.L. (2007). “Handbook of Mead, Poultry and Seafood quality”. Ed. Mollet,

- 30 De Reu J. *et al.*, (1994). "Changes in soya bean lipids during tempe fermentation". Food Chemistry 1994, 50:171-175.
- 31 Departamento de Agricultura. (2012). "El maíz en la nutrición humana". 13/10/16, de FAO Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S00.htm#Contents>
- 32 Dinesh B. y Vidhyalakshmi, R. (2009). "A Low Cost Nutritious Food "Tempeh"- A Review. World Journal of Dairy & Food Sciences". Vol 4(1):22-27.
- 33 Egounlety M. y Aworh, O. (2015). "Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms)". Journal of Food Engineering 56 249–254.
- 34 Elizalde, A., Porrilla, Y. y Chaparro, D. (2009). "Factores antinutricionales en semillas Facultad de ciencias agropecuarias". Vol. 7. No. 1. p.p 48-51.
- 35 Encuentro Vegano (2016). "Tempeh de garbanzo". 15/03/17, de tienda vegana en madrid Sitio web: <http://encuentrovegano.es/>
- 36 EL UNIVERSAL (2016). "Prevé FAO buena perspectiva para maíz en 2016". 12/10/16, EL UNIVERSAL. Sitio web: <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/nacion/sociedad/2016/01/6/preve-fao-buena-perspectiva-para-maiz-en-2016>.
- 37 Feng Xin-Mei. (2006). "Microbial dynamics during barley tempeh fermentation". Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- 38 Feng, X.M. *et al.* (2007). "Image analysis for monitoring the barley tempeh fermentation process". Journal of Applied Microbiology 103 1113–1121.
- 39 Ferreira, M., *et al.* (2011). "Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition". Universidad de Estadual de Londrina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Universitário Pesq. agropec. bras., Brasília, v.46, n.11, p.1555-1561.
- 40 Foerster, A. (2012). "Antinutrientes, un problema grave en el consumo de cereales, legumbres y semillas". 15/03/17, de Alimento y conciencia Sitio web: <http://alimentoconciencia.com/antinutrientes-un-problema-grave-en-el-consumo-de-cereales-legumbres-y-semillas/>
- 41 food-info.net. (2014). "¿Cuál es el pH de los alimentos?" 11/01/17, de Wageningen University Sitio web: <http://www.food-info.net/es/qa/qa-fp65.htm>
- 42 García, S. (2004). "Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento". Tesis de maestría, Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada, IPN, Querétaro, Mex.
- 43 Gastronomía Vegana. (2016). "¿Qué es el tempeh?". 06/07/16, de GASTRONOMIA VEGANA no solo recetas Sitio web: <http://www.gastronomiavegana.org/articulos/ques-es-el-tempeh/>

- 44 Gaucín, D. (2009). “El consumo de cereales en México”. EL ECONOMISTA Opinión y Análisis.
- 45 Gibbs B. *et al.* (2004). “Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. Food Research International”. 37:123-131.
- 46 González, F. (2015). “¿Por qué la teoría de las 4P’s ya no funciona para el marketing?”. 12/05/16, de mercadotecniapublicidadmedios Sitio web: <http://www.merca20.com/por-que-la-teoria-de-las-4ps-ya-no-funciona-para-el-marketing/>
- 47 Griffith, J. (2016). “Recent advances in the functionality of non-animal sourced proteins contributing to their use in meat analogs”. Current Opinion in Food Science 2016, 7:7–13.
- 48 Hall, F. (2014).” Leche de soya: información y contradicciones”.
- 49 Haron, H. *et al.* (2009). “Daidzein and genestein contents in tempeh and selected soy products”. Food chemistry 115 p.p. 1350-1356.
- 50 He, F. y Chen, J. (2013). “Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms”. Food Science and Human Wellness 2 p.p. 146–161.
- 51 Hering, L., Bisping, B. y Rehm, H. J. (1991). “Patterns and formation of fatty acids at tempe fermentation by several strains of *Rhizopus* sp. Fat Sci. Technol”. P.p 8, 303-308.
- 52 Hesseltine, C. (1983). “Tempeh: A mold-modified indigenous fermented food made from soybeans and/or cereal grains”. Critical Reviews in Microbiology. P.p.19, 137–188.
- 53 Hasseltine, C., Camargo, R. y Rackis, J. (1963). “A mould inhibitor in soybeans”. Nature p.p. 1226-1227.
- 54 Hermana, M. y Karyadi, D. (2001). “Composition and nutritional value of tempeh: its role in the improvement of the nutritional value of food. In: AGRANOFF, J.” (Ed.). The complete handbook of tempeh: the unique fermented soyfood of Indonesia. 2.ed. Singapore: American Soybean Association Southeast Asia Regional Office, p.p.27- 32.
- 55 Hernández, F. (2014). “Situación actual del maíz”. 12/10/16, de EL ECONOMISTA Sitio web: <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2014/02/17/situacion-actual-maiz>
- 56 Hough G. y Fiszman S. (2005). “Estimación de la vida útil sensorial”. Madrid, España: Programa CYTED.
- 57 Hough, G. (2010). “Sensory shelf life estimation of food products”. United States of America: CRC Press Taylor & Francis Group.
- 58 Hugenholtz, J. (2013). “Traditional biotechnology for new foods and beverages”. Curr. Opin. Biotechnol. 24 (2), 155–159.

- 59 Hutkins, R. (2006). "Microbiology and technology of fermented foods". IFT press. Blackwell Publishing.
- 60 Jiménez, L. (2007). "Composición y procesamiento de la soya para consumo humano". Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, número 37.
- 61 Kao, C. y Robinson, R. (1978). "Nutritional Aspects of fermented foods from chickpea, horsbean and soybean", Cereal Chemistry p.p. 512-517.
- 62 Keuth, S. y Bisping, B. (1993). "Formation of vitamins by pure cultures of tempe moulds and bacteria during the tempe solid substrate fermentation". J. Appl. Bacteriol. 75, 427-434.
- 63 Kiers, J., *et al.*, (2002). "Inhibition of adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli K88 by soya bean Tempe". Letters in Applied Microbiology, 35: 311-315
- 64 Kobayasi, S.Y., Okazaki, N. y Koseki, T. (1992). "Purification and characterization of an antibiotic substance produced from Rhizopus oligosporus IFO 8631". Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 56: 94-98.
- 65 ko, S. (1964). "Tempeh, a fermented food made from soy beans". Presented at the international symposium on oilseed protein food. Tokyo.
- 66 Kotler, Lane y Kevil (2006). "Dirección de Marketing. Duodécima edición". Pearson Prentice Hall.
- 67 Kumar P. *et al.* (2015). "Meat analogues: health promising sustainable meat substitutes". Critical Reviews in Food Science and Nutrition.
- 68 La biotecnología alimentaria antigua: los alimentos fermentados. Revista digital universitaria (2014). [fecha de consulta: 07 de Junio de 2015]. Publicación diaria. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num8/art64/>
- 69 Lee A. *et al.*, (2000). "Isoflavones-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women". American Journal of Clinical Nutrition, 72(3): 844-852.
- 70 Lees, R. (1982). "Análisis de los alimentos, métodos analíticos y de control de calidad". 2º edición. Editorial Acribia. España.
- 71 Leiner I. E. (1977). "Nutritional aspects of soy proteins products". Journal American Oil Chemist Society p.p. 454-479.
- 72 Lerma, A. (2011). "Desarrollo de nuevos productos: una visión integral". 4ª Ed, Cengage Learning. México.
- 73 Liu, K. (1997). "Soybeans, technology, and utilization". New York: Chapman & Hall.
- 74 Los Alimentos. (2015). "Aminoácidos del tempeh". 18/01/17, de Alimentos y sus propiedades Sitio web: <http://alimentos.org.es/aminoacidos-tempeh>.
- 75 Luna, A. (2007). "Composición y procesamiento de la soya para consumo humano". 10/05/2016, de Investigación y ciencia de la universidad autónoma de Aguascalientes Sitio web: <http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista37/Articulo%205.pdf>
- 76 Mejía E. y Lumen B. (2006) "Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases". Secularity, Reproduction & Menopause 4(2):91-95.

- 77 Messina M. y Messina, V. (2000). "Soy foods, soybean isoflavones and bone health: a brief overview". *J. Renal. Nutr.*, 10: 63-68.
- 78 Messina, M. J., *et al.* (1994). "Soy intake and cancer risk: A review of the in vitro and in vivo data". *Nutrition and Cancer*, 21, 113–131.
- 79 Mugula, J.K. (1992). "Evaluation of the nutritive value of maize-soybean Tempe as a potential Weaning food in Tanzania". *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 43: 113-119.
- 80 Munguia, P. *et al.*, (2015). "Estudio Sobre la Fermentación de Soya (*Glycine max*) con *Rhizopus oryzae*". 11/03/17 de RESPYN Sitio web: www.respyn.uanl.mx/especiales/2008/ee-08-2008/documentos/A024.pd.
- 81 Mochón, Fy Beker, V. (2003) "Elementos de micro y macroeconomía". Editorial McGraw-Hill. Primera edición.
- 82 Moran, P. (2015). "Tempeh Risofus" Sitio web: <https://www.facebook.com/tempehrisofus/?fref=ts>
- 83 NMX-FF-034/1-SCFI-2002. "Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - cereales – parte i: maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado – especificaciones y métodos de prueba". Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- 84 NMX-F-066-S-1978. "Determinación de cenizas en alimentos. Foodstuff determinations of ashes". Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- 85 NMX-F-083-1986. "Alimentos. Determinación de humedad en productos alimenticios. Foods. Moisture in food products Determination". Normas mexicanas. Dirección general de Normas.
- 86 NMX-F-089-S-1978. "Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos". foodstuff-determination of ether extract (soxhlet). Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- 87 NMX-F-102-S-1978. "Determinación de la acidez titulable en procesos elaborados a partir de frutos y hortalizas". Norma mexicana. Dirección general de normas.
- 88 NMX-F-317-S-1978. "Determinación de ph en alimentos. Determination of ph in foods". Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- 89 NMX-F-428-1982. "Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). foods. determination of moisture (thermobalance rapid method)". Normas mexicanas. Dirección general de normas
- 90 NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, "Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa".
- 91 NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, "Bienes y servicios. Método para la cuentade mohos y levaduras en alimentos".
- 92 NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, "Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa".

- 93 Netsanet, S. (2016). "Food Fermentation. Reference Module in food Sciences". CSIRO Food and Nutrition, Werribee, VIC, Australia. Ed. Elsevier 2016, pp.:1-3. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03420-X>
- 94 Nowak, J. & Szebiotk, K. (1992). "Some biochemical changes during soybean and pea tempeh fermentation. Institute of Food Technology of Plant Origin". The University of Agriculture, Poznan, Wojska Polskiego 28, Poland, 9, 7. 2016, De Food Microbiology, Base de datos.
- 95 Okamoto, A., *et al.*, (1995). "Anti-hypertensive substances in fermented soybean, natto". *Plant Foods Human Nutrition*, 47, 39–47.
- 96 Paredes, O., Guevara, F. y Bello, L. (2009). "La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz". 21.04.2016, de ciencias 92-93 Sitio web: http://www.alumno.unam.mx/algo_leer/nixtamalizacion.pdf
- 97 Pedrero, D. & Pangborn, R., (1996). "Evaluación sensorial de los alimentos". *Métodos Analíticos*. México: Editorial Alhambra Mexicana.
- 98 Pérez, C. (2016). Maíz, energía beneficiosa para la salud. 11/03/2016, de Natursan Sitio web: <https://www.natursan.net/maiz-beneficios-y-propiedades/>
- 99 Perspectivas de largo plazo para el sector agropecuario de México 2011- 2020 Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios, (2011). Sector agropecuario de México.
- 100 Producción Mundial maíz. (2016). "Maíz Producción Mundial 2016/2017". 12/09/16, de Producción Mundial maiz.com Sitio web: <https://www.produccionmundialmaiz.com/>
- 101 Polo, D. (2015). "Ciclo de vida de un producto y sus etapas. 07/06/2016, de Emprender fácil". Sitio web: <http://www.emprender-facil.com/es/ciclo-de-vida-de-un-producto-y-sus-etapas/>
- 102 Richard, C., McDowell, D. & Kirman, M. (2004). "Manual del envasado de alimentos y bebidas". Madrid, España: AMV Ediciones, Mundi Prensa.
- 103 Ridner, E., *et al.*, (2006). "Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud". Buenos Aires: Grupo Q S.A.:Sociedad Argentina de Nutrición.
- 104 Riley, C., (2015). "Top 10 Food Trends to Know in 2016". Available from: www.wholefoodsmarket.com.
- 105 Salunkhe, D. (1992). "World oil seeds, Chemistry". *Technology and Utilization*. Van Nostrand. Reinhold. New York.
- 106 Samurailatpam, S. & Rai, A. (2016). "Review, Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits". *Trends in Food Science & Technology* 50 (2016) 1e10.
- 107 Sanjukta, S. & Amit, K. (2016). "Review Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits". *Trends in Food Science & Technology*. 50:1-10.

- 108 Sanchez, A., Gastelum, G. & Esqueda, M. (2007). “Composición química y nutricional de semillas de leguminosas fermentadas con *Rhizopus oligosporus*”. *BIOtecnica*, IX, 10. 12/04/16, De INTERNET Base de datos
- 109 Schnarch, A. (2009). “Desarrollo de nuevos productos y empresas. Creatividad, innovación y marketing”. México: 5ª Edición. McGraw Hill.
- 110 SELFNutritiondata. (2014). “tempeh nutrition facts & Calories”. 25/11/16, de know ehat you eat Sitio web: <http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products/4381/2>
- 111 Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2016). “El SIAP en el Foro Latinoamericano Geoespacial 2016”. 05/10/2016, de SIAP Sitio web: <http://www.gob.mx/siap/articulos/el-siap-en-el-foro-latinoamericano-geoespacial-2016?idiom=es>
- 112 Shurfleff, W. & Aoyagi, A. (1979). “The book of tempeh”. Harper and Row N.Y.
- 113 Shurfleff, W. & Aoyagi, A. (2001). “Favorite Tempeh Recipes Organic” Living. A.S.A
- 114 Shurtleff, W. and A. Aoyagi, 2001. “The Book of Tempeh”, 2nd edition. Pgs 48-50, 103-113.
- 115 Shurtleff W. & Aoyagi A. (2011). “History of Tempeh and Tempeh products” (1815-2011). Lafayette, CA USA: Soyinfo Center.
- 116 Sin-ya, K., Naoto, O. & Takuya, K. (1992). “Purification and Characterization of an Antibiotic Substance Produced from *Rhizopus oligosporus*”. *IFO 8631, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, p.p 56:1,94-98
- 117 Smith, A.K., *et al.*, (1964). “Tempeh nutritive value in relation to processing”. *Cereal chemistry* p.p 123-127.
- 118 Souci, Fachman & Kraut. (2008). “Food composition and nutrition tables”. 7a Edición.
- 119 Soni, S. & Dey, G., (2014). “Perspectives on global fermented foods”. *Br. Food J.* 116 (11), 1767–1787.
- 120 Soyfoods (2009). “La soya, sus productos y aplicaciones”. *ASA internacional marketing*. p.p 12-16
- 121 Steinkraus, K. (1985). “Handbook of indigenous fermented foods”. New York Microbiology series Ed. Bekker.
- 122 Taku, K., *et al.*, (2012). “Extracted or synthesized soybean isoflavones reduce menopausal hot flash frequency and severity: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials *Menopause*”. p.p 776-790.
- 123 Tamang, J., Koichi, W. & Wilhelm, H. (2016). “Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology*”. (7):1-28, Article 377.
- 124 Tempeh Murni GDL (2015). Facebook: <https://www.facebook.com/Tempeh-Murni-GDL-553045928155275/?fref=photo>
- 125 Torres, N & Tovar-Palacio, A.R. (2009). “The importance of soy in Mexico, its nutritional value and effect on health”. *Salud Publica Mex* 51 p.p.:246-254.

- 126 Tracy, B. (2014). "Marketing". Nashville, Tennessee: grupo nelson.
- 127 Tüncel G., Noutt, L. & Rombouts, F. (2016). "Effect of acidification on the microbiological composition and performance of tempeh starter". *Food Microbiology*, 1989, 6, 37-43.
- 128 Valencia, F., Millán, L. & Jaramillo, Y. (2008). "Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías". *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 5, núm. pp. 28-33 Corporación Universitaria Lasallista Antioquia, Colombia.
- 129 Valencia, R. & Garzón, A. (2004). "Potencialidades de la soya y usos de la alimentación humana y animal". Villavicencio, Meta, Colombia: CORPOICA.
- 130 Vaidehi, M. P & Rathnamani, A. (1990). "The shelf-life of soy-sunflower tempeh and its acceptability to Indian children". *Food Nutrition Bulletin*, v. 12, n. 1, p. 53-56.
- 131 Varzakas, T. (1986). "Rhizopus oligosporus mycelial penetration and enzyme diffusion on soya bean tempeh". *Process Biochemistry* Vol.33, No.7 pp. 741-747.
- 132 Vatter, D.A., *et al.*, (2004). "Antimicrobial activity against select food-borne pathogens by phenolic antioxidants enriched in cranberry pomace by Solid-state bioprocessing using the food grade fungus *Rhizopus oligosporus*". *Process Biochemistry*, 39: 1939-1946.
- 133 Villavicencio, L. & Gonzales, E. (2010). "Aprovechamiento del xoconostle mediante la elaboración de un dulce típico sabor fresa con chile". TESIS UNAM, ingeniería en alimentos, México.
- 134 Winarno, F. G. & Reddy, N. R. (1986). "Tempe. In Legume-based fermented foods" (Eds Reddy, N. R., Pierson, M. D. and Salunkhe, D. K. pp. 95-117. Boca Raton, CRC Press.
- 135 Wang, H. & Hesseltine, C. (1970). "Multiple Forms of *Rhizopus oligosporus* Protease". Northern Regional Research Laboratory, Illinois 61604, 5. 2016, De ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS Base de datos.
- 136 Xiao C.W. (2011). "Functional soy products". In: Maria Saarela Editor. *Functional Foods: Concept to Product*. Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2nd ed. Cornwall, UK: Woodhead Publishing: 534-556.
- 137 Zamora, R. G. & Veum, T. L. (1979) "The nutritive value of dehulled soybeans fermented with *Aspergillus oryzae* or *Rhizopus oligosporus* as evaluated by rats". *J. Nutr.* 109, 1333-1339.

ANEXO

Análisis fisicoquímico

ACIDEZ POR TITULACIÓN ÁCIDO-BASE (NMX-F-102-S-1978)

Resultados

Maíz

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.001 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.0901\%$$

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.0009 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.0811\%$$

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.001 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.0901\%$$

Soya

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.0048 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.4324\%$$

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.0046 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.4144\%$$

$$\% \text{ Acidez} = \frac{0.0043 \cdot 0.1 \cdot 90.08}{10} * 100 = 0.3873\%$$

ACIDEZ		
MUESTRA	MAÍZ	SOYA
1	0.0901	0.4324
2	0.0811	0.4144
3	0.0901	0.3873
X	0.0871	0.4114
σ	0.0052	0.0227
CV	5.9726	5.5108

Peso equivalente del ácido láctico es 90.08 g/mol

pH POR POTENCIÓMETRO (NM-F-317-S-1978)

PH		
3 MUESTRAS	MAÍZ	SOYA
1	7.2	7.1
2	7.2	7.2
3	7.2	7.2
X	7.200	7.167
σ	0.000	0.058
CV	0.000	0.806

Humedad por Termobalanza (NMX-F-428-1982)

HUMEDAD Termobalanza análoga		
MUESTRA	maíz %	soya %
1	15.5	11
2	14.5	11
3	15	10
analítica	13.18	8.1
teórico	17	11
X	15.0	10.67
σ	0.5	0.58
CV	3.33	5.41

Proteínas por método de MicroKjeldahl (AOAC 960.52)

Resultados

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(0.0089-0.0004)*0.2*0.014}{0.0002} * 100 * 6.25 = 7.4375$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(0.0085-0.0004)*0.2*0.014}{0.0002} * 100 * 6.25 = 7.0875$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(0.0088-0.0004)*0.2*0.014}{0.0002} * 100 * 6.25 = 7.3500$$

PROTEÍNA		
MUESTRA	gasto ml	%PROTEINA
1	0.0089	7.4375
2	0.0085	7.0875
3	0.0088	7.3500
blanco	0.0004	0.0002
	TEÓRICO	8.03
	X	7.3
	σ	0.2
	CV	2.50

CENIZAS POR MÉTODO DE KLEMM (NMX-F-066-S-1978)

Resultados

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{21.4300-21.4073}{2} * 100 = 1.1350$$

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{21.3430-21.3000}{2} * 100 = 2.1500$$

$$\% \text{Cenizas} = \frac{28.7048 - 28.6768}{2} * 100 = 1.4000$$

CENIZAS KLEEM			
MUESTRA	PESO CRISOL	PC C/M	%CENIZAS
1	21.4073	21.4300	1.1350
2	21.3000	21.3430	2.1500
3	28.6768	28.7048	1.4000
muestra (g)	2	TEÓRICO	1.3
		X	1.6
		σ	0.5
		CV	33.71

FIBRA DIETÉTICA POR MÉTODO DE Kennedy (Lees, 1982)

Resultados

$$\% \text{ fibra} = \frac{(1.1933 - 1.1221) - (21.4400 - 21.4055)}{1.5} * 100 = 2.4467$$

$$\% \text{ fibra} = \frac{(1.2069 - 1.1395) - (21.3310 - 21.3129)}{1.5} * 100 = 2.4467$$

FIBRA					
MUESTRA	PF	PF C/M	CRISOL	CRISOL C/M	%FIBRA
1	1.1221	1.1933	21.4055	21.44	2.4467
2	1.1395	1.2069	21.3129	21.331	3.2867
muestra (g)	1.5			TEÓRICO	9.7
				X	2.9
				σ	0.6
				CV	20.72

Grasa por Soxhlet (NMX-F-089-S-1978)

Resultados

$$\% \text{GRASA} = \frac{91.8752 - 91.6956}{5} * 100 = 3.592$$

$$\% \text{GRASA} = \frac{91.8752 - 91.6956}{5} * 100 = 3.592$$

$$\% \text{GRASA} = \frac{91.8752 - 91.6956}{5} * 100 = 3.592$$

GRASA SOXHLET			
MUESTRA	PS MATRÁS	PM C/M	%GRASA
1	91.6956	91.8752	3.592
2	116.0100	116.1919	3.638
3	105.3000	105.4658	3.316
muestra (g)	5	TEÓRICO	3.8
		X	3.5
		σ	0.2
		CV	4.95