

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

MODIFICACION DEL METODO DE DEL  
VALLE/NICKERSON EN LA PREPARACION  
DE PASTELES DE PESCADO SALADO

TESIS MANCOMUNADA  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A N

ADRIANA CASASA GARCIA  
HILDA ANTONIA GARDUÑO ROMAN



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.

PRESIDENTE: PROF. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

VOCAL: PROF. RUBEN BERRA GARCIA  
COSS

SECRETARIO: PROF. LUIS RAUL TOVAR

1er. SUPLENTE: PROF. MIGUEL HERNANDEZ INFANTE

2do. SUPLENTE: PROF. MERCEDES IRUESTE ALEJANDRE

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS DE LA DIVISION DE  
ESTUDIOS SUPERIORES DE LA FACULTAD DE  
QUIMICA, U. N. A. M.

SUSTENTANTES: CASASA GARCIA ADRIANA

GARDUÑO ROMAN HILDA ANTONIA

ASESOR DEL TEMA: PROF. LUIS RAUL TOVAR

# I N D I C E

Página

## CAPITULO I

Objetivo.....	3
---------------	---

## CAPITULO II

Introducción.....	5
Generalidades.....	8
Salado de Pescado .....	13
Método de Del Valle/Nickerson.....	18
Autoxidación.....	23
Oxidación en Pescado.....	28
Antioxidantes.....	30
Determinación de Rancidez en Pescado por el Método del - Acido' 2-Tiobarbitúrico.....	36
Tempeh.....	40
Frijol Negro.....	44
Pruebas de Aceptación.....	46

## CAPITULO III (Método y Materiales)

Método de Elaboración de Tempeh y Frijol Negro Fermen- - tado.....	50
Modificación Del Método de Del Valle, Nickerson.....	53
Método del Acido 2-Tiobarbitúrico.....	56
Determinación de Proteínas por el Método de Microkjel- - dahl.....	59
Análisis Organoléptico.....	62

CAPITULO IV

Resultados y Discusión.....	65
Anexos.....	81

CAPITULO V

Conclusiones.....	89
Bibliografía.....	91

CAPITULO I

## OBJETIVO

Los investigadores F.R. Del Valle y J.T. Nickerson en 1968, descubrieron un proceso mediante el cual se puedan aprovechar grandes recursos pesqueros en una forma barata. Pesquerías diversas, -- así como residuos y fileteadoras y enlatadoras son procesados mediante un salado rápido y procesado posterior para formar pasteles, o tortas, eliminándose la mayor parte de agua y secándose finalmente al sol.

Este proceso tiene un inconveniente, que es la oxidación de lípidos altamente insaturados, presentes en la mayoría de las especies utilizadas.

La modificación planteada en este trabajo, es la incorporación de tempeh y frijol negro fermentado, secos y molidos, para -- prevenir la oxidación de los ácidos grasos insaturados.

El tempeh es un alimento originario de Indonesia preparado de soya (*Glycine max*) fermentada con el hongo *Rhizopus oligosporus*, el cual libera compuestos con actividad antioxidante.

Una de las fuentes principales de alimentación en varios países de América Latina, es el frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), el cual en un trabajo previo efectuado en el Departamento de Alimentos de la DES<sup>+</sup>, se fermentó al igual que la soya y se probó su capacidad como antioxidante.

+ División de Estudios Superiores de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de México.

Así pues, ambas leguminosas fermentadas fueron incorporadas a dos especies de pescado con alto contenido de grasa para comprobar la actividad antioxidante lográndose resultados muy positivos.

C A P I T U L O   I I

## INTRODUCCION

Entre los problemas más serios de los países en desarrollo se encuentra el suministro de una nutrición protéica adecuada para sus pobladores. Una de las soluciones es proponer el uso de proteínas animales, vegetales, o ambas, de las cuales se puede mencionar productos protéicos concentrados de pescado; productos vegetales como son mezclas de cereales con harinas de leguminosas y combinaciones de productos vegetales y animales como la leche en polvo desnatada suplementado con harinas vegetales.

Se ha dicho muchas veces que la proteína requerida por el hombre se puede encontrar en las grandes reservas de la biomasa acuática, como son peces, mariscos, crustáceos, algas, etc. de mares, ríos y lagos, que alcanzan a cubrir  $4/5$  partes de la superficie terrestre aproximadamente (Loredo, 1972); por lo que la posibilidad de utilizar las grandes riquezas marítimas, es una de las mejores soluciones a los problemas nutricionales de los habitantes de países en vías de desarrollo, como lo es México, cuya industria pesquera no tiene un elevado desarrollo, pero posee 100,000 km. de litorales y 1.5 millones de hectáreas costeras, en las cuales existe una gran riqueza ictiológica (Ortiz Jr., 1975).

En décadas pasadas se han hecho varios intentos para lograr el cabal aprovechamiento de las riquezas marítimas; pero a pesar de dichos esfuerzos, no se ha conseguido aún ese objetivo.

Las investigaciones biológicas realizadas anteriormente -- por las instituciones extranjeras como la "U. S. Wildlife Service", la Comisión Interamericana del Atún Tropical, el Instituto de Biología Pesquero de Hamburgo y por los organismos nacionales actuales como el Intituto de Biología Marina de la U.N.A.M., el Instituto Tecnológico de Monterrey, el Banco Nacional de Fomento Cooperativo y el Insituto de Investigaciones Biológicas Pesqueras, coinciden en señalar la existencia de una considerable riqueza en las aguas adyacentes a las costas que no ha sido explotada.

Muchas especies marinas podrían ser utilizadas; pero actualmente solo unas cuantas se han aprovechado debido a la falta de plantas procesadoras; por lo que en algunos casos la producción es exportada como materia prima a países cuya tecnología es más avanzada.

Esta situación y los prejuicios de los consumidores nacionales que prefieren el producto fresco, hace que un 60% de la población de México no consuma pescado, a pesar de padecer una deficiencia crónica de proteínas. Las campañas emprendidas en los últimos años para aumentar el consumo de productos del mar, no ha logrado grandes resultados. El mayor mercado de dichos productos es el D.F., donde en 1973, el consumo por habitantes llegó a ser de 9 kg., mientras que el resto del país fué de 3.2 kg. per cápita (Ortiz Jr., 1975).

La creciente necesidad de encontrar nuevos alimentos de al

to valor nutritivo y a un precio relativamente bajo, para que la población mexicana tenga el aporte proteico adecuado, ha hecho -- necesario elaborar un programa de acuerdo a la moderna tecnología de alimentos, que permita aprovechar el pescado en combinación -- con leguminosas de amplia aceptación para el gusto nacional y que resuelva al mismo tiempo sus carencias. El estudio de esta combinación se puede enfocar para que al mismo tiempo que satisfaga el paladar del mexicano, se logre una vida de anaquel del producto -- más larga.

En las páginas siguientes se ampliarán las explicaciones -- de los métodos seguidos en el desarrollo del producto, que incluye las técnicas de salado, fabricación de tempeh, frijol negro -- fermentado, determinación de rancidez por el método del ácido --- 2-tiobarbitúrico (TBA) y determinación de proteínas por el método de Microkjeldahl, así como una breve introducción a los temas de oxidación y antioxidantes.

## GENERALIDADES

El mar, como se dijo anteriormente, proporciona gran variedad de alimentos, entre los cuales se encuentran los peces. Existe una clasificación para peces de agua salada que depende de la profundidad a la que se encuentren, lo que hace que varíe su contenido de grasa y es la siguiente:

a) Pelágicos.- Aquellos que se encuentran en capas superficiales o intermedias de las aguas de mar, entre los cuales están: el atún, arenque, sardina, salmón, macarela, etc., aquí se incluyen muchos peces que alcanzan hasta un 20% de grasa en el músculo.

b) Demersales.- Son los peces que se encuentran en/o cerca del fondo del mar, generalmente en los bancos continentales; aquí están peces como: bacalao, robalo, merlan, peces planos, perca marina, camarones, ostiones, cangrejos, etc. Estos llegan a tener de 0.2 hasta 5% de grasa en el músculo.

## Composición.-

La carne de pescado de cualquier especie varía enormemente en su composición y propiedades nutricionales de acuerdo a varios factores como son: estación del año, grado de madurez, alimentación del pez, etc.

La composición química de la mayoría de los peces de acuerdo a N.N. Potter (1973), es la siguiente:

Sólidos totales	-----	18 - 35%
Proteínas	-----	14 - 20%
Grasa	-----	0.2 - 20%
Cenizas	-----	0.1 - 1.8%

Las proteínas del pescado son altamente digeribles y su contenido de aminoácidos esenciales, es igual al de la carne roja, desde el punto de vista nutricional.

La grasa del pescado es fácilmente digerible y rica en ácidos grasos insaturados, esto hace que el pescado sea de una gran importancia en la dieta humana. Ya que las grasas del pescado son insaturadas, se ha intentado que el pescado sea una medida de regularización del colesterol en el plasma sanguíneo.

La mayoría de los aceites vegetales poliinsaturados son dienos (dos dobles enlaces por molécula). Los aceites de pescado tienen como principales poliinsaturados penta o hexaenos (5 ó 6 dobles enlaces por molécula), por lo que son más efectivos para bajar el nivel de colesterol en la sangre.

Entre los ácidos grasos insaturados más importantes se encuentran el ácido docosahexaenoico, el cual es un ácido graso de 22 átomos de carbonos y 6 dobles enlaces perteneciente a la familia omega-3 de ácidos grasos. Se encuentra relativamente en grandes cantidades en ciertos tejidos humanos, incluyendo cerebro y sistema nervioso central. Se cree, aunque no se ha compro

bado, que la falta de este ácido en los tejidos del sistema nervioso central está asociada con la esclerosis múltiple. Teóricamente varios ácidos grasos de la familia omega-3, como el ácido linolénico, pueden metabolizarse ordinariamente en el cuerpo para formar ácido docosahexaenoico. No obstante, en algunos individuos, el sistema enzimático para llevar ésto a cabo es defectuoso, por lo cual tienen que ingerir el ácido ya formado. El pescado es el único alimento en el que se encuentra este ácido-graso en cantidades significativas, (Stansby, 1973), Ver Tabla-I.

La grasa de pescado se encuentra principalmente como fosfolípidos y como triglicéridos. Todas las especies de pescado tienen aproximadamente 0.5% de su grasa total, (en la cual los ácidos grasos están combinados) como fosfolípidos, los cuales se encuentran como unidad básica en la estructura celular requerida para la vida. Otros lípidos presentes en algunas especies como tiburón son los alcoxidiglicéridos en proporciones mayores del 20%. En especies no usuales, algunos de los ácidos grasos se encuentran como esteres de cera.

Muchas especies de pescado con un contenido muy bajo de -- grasa en la carne, tienen considerable grasa almacenada en el hígado en forma de triglicéridos. Estos pueden servirle al pescado como una reserva de fuente de energía, la cual es usada -- cuando el alimento no es aprovechado.

**TABLA No I**  
**COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DE LAS ESPECIES**  
**UTILIZADAS** (GRUGER, 1967)

NUMERO DE CARBONOS	14	15	16	16:1	17	18	18:1	18:2	18:3	18:4	20:1	20:4	20:5	22:1	22:5	22:6
PROPORCION EN LISA	4.6	6.3	17.4	11.8	0.8	5.0	8.4	3.2	1.4	3.0	0.7	2.6	7.5	0.7	3.9	13.4
PROPORCION EN SIERRA	4.9	0.5	28.2	5.3	1.0	3.9	19.3	1.1	1.3	3.4	3.1	3.9	7.1	2.8	1.2	10.8

El pescado tiene dos tipos de músculo: el rojo u obscuro- y el claro o blanco. La grasa del músculo rojo del pescado congelado y almacenado por largo tiempo, tiende a oxidarse más fácilmente, dando un sabor a rancio (Stansby, 1973).

El pescado es rico en vitaminas. Su grasa es una buena -- fuente de vitaminas A y D, así como de las del complejo B, pero en menores cantidades.

Los peces también son fuente de minerales, especialmente de yodo; pero contienen menos hierro que la mayoría de las carnes. Una buena fuente de fósforo y calcio son el Salmón y las sardinas enlatadas, ya que su procesamiento incluye los huesos.

#### FACTORES DE DESCOMPOSICION.

Los factores que influyen en la descomposición del tejido del pescado son: diferencias en la composición química de los tejidos de las diversas especies; influencia de la estación del año en esta composición química; los efectos de la sal en la microflora de los peces; prácticas empleadas para capturar y conservar los peces en los barcos pesqueros.

Factores Microbiológicos.- La carne de los peces sanos es bacteriológicamente estéril, pero existen un gran número de bacterias de diferentes tipos en la piel y sistemas digestivos de los peces vivos. Al morir el pez, las bacterias atacan rápidamente todos los componentes de los tejidos, aún en las mejores-

condiciones de refrigeración, ya que los peces son de sangre -- fría y algunos viven a temperaturas bastantes bajas.

Factores Fisiológicos.- Al ser capturados los peces lu--- chan, gastando así la mayoría del glucógeno que contienen sus - músculos, por lo que al morir queda poco glucógeno para conver- tirse en ácido láctico, el cual tiene una acción bactericida.

Factores Químicos.- La grasa del pescado tiene fosfolípi- dos ricos en trimetilamina, que al ser separada por las bacte-- rias y enzimas naturales, dá un fuerte olor a pescado. Este - - olor es aumentado por los productos olorosos de la descomposi-- ción de las grasas por oxidación.

El pescado, como se mencionó anteriormente, es muy suscep- tible a la descomposición, por lo que se ha dedicado mucha aten- ción a los métodos de su conservación.

Actualmente, el pescado es procesado por métodos de conge- lación, enlatado, salado, ahumado, escabechado y secado.

La parte del pescado que se consume principalmente es el- músculo; las partes restantes, al igual que grandes cantidades- de especies no comerciales, se emplean como alimento para anima- les domésticos.

#### SALADO DE PESCADO

Los primeros métodos para conservar la carne fresca duran

te más tiempo fueron el curado mediante humo, sal y secado subsecuente, ésto data de aproximadamente 1,500 años a.c. Actualmente, estos métodos son utilizados en áreas donde no se poseen instalaciones modernas de conservación y es necesario preservar la carne.

En la carne tratada con sal común suceden varios cambios, como son la eliminación de agua, o sea, la carne salada es más seca que la fresca; el alto contenido de sal inhibe el desarrollo bacteriano y frena la actividad de las enzimas naturales -- existentes en la carne, lo que hace que ésta se descomponga más lentamente.

Los cambios característicos de la carne tratada con cantidades crecientes de sal son: en un principio, un aumento de volumen al retener más agua y el pH se torna ácido. Al llegar la sal a un nivel del 5%, se alcanza el estado de máxima imbibición por lo que el contenido de agua es también el máximo. Cuando la concentración de sal alcanza un 10% a 12% el proceso se invierte, no solo deja de fijar agua, sino que incluso pierde la suya propia al ocurrir una precipitación de las proteínas al desnaturalizarse. En el jugo que se desprende de la carne, se encuentran sales minerales solubles en agua, compuestos nitrogenados no proteícos, un elevado porcentaje de vitaminas, principalmente las del complejo B y algunos aminoácidos. (Lawrie, 1971)

En páginas anteriores se expuso el problema de la defi---

ciencia proteica de los habitantes de países en desarrollo, quedando claramente expuesto, que el pescado es una de las mejores soluciones a ese problema, ya que su proteína es nutricionalmente completa. Por lo tanto para que el uso del pescado en dichos países sea más accesible a las mayorías, debe cumplir dos requisitos:

a).- Una preservación efectiva.

b).- Bajos costos.

El proceso que puede satisfacer los dos requisitos, es el pescado salado, el cual es elaborado por un proceso muy simple, que requiere un mínimo de capital invertido, pero que la mayoría de las veces da por resultado un producto final de dudosa calidad. Esta situación se agrava en climas cálidos, donde la descomposición del pescado tiende a comenzar antes que la sal penetre lo suficiente para ejercer su acción preservante. Por lo consiguiente, la calidad final del producto será determinada por la penetración de la sal en el músculo de pescado: a mayor penetración, menor será la descomposición y viceversa. El centro o interior del pescado es el punto de menor salado y por lo tanto, es el más sujeto a la descomposición. El grado de descomposición decrece radialmente hacia el exterior.

Diferentes Técnicas para un Salado Rápido de Pescado.-

La producción de pescado salado preparado por los métodos

tradicionales tales como bacalao, arenque y otras especies ha disminuído en años recientes. La producción de salado de especies magras decreció de 494,000 Ton. métricas en 1967 a 425,000 Ton. métricas en 1970 y la producción de arenque salado seco bajó de 891,000 Ton. métricas en 1958 a 488,000 Ton. métricas en 1970 (Mendelsohn, 1974). Esta reducción en la producción de pescado salado se debe a varias causas, siendo una de las principales el suministro insuficiente del pescado usado tradicionalmente para salar. El pescado normalmente usado es vendido en el mercado, fresco o congelado, por lo que se necesita aumentar el suministro.

Actualmente existen dos técnicas comerciales convencionales para el salado de pescado: salado en seco y salado en húmedo. Estos procesos requieren del manejo constante del pescado y pueden tardar hasta tres meses para llegar a la etapa final del salado. La calidad del producto es usualmente baja.

Muchas investigaciones han estudiado las técnicas convencionales de salado y sugieren mejoras; pero a pesar de eso cada método posee ventajas y desventajas, las cuales deben acondicionarse a cada caso.

A continuación se describen algunos de los métodos de salado rápido mundialmente utilizados (Mendelsohn, 1974).

PESCADO SALADO HERVIDO (Pindang).- El pindang o pescado salado y hervido es popular en Indonesia, Filipinas y Tailandia.

Es elaborado poniendo capas de pescado eviscerado y sal alternativamente en recipientes de cocina apropiados. Los recipientes son cubiertos y puestos al fuego. En un procedimiento rápido para la producción de pescado salado y hervido, la sal y los filetes de pescado son vaporizados en bolsas de plástico por 2 hrs. Las primeras gotas de agua son eliminadas y se agrega más sal.- Se vaporizan nuevamente por 2 hrs. y las nuevas gotas formadas se descartan. Las bolsas son almacenadas en cuartos fríos y posteriormente vendidas.

PESCADO EMBOLSADO (Método británico).- Una técnica recientemente desarrollada consiste en poner el pescado crudo en bolsas de plástico con sal y agua a razón de 16:6:2 respectivamente. El aire de la bolsa es expulsado, la bolsa es sellada y empaquetada en cajas de cartón apropiadas. Cada caja es rotulada con instrucciones para no usarla antes de una fecha determinada en la cual el salado es total. Un período de 20 días es recomendado como factor de seguridad. En este proceso la sal penetra a través de la carne del pescado durante su preparación y embarque.

DESHIDRATACION (Salado por inyección).- Estos estudios fueron hechos por el Centro Tecnológico de Producción Pesquera del Atlántico (C.T.P.P.A.), que se encuentra en la costa este de los Estados Unidos de Norteamérica, para desarrollar un método de salado para filetes de pescado. Los filetes de pescado --

son salados por congelación en seco, técnica en la cual el agua es eliminada y reemplazada por una salmuera saturada. El proceso consiste en poner los filetes congelados en una gran cámara y después hacer vacío para eliminar la humedad. A un tiempo pre determinado, el agua eliminada es reemplazada por una solución saturada de sal, inyectada lentamente por una pequeña puerta de la cámara. Es el método de salado más rápido para tratar los filetes de pescado.

METODO DE PROPULSION DE SAL.- Otro método elaborado por el C.T.P.P.A., incluye la propulsión de cristales de sal dentro de los filetes de pescado como proyectiles de bala. Esto se basa en que los pequeños proyectiles de cerca de 1/8 de pulg. de diámetro podrían llegar dentro del filete sin evidencia significativa de la entrada de los proyectiles. La ventaja teórica es que la sal seca podría distribuirse rápidamente a través del filete.

El agua natural del filete sirve como vehículo para la -- distribución de la sal. La rapidez del salado depende principalmente de la distancia de los proyectiles, la cual puede ser pequeña debido a la pequeña difusión en el músculo de pescado.

METODO DE DEL VALLE/NICKERSON.- Siendo este método el que se ha modificado y el tema central de la tesis, se tratará de - explicarlo lo más ampliamente posible.

La necesidad de una técnica más eficiente de salado rápi-

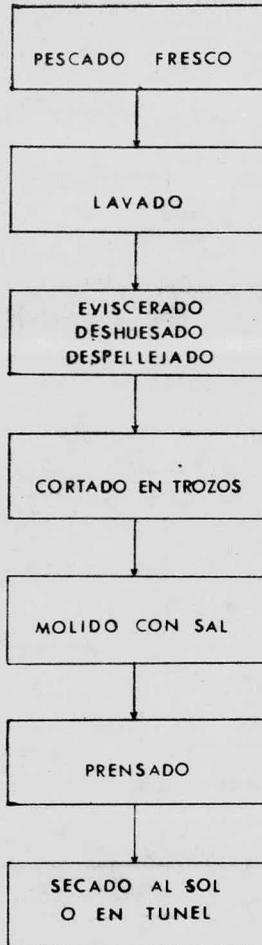
do y secado de pescado fué reconocido por F.R. del Valle y J.T. R. Nickerson en 1968, por lo que idearon un proceso fácil de -- llevar a cabo, el cual podría acelerar la penetración de sal -- dentro del pescado. (Fig. 1).

Unos experimentos preliminares les mostraron que el músculo molido y mezclado con sal no se descomponía a 37°C, mientras que el mismo músculo cortado en trozos y empacado en sal descomponía rápidamente a la misma temperatura. Esto los decidió a emplear el primer proceso que implicaba un salado rápido por una molienda simultánea del pescado, adicionando la sal requerida -- para preservarlo. El molido logra dos objetivos:

- 1).- Aumenta en forma notable la relación de penetración de sal dentro del músculo, incrementándose así el -- área superficial y disminuyendo el espesor requerido para la difusión de la sal.
- 2).- Se puede mezclar enteramente el músculo y la sal, -- asegurándose así una distribución uniforme de la sal con el músculo, evitándose que ocurra la acción microbiana.

El proceso requiere también presionar el material para la formación de pasteles o tortas y de un secado posterior. La presión fué considerada necesaria para producir la coherencia de -- los pasteles y que no se desintegraran con un manejo subsecuente. El objetivo del prensado es el de eliminar la máxima canti-

FIG. No. 1  
DIAGRAMA DE BLOQUES DEL METODO  
DE DEL VALLE/NICKERSON PARA  
PASTELES DE PESCADO SALADO



dad de agua mecánicamente para formar los pasteles.

El secado es necesario para disminuir la cantidad de agua del producto, al punto de excluir el crecimiento de todo microorganismo, (Del Valle, et al. 1973).

Algunos de los pasteles se secaron al sol y otros en un túnel de secado. El secado al sol se recomienda por el bajo costo del proceso. Las condiciones ambientales durante la operación son: temperatura, 33° a 37°C, humedad relativa de 65% a 75%, tiempo promedio de secado de 3 a 4 días. El secado en túnel, baja el tiempo de secado a 25 hrs., a una temperatura de 40°C y con una humedad relativa de 60%, pero aumenta los costos de producción. El secado de los pasteles prensados los endurece, ya que disminuye el contenido de humedad, pero en ningún caso se observa que se tornen quebradizos, aún cuando son hervidos para desalarlos y ser consumidos.

Para su consumo, los pasteles se necesitan desalar, lo cual se logra hirviéndolos en agua en una proporción de 10:1 por 5 minutos.

El alto grado de compactación y coherencia de los pasteles se logra por la coagulación de las proteínas del músculo de pescado por acción de la sal. Si la cantidad de sal agregada es grande, las tortas resultan muy quebradizas. Si la dosis añadida de sal es menor que la óptima, el músculo se torna gelatinoso y no se puede prensar. La dosis óptima de sal no es

la misma para todas las especies de pescado.

La dosis varía mucho dependiendo de la especie utilizada, (Del Valle, et al. 1972).

Este método ya ha sido desarrollado en una planta piloto en Progreso, Yucatán (Del Valle, et al. 1973 A). El propósito de la investigación de esta planta fué estudiar la aplicación del proceso a diferentes materiales crudos que incluyen recortes y desechos de plantas fileteadoras, así como fauna de acompañamiento de la flota camaronera de la región. Los recortes se refieren a piezas de carne fresca eliminadas en las operaciones de fileteado; los desechos, a pescado y filetes de pescado ligeramente deteriorados; y la fauna de acompañamiento, a especies de pequeño valor o no comerciales, las cuales son atrapadas normalmente con las especies comerciales.

Uno de los principales problemas de este proceso es que no se previenen los cambios de oxidación que ocurren en especies marinas que poseen un alto contenido de ácidos grasos insaturados.

Del Valle hizo estudios sobre ese punto (Del Valle, et al. 1973 B), determinando la rancidez en productos almacenados durante varios meses por el método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), apreciando que la rancidez aumentaba con el tiempo, dependiendo ese aumento de la especie de pescado utilizada. Por otra parte, pensó que las sustancias causantes del sabor a ran-

cio, al ser volátiles, se podrían eliminar por arrastre de vapor al ser hervidos los pasteles con agua para su desalado. Determinando el grado de rancidez en esas muestras, por el método antes mencionado, los resultados muestran un índice de rancidez un poco más bajo que el de los pasteles sin salar.

#### AUTOXIDACION

La propiedad de sufrir una oxidación espontánea al estar en contacto con el aire, no se limita solamente a los lípidos de los alimentos. La presentan varios tipos de sustancias químicas, muchas de ellas de importancia biológica o industrial. Algunos de los compuestos que pueden sufrir una autoxidación bajo ciertas condiciones, causando problemas a gran número de industrias son: hidrocarburos, aldehídos, éteres, compuestos sulfhidrilos, fenoles, aminas y sulfitos inorgánicos.

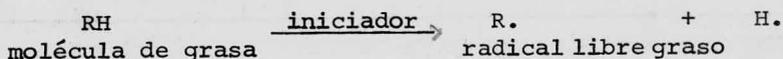
Entre los constituyentes de los alimentos susceptibles a la autoxidación, están los ácidos grasos insaturados y sus combinaciones, además de un número de constituyentes en menores concentraciones, pero de igual importancia, como son muchas de las sustancias que constituyen el aroma, sabor y color naturales que hacen atractivos los alimentos y ciertas vitaminas esenciales para una nutrición adecuada.

En algunos casos, estas sustancias oxidables están acompa

ñadas en los alimentos por enzimas u otros catalizadores que -- aceleran grandemente su reacción con el oxígeno. A veces, en un alimento complejo, la oxidación de dos o más sustancias oxida-- bles pueden acoplarse hasta que el producto de oxidación de A - oxido a B, (Schultz et al. 1962). La sustancia B, también puede oxidarse comunmente por radicales libres producidos durante la- autoxidación en cadena de A.

En años recientes se ha desarrollado el mecanismo de oxi- dación de la materia orgánica, cuya teoría supone que la oxida- ción de sustancias grasas en una reacción de cadena autocatalí- tica, basada en la formación de radicales libres, los cuales pa- ra perpetuar la reacción de oxidación (Sherwin, 1972). La oxida- ción de sustancias grasas, se cree que tiene lugar en tres eta- pas:

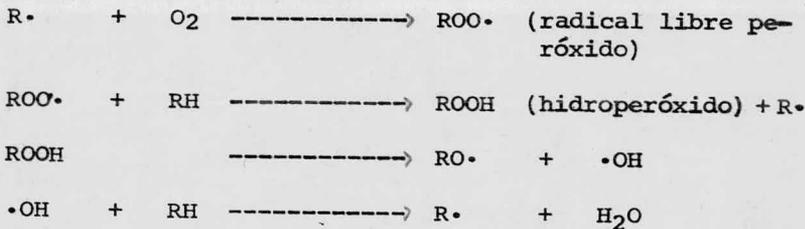
A) Iniciación.- Esta etapa, corresponde probablemente al- período de inducción de la oxidación de las grasas y aceites, - donde estas moléculas se convierten en radicales libres grasos, los cuales son necesarios para catalizar la mayor formación de- radicales libres en el sustrato y propagar así la reacción. Es- to puede describirse como sigue:



Las reacciones de autoxidación pueden ser iniciadas y ace

leradas por varios agentes como son la luz (especialmente en la región ultravioleta), el calor y los metales pesados (cobre, fierro, cobalto, etc.).

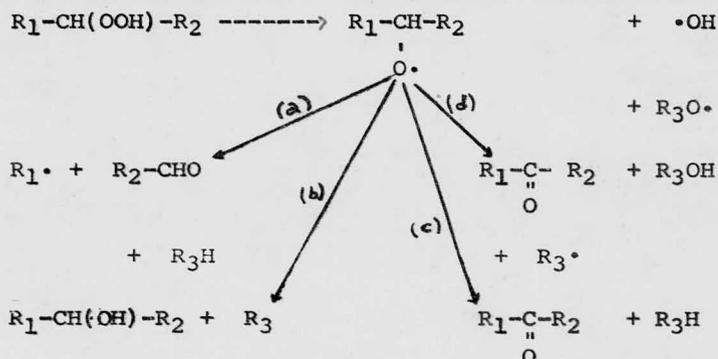
B) Propagación.- Los radicales libres grasos formados, -- pueden combinarse con el oxígeno molecular (atmosférico) para formar radicales libres peróxidos, los cuales pueden reaccionar con el sustrato para formar más radicales libres grasos e hidroperóxidos. El grupo alfa-metilen es el punto preferente del ataque en la reacción de oxidación y el intermediario formado (radical alfa-metilen), se estabiliza por resonancia. La reacción en cadena es la siguiente:



La autooxidación de ácidos grasos insaturados no solamente produce hidroperóxidos, sino también otros compuestos secundarios de gran interés como aldehídos insaturados y saturados, cetonas insaturadas, alcoholes secundarios, etc. que contribuyen grandemente al sabor y olor de lípidos oxidados, aún cuando están presentes en cantidades tan pequeñas como 1 ppb.

Las siguientes reacciones resumen los cambios que pueden sufrir los ácidos grasos hasta llegar a los productos secunda-

rios de la oxidación, (Badings, 1970).



Los aldehídos pueden formarse por dismutación de los hidroporóxidos de los ácidos grasos, de acuerdo a la reacción (a) del esquema anterior.

La formación de alquil-vinil carbinoles, se puede explicar por la degradación del ácido 12-octadecadienoico, proveniente del ácido linoléico, según la reacción (b).

Se puede formar también, 1-octen-3-ona, por la transformación del 3-hidroperóxi-1-octeno, de acuerdo a la reacción (c).

En la autoxidación de los lípidos es posible la formación de compuestos varios, siendo predominante los hidrocarburos tales como alkanos, alkenos, alkinos, aldehídos, cetonas, etc., - como se explica en la reacción (d).

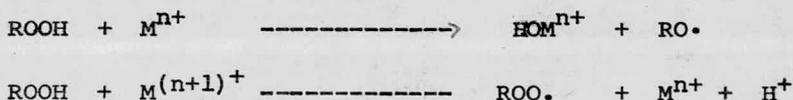
Es importante señalar que en el proceso de autoxidación, - surgen infinidad de compuestos los cuales poseen un determinado sabor, que finalmente, en conjunto nos dan el sabor conocido, -

como "rancio".

C) Terminación.- El término de la reacción en cadena de oxidación, ocurre cuando los radicales libres (autocatalizados) son desactivados o destruidos por varios caminos, como sigue:



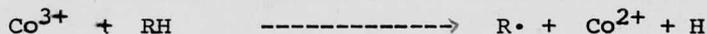
AUTOXIDACION CATALIZADA POR SALES DE METALES.- La descomposición de los hidroperóxidos catalizados por metales puede seguir dos caminos diferentes, según el estado de oxidación del metal (Nonhebel y Walton, 1974):



El efecto de agregar sales de metales para iniciar la reacción por radicales en cadena, es aumentar la velocidad de la autoxidación. El uso de grandes cantidades puede, en algunos casos, inhibir la autoxidación:



Las sales de metales pueden también iniciar el proceso de autoxidación en ausencia de hidroperóxidos:



## OXIDACION EN PESCADO

Los productos de pescado se oxidan más rápidamente y las reacciones son más complicadas que en otros productos, principalmente por las clases de ácidos grasos que son altamente insaturados y más numerosos. Las dobles ligaduras de los ácidos grasos di o poliinsaturados, son invariablemente del tipo metileno interrumpido o divinilmetano y tienen configuración "cis". Los ácidos grasos de aceite de pescado están distribuidos entre los variados triglicéridos, fosfolípidos y otros lípidos derivados.

La información obtenida con sustancias modelo purificadas muestran que los ácidos grasos altamente insaturados son más oxidables que aquellos de menor insaturación.

Pescado Fresco.- La principal causa de deterioro en pesquerías frescas se debe al ataque microbiano. Es posible que la pérdida de "sabor a mar" o "alga marina", que es el primer signo de deterioro, pueda ser un cambio oxidativo; pero esto no ha sido probado.

Cuando la descomposición microbiana es inhibida o detenida por radiaciones, o bactericidas solos o combinados, la rancidez es la deterioración más probable que pueda ocurrir.

La absorción de oxígeno por parte del tejido de pescado fresco, puede ser por acción enzimática y no enzimática. Esto último representa una continuación de alguna de las reacciones normales del tejido vivo, o sea, la absorción de oxígeno por lí

pidos insaturados y es influenciada por la presencia de sustancias prooxidantes y antioxidantes.

Pescado Cocido.- En 1974, Tarr informó que el salmón cocido desmenuzado y congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  es más estable que el pescado sin cocer. No obstante, 1961, Watts noto que la lisa cocida y otros peces, se oxidan a temperaturas de refrigeración más rápido que muestras sin cocinar, (Schultz et al. 1962).

Las diferencias pueden deberse a cantidades de hemoproteínas presentes en el músculo.

Pescado Congelado.- El pescado congelado está sujeto a dos deterioros oxidativos; rancidez y "rusting". Este último, es una débil decoloración que va del amarillo al café, en las superficies expuestas al aire, siendo más notorio en especies marinas grasosas. Ambos deterioros pueden retardarse evitando el contacto del oxígeno con la superficie del músculo del pescado, lo cual se lleva a la práctica cubriéndolo con hielo molido. El hielo puede contener sustancias adicionadas que tengan propiedad antioxidante.

Las reacciones que pueden ocurrir en el fenómeno de "rusting", fueron estudiados por Nonaka en 1957, el cual concluyó que se involucran dos factores: 1).- Autoxidación del aceite de pescado, y 2).- Compuestos básicos de nitrógeno no volátiles, (Schultz, et al. 1962).

## ANTIOXIDANTES

Es conocida la propiedad de varias sustancias químicas de prevenir la oxidación de grasas y alimentos grasos. Se conocen cerca de 500 compuestos con esta actividad.

Los primeros estudios sobre antioxidantes se centraron en el uso de aditivos químicos para inhibir la deterioración oxidativa de caucho, gasolina y productos similares no alimenticios, ya que se sabía que causaban toxicidad la mayoría de las sustancias antioxidantes. Estudios posteriores hicieron que se pensara en la aplicación de estructuras químicas simples a sistemas monoméricos y después a sistemas de lípidos complejos que se encuentran normalmente en alimentos.

CLASIFICACION DE ANTIOXIDANTES.- Entre los compuestos químicos siguientes se ha encontrado que unos inhiben la autoxidación de lípidos insaturados, otros también son inhibidores de la polimerización, algunos más retardan la degradación de sistemas polimerizados por ozono. Todos tienen estructura similar, con anillos de benceno insaturados y otros grupos amino o hidroxilo.

Fenoles.- Son los antioxidantes más comunmente utilizados por dar poca coloración, toxicidad baja o cuando se desea una combinación de las dos propiedades más que una gran potencia, como ejemplo se encuentra la hidroquinona, el 4,4' tiobis - - -

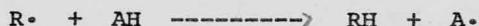
(6-terbutil-3-metilenfenol) también el BHT, BHA, esteres alqu<sup>l</sup>icos del ácido gálico, y la compleja estructura del gosipol. - La mayoría de los antioxidantes naturales y sintéticos pertenecen a ésta clase.

Aminas.- Son antioxidantes con grupos amino o diamino unidos a un anillo de benceno insaturado, son muy potentes, a veces tóxicos y forman generalmente intensos colores al oxidarse o cuando reaccionan con sales de metales. Son usualmente estables al calor. Muchas de las aminas aromáticas, especialmente - las diaminas, son excelentes antiozonantes y se utilizan principalmente en la industria del caucho, por ejemplo la difenil-amina.

Aminofenoles.- Estos compuestos al igual que los grupos - fenólicos y aminos, poseen actividad antioxidante. Son usados - principalmente en la industria del petróleo para prevenir la -- formación de gomas en la gasolina.

FUNCION DE LOS ANTIOXIDANTES.- Una vez iniciada y propagada la reacción en cadena de autoxidación de las grasas o acei--tes, por la formación de radicales libres, la eliminación o de--sactivación de éstos últimos podría terminar la autoxidación en las primeras etapas, antes de dar los productos finales respon--sables de la rancidez, detectables organolépticamente. Los an--tioxidantes de grasas y aceites, son sustancias las cuales pue--den reaccionar con los radicales de iniciación y propagación --

dando productos inocuos, con los que se amplía la vida del producto, hasta que la autoxidación tome lugar, (Sherwin, 1972). - La reacción se describe a continuación, siendo AH la molécula - antioxidante:



Es esencial que el radical libre antioxidante (A $\cdot$ ) formado, no tenga capacidad de iniciar y propagar la reacción de oxidación. Este es el caso de los compuestos fenólicos, ya que el radical fenoxi resultante tiene un híbrido de resonancia estable. O sea, que los antioxidantes "no tienen" la función de competir con el sustrato por el oxígeno; tampoco son "absorbentes" de oxígeno, son radicales libres inhibidores y funcionan interfiriendo el mecanismo de radicales libres, el cual es fundamental en la autoxidación.

Se ha observado frecuentemente que la efectividad antioxidante de una mezcla de dos sustancias, es mayor que la suma de los efectos inhibidores que se obtienen cuando se usa la misma cantidad de cada antioxidante solo. En algunos casos, una de -- las dos sustancias es más efectiva que la otra cuando se utiliza sola y en cada caso al compuesto más efectivo se le nombra - antioxidante primario y al menos efectivo se le llama sinérgico. No obstante, este fenómeno se observa frecuentemente con sustancias que poseen aproximadamente el mismo grado de efecti-

vidad al usarse solas y que tienen estructuras químicas similares.

Los antioxidantes primarios más efectivos que se permiten en alimentos son los compuestos polifenólicos, obteniéndose -- efectos sinérgicos muy pronunciados cuando se usan en combinación con ciertas sustancias ácidas como ácido cítrico, ácido ascórbico y ácidos fosfóricos.

Los sinérgicos arriba mencionados, son también agentes quelantes de metales como cobre y hierro que son poderosos prooxidantes y que se encuentran presentes en trazas en alimentos grasos. Se ha demostrado que uno de los principales mecanismos incluídos en la antioxidación, cuando se encuentra presente un sinérgico, es la quelación de los prooxidantes.

Los antioxidantes han sido aplicados a varios productos -- de pescado con distintos grados de éxito. Algunos de los más -- usados han sido el BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado), NDGA (ácido nordihidroguayarático) y ésteres alquílicos del ácido gálico, en varias combinaciones con ácido cítrico y ácido ascórbico los cuales tienen efectos sinérgicos, para resolver problemas industriales.

DETERMINACION DE RANCIDEZ EN PESCADO POR EL METODO DE ACIDO '2 - TIOBARBITURICO.

La rancidez es un problema serio que se presenta en la in

dustria pesquera, debido al prolongado almacenamiento que requieren muchos de estos productos, lo cual produce cambios con efectos adversos a la calidad y sabor. Una de las definiciones de rancidez es "cualquier olor o sabor que se desarrolle en un aceite o grasa, como resultado del deterioro o del almacenamiento".

La mayoría de peces contienen una elevada cantidad de ácidos grasos insaturados, lo que explica la facilidad con que los productos de pescado sufren rancidez oxidativa, desarrollándose sabores desagradables. Los cambios de color son frecuentemente asociados a estos sabores.

Los métodos para medir la rancidez oxidativa han sido muy discutidos. Según Marcuse, "No existe un método seguro, fácil de aplicar y generalmente adaptado para medir la rancidez en grasas deterioradas de productos alimenticios, responsables del sabor". El método más usado ha sido la determinación de peróxidos, pero se ha señalado que los solventes comunmente utilizados en el método de peróxido yodométrico, no extraen fosfolípidos, los cuales pueden mostrar valores de rancidez.

Un nuevo método para medir rancidez desarrollado por Bernheim, demostró que al ser incubados tejidos con ácido 2-tio barbitúrico (TBA), se produce una coloración, producto de la oxidación de lípidos insaturados. El pigmento formado en esta reacción es de color rojo y ha sido usado como una medida empí-

rica de la deterioración, de la grasa por muchos investigadores, en una extensa variedad de productos alimenticios como son grasa de leche, grasa de puerco, pescado congelado y aceites variados.

Bernheim, et al. en 1948, reportaron haber aislado un pigmento rojo impuro de TBA y sugirieron que el compuesto reactivo era una cadena de tres carbonos conteniendo un átomo de oxígeno. Patton y Kurtz (1951), probaron numerosas sustancias - concluyendo en base a espectros de absorción, que el malonaldehído es el responsable del pigmento de TBA y que este compuesto existe en la grasa de leche.

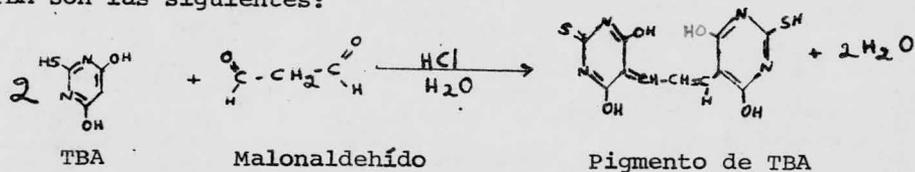
Otros investigadores sugirieron que el producto de oxidación de la grasa de leche y el malonaldehído son los mismos y - que, teóricamente la reacción con el TBA ocurre por ataque de - la forma monoenólica del malonaldehído a los grupos metileno activos del TBA, seguido por un cierre de anillo.

Sinhuber y Yu (1958 B), describieron un método para la determinación cuantitativa del malonaldehído con TBA usando 1,1', 3,3'-tetra-etoxipropano (TEP) como patrón. La hidrólisis ácida del TEP produce malonaldehído, el cual reacciona con el TBA, para producir el pigmento rojo, el cual tiene una absorbancia máxima a 535 nm. El resultado se expresa como número de TBA o miligramos de malonaldehído/100 gramos de muestra.

También describieron la preparación y aislamiento del pig

mento de TBA, a partir del aceite de salmón, del TEP y de la -- sulfadiazina como un compuesto puro cristalino, por medio de -- análisis químicos elementales, espectroscopia, velocidad de com -- binación y cromatografía de papel, concluyendo que el producto -- de reacción del aceite rancio de salmón de la sulfadiazina y -- del malonaldehído, es el mismo pigmento. La configuración mole -- cular del pigmento se cree es un producto de condensación de dos moléculas de TBA con una molécula de malonaldehído. La fórmula -- empírica derivada es:  $C_{11} H_8 O_4 N_4 S_2$ , con un peso molecular -- calculado de 324.35.

La reacción y estructura propuesta para el pigmento de -- TBA son las siguientes:



Los productos de pescado oxidado reaccionan con el reacti -- vo de TBA, dando una coloración que va del rosa fuerte a rojo -- intenso. Las muestras de pescado fresco dan una coloración te -- nue o no la dan. La determinación de rancidez en grasa de pesca -- do es un problema importante, por la dificultad de la extrac --- ción completa de la grasa, pero en el método de TBA se usan mues -- tras intactas y la dificultad de la extracción de la grasa se -- elimina. La fracción grasa difícil de extraer es la de los fosfo -- lípidos y los lípidos oxidados unidos a las proteínas caracteri --

zados por un alto grado de insaturación. La oxidación de esta fracción es evidentemente responsable de los tipos de olor y sabor de la carne deteriorada.

#### TEMPEH

El TEMPEH es una comida popular de Indonesia, a base de soya (*Glycine max*) amarilla fermentada por el hongo *Rhizopus sp.* La fermentación elimina el sabor vegetal de la soya cruda y da al producto un sabor atractivo. La preparación de este alimento es muy simple y la fermentación es muy rápida.

El proceso de fermentación de tempeh produce enzimas deseables, destruye sabores y enzimas indeseables, de olor, lo conserva, hay síntesis de constituyentes deseables como vitaminas, incrementa la digestibilidad, cambia el estado físico y produce color, (Iljas, 1972).

En Indonesia es consumido como platillo principal y sustituto de la carne. El envenamiento por ingestión nunca ha ocurrido, solamente podría ocurrir cuando se fermenta durante mucho tiempo ya que se incrementaría la producción de amoníaco.

El hongo del tempeh.- El hongo utilizado para la producción de tempeh, se reporta como *Rhizopus oryzae* o como *Aspergillus oryzae*. No obstante, en las últimas investigaciones hechas por Martinelli y Hesseltine (1964), se encontró que es el *Rhizopus*

sp NRRL 2710 con el nombre de *Rhizopus oligosporus* Saito.

En la producción actual del tempeh en Indonesia, se incluyen gran número de especies y clases de hongos, entre los cuales se encuentran: *R. stolonifer*, *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. formosaensis* y *R. achamydosporus*. Siendo el más usual el *Rhizopus oligosporus* (Iljas, 1972).

El hongo del tempeh puede utilizar como fuente de carbono entre otros: xilosa, glucosa, celobiosa, sacarosa, pero no puede utilizar lactosa, 1-eritrol o inulina.

Como fuentes principales de nitrógeno utiliza aspargina y sulfato de amonio, así como los aminoácidos prolina, lisina, ácido aspártico y leucina.

El aceite de soya es utilizado por el hongo del tempeh ya que es altamente lipolítico. Es también muy proteolítico, lo cual es importante para la digestibilidad de la proteína de soya, (Iljas, 1972).

En sustratos no regulados, el hongo puede producir suficiente amoníaco como para inhibir su crecimiento, pero no produce toxinas.

El hongo penetra dentro de los lóbulos de la semilla. En el microscopio se observa que los lados convexos de los lóbulos de la semilla de soya fermentada, son perforados más rápidamente por el micelio, que el lado plano, penetrando el hongo en una pequeña capa de células; por lo que la digestión de la soya

es principalmente enzimática.

Preparación del TEMPEH.- En el método doméstico de manufactura del tempeh la soya se remoja durante toda la noche, para poder eliminar la cáscara fácilmente a la mañana siguiente en forma manual. Es una costumbre poner la soya en canastas de bambú e introducir éstas en la orilla de un río, para que la corriente se lleve las cáscaras de las semillas separadas al pisar la soya con los pies descalzos. La soya descascarada se hierve en agua por media hora, se extiende en bandejas de bambú para secarla; una vez seca se inocula mezclando pequeñas cantidades de tempeh previamente fermentado (fresco o seco), se envuelve en hojas de plátano y finalmente se deja fermentar en un cuarto a temperatura ambiente por dos días.

Uno de los métodos para la elaboración del tempeh en el laboratorio es el de Martinelli y Hesseltine (1964), en el cual la soya es lavada y remojada en 3 volúmenes de agua por toda una noche a temperatura ambiente. A la mañana siguiente, la cutícula se remueve con las manos, partiéndose parcialmente la semilla. La soya partida y limpia se cuece en agua hirviendo por 30 minutos, se drena y se seca. Se deja enfriar (35° - 40°C), se inocula con una suspensión de esporas de un cultivo puro de *Rhizopus oligosporus*, sembrado en un medio inclinado de extracto de malta-agar por 6 días a 25°C.

La suspensión se obtiene lavando el tubo de cultivo del

hongo con 1.5 ml. de agua destilada estéril y es suficiente para 100 g. de soya. La soya inoculada se empaca en cajas de vidrio de 25 X 42 X 5 cm. y se deja fermentar por 20 hrs. a 31°C aproximadamente, después de los cuales la soya queda cubierta con el micelio del hongo. Se pueden usar también como empaque cajas de madera o metales poco profundos, con perforaciones en el fondo o bolsas de plástico perforadas manualmente en lugar de las cajas de vidrio.

Existe gran variedad de métodos para la elaboración del tempeh; pero se escogieron los anteriores por ser los más representativos, tanto en el proceso doméstico como en el laboratorio.

Las temperaturas para el crecimiento del hongo en condiciones favorables son entre 20° y 42°C hasta 45°C; pero la temperatura óptima es de 31° a 40°C, en la cual la fermentación del tempeh se completa aproximadamente en 20 hr.

La fermentación de la soya, se realiza en recipientes cubiertos para que no se permita la difusión de aire, ya que el hongo no requiere de una exposición estricta al aire como otros hongos. En condiciones muy aereadas, el hongo <sup>CRECE</sup> muy rápidamente produciendo una elevación de la temperatura por arriba de 49°C, lo cual inhibe su crecimiento.

El descascarado de la soya es esencial, pues el hongo no crece satisfactoriamente en la semilla.

CAMBIOS EN LA COMPOSICION QUIMICA.- La preparación y fermentación del tempeh causa algunos cambios en la composición química de la semilla de soya. En todo el proceso existe una pérdida considerable de sólidos, que puede llegar hasta el 38% debido a su solubilidad en el agua. Entre los sólidos eliminados se encuentran principalmente carbohidratos, proteínas, algunos lípidos y minerales.

a) Proteínas y aminoácidos.- El lavado, remojado, descascarado y cocinado de la soya causa algunas pérdidas de proteínas, que van del 42.99% en base seca de la soya cruda, hasta el 26.59% de proteína después de 72 hr. de remojo, la pérdida se incrementa con el tiempo. La temperatura del agua de remojo no afecta el contenido de proteínas. Debido a la fermentación, existe una pérdida del 2% de proteínas totales.

La composición de aminoácidos de la soya no cambia aparentemente por la fermentación. El aumento o disminución no pasa del 10%; pero la cantidad de aminoácidos libres aumenta progresivamente durante las 48 hrs. de fermentación.

b) Lípidos.- El remojo causa cambios en el contenido de lípidos de la soya, que van del 24% de grasa en base seca en la soya remojada, hasta el 12% de grasa a las 75 hr. de remojo. La temperatura del agua de remojo afecta el contenido graso. La fermentación por el hongo causa una disminución en el contenido de lípidos.

Entre los ácidos grasos contenidos, se encuentran el palmítico, esteárico, oleíco, linoleíco y linolénico, siendo el ácido linoleíco el predominante y es el único utilizado por el hongo hasta en un 40%. La producción de ácidos grasos por hidrólisis de la grasa neutra de la soya en fermentación, da por resultado un aumento en el valor de acidez de lípidos.

El hecho de que el tempeh es menos propicio a la formación de peróxidos y por lo tanto de enranciarse, indica la presencia de un antioxidante el cual se produce durante la fermentación. Gyögyi (1964), aisló e identificó tres antioxidantes: Factor 2 (6,7,4'-trihidroisoflavona), daidzein (7,4'-dihidroisoflavona) y genistein (5,7,4'-trihidro-isoflavona). Cerca de 20 mg de factor 2 fueron aislados de 5 kg de tempeh seco, los otros dos antioxidantes están presentes en menor cantidad. La actividad del antioxidante del tempeh se incrementa con el tiempo de fermentación.

c) Carbohidratos.- Anteriormente se mencionó que son unos de los compuestos componentes de los sólidos que se pierden en el agua. Esta pérdida va del 7 al 11%. En la fermentación hay reducción de sustancias. El contenido de fibra se incrementa debido al desarrollo del micelio del hongo.

d) Vitaminas.- Las vitaminas también sufren cambios durante la fermentación. En el tempeh se ha reportado 6 vitaminas: tiamina, riboflavina, niacina, pantotenato, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. La-

tiamina decrece en la fermentación al ser utilizada por el hongo y cerca de 1/3 se encuentra presente en los cotiledones cocidos. La riboflavina, niacina, vitamina B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> se incrementan.

e) Minerales.- Los cambios de los minerales en la soya durante la fermentación no se conocen. El contenido de cenizas -- del tempeh no difiere mucho del contenido de la soya sin fermentar.

VALOR NUTRITIVO.- Se probó en animales que la proteína de tempeh es de una excelente calidad (PER = 2.48). Comparando el tempeh con otros productos orientales, da un PER mayor. Gyögy (1964), encontró que las ratas alimentadas con tempeh muestran un mejor crecimiento y mayor resistencia a la hemólisis in vitro inducida por el ácido hialúrico de sus glóbulos rojos, que ratas alimentadas con soya cocinada. También encontró que si el tempeh es secado con aire caliente a 65°C, el PER es el mismo al de la harina de soya sin fermentar.

Murata, et al, (1967) establecieron que el incremento en el PER, puede ser atribuido al mejor aprovechamiento de los aminoácidos liberados de la soya en la fermentación y la mayor digestibilidad del tempeh, debido al aumento de sólidos solubles y nitrógeno.

Smith (Iljas, 1972), encontró resultados opuestos, ya que encontró que las ratas alimentadas con tempeh, muestran una pe-

queña reducción en el crecimiento y el PER, comparadas con r--  
tas alimentadas con soya descascarada y con grasa.

#### FRIJOL NEGRO

El cultivo de frijol es muy importante ya que es uno de -  
los alimentos básicos para los habitantes de los países latinoa  
mericanos.

Existe un gran número de variedades de frijol, la mayoría  
de éstas se cultiva en la República Mexicana, entre las espe---  
cies más aceptadas están: *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus multifo*  
*rus* y *Phaseolus vulgaris*. Las variedades más cultivadas pertenee  
cen a esta última especie como son: el frijol amarillo, el co-  
lorado, el pinto, el bayo gordo y el bayo negro entre otros.

El frijol negro se escogió para ser fermentado debido a -  
que es el más aceptado por la dieta nacional.

El trabajo realizado por Castro y Tovar (1976), fué empene  
dido para estudiar la actividad antioxidante de varios compues-  
tos generados por la fermentación del frijol negro (FN), *Phaseo*  
*lus vulgaris*, con el hongo *R. oligosporus* NRRL 2710, empleando-  
la misma técnica que la empleada para la elaboración del tempeh,  
ya que se ha comprobado que en el tempeh se producen varias susu  
tancias con actividad antioxidante, al ser fermentada la soya -  
con el mismo hongo. Estas propiedades se probaron en aceites de

anchoveta (*E. mordax*) y sardina (*S. sagax*), especies que son -- muy abundantes en los litorales de Baja California. Los efectos antioxidantes del frijol negro fermentado (FNF) se comprobaron con antioxidantes comerciales, dando por resultado que la actividad antioxidante del FNF > Tempeh > BHT. Estos resultados sugirieron la posibilidad de mezclar el FNF con peces y otros alimentos de alto contenido graso, para producir alimentos estables y con alto valor nutritivo.

No se han hecho estudios aún sobre las propiedades nutricionales del FNF, pero se supone que los cambios bioquímicos -- que suceden en dicho grano son similares a los que se producen al fermentar la soya. Entre los cambios está el aumento de la digestibilidad por la acción proteolítica, lipolítica y reductora del hongo, por esta última acción se disminuyen las flatulencias producidas por la ingestión del frijol negro cocido, ya -- que los mamíferos no poseen la enzima alfa galactosidasa para -- desdoblar los oligosacáridos: rafinosa, estaquiosa, y verbasco--sa, las cuales pasan el tracto intestinal, donde son metaboliza--das por las bacterias produciendo grandes cantidades de bióxido de carbono e hidrógeno (Rackis, 1973).

El análisis bromatológico del FN, según Hernández, et al. 1971, es el siguiente:

Proteínas	-----	21.8 %
Grasa	-----	2.5 "
Carbohidratos	-----	55.4 "
Fibra Cruda	-----	4.2 "
Cenizas	-----	4.16"
Humedad	-----	11.58"

El porcentaje de digestibilidad del FN ya cocido es de -- aproximadamente el 80%.

#### PRUEBAS DE ACEPTACION

Una evaluación organoléptica es un análisis subjetivo -- realizado a través de los órganos sensoriales a un alimento. - La compleja sensación que resulta de la interacción de los sen tidos, se utiliza para calificar la calidad de un alimento en programas de control de calidad y desarrollo de un nuevo pro-- ducto. Esta evaluación la puede hacer una o varias personas, - ya sean espontáneas, entrenados o catadores.

La forma más simple de evaluación sensorial se hace para trabajos de investigación, en los que se desarrollan nuevos -- productos. Los laboratorios llevan a cabo una evaluación más - formal con los posibles consumidores del producto.

Hay dos tipos de pruebas sensoriales:

A).- Pruebas de Diferenciación: En estas pruebas se pregunta a los jueces o panelistas, si existe diferencia entre dos o más muestras. La aceptación y el rechazo son expresados individualmente, siendo este el objetivo de la evaluación.

B).- Pruebas de Preferencia: Las pruebas de preferencia o aceptación, deben ser representativas de la preferencia de la población, por lo cual, es necesaria la cooperación de mucha gente. Se puede hacer a escala nacional, pero los resultados no aseguran que se pueda aplicar al total de la población.

Los jueces son influenciados por las características del material de las pruebas como son: información acerca de las muestras, temperatura y uniformación de las mismas, el código o clave utilizado, el número de muestras y el orden de presentación.

A continuación se explican varias pruebas de evaluación sensorial (Larmond, 1970).

- 1.- Prueba Triangular: Se presentan al juez o panelista tres muestras claves, diciéndoles que dos muestras son iguales. Se pregunta indicar la diferente.
- 2.- Prueba Dúo-Trío: En esta prueba se presentan tres -- muestras al juez, una rotulada con la letra R (referencia ó patrón) y las otras dos marcadas con letras

o números. Una de las muestras marcadas es igual al patrón y la otra es diferente. Se pregunta que se identifique la otra muestra.

3.- Pruebas de Comparación Pareada: Se presenta una pareja de muestras al panelista, una es el control y la otra un tratamiento experimental. Se pregunta que muestra posee el mayor o menor grado de intensidad de una característica específica.

4.- Pruebas de Ordenamiento.- Se le pregunta al juez sobre el grado de intensidad de alguna característica particular de varias muestras codificadas.

5.- Pruebas de Comparación Múltiple: En estas pruebas, se marca con la letra R un estandar de referencia y se presenta a los jueces junto con varias muestras codificadas, preguntándoseles que califiquen las muestras marcadas comparándolas con la muestra de referencia.

6.- Pruebas de Marcación: Las muestras codificadas son evaluadas por los panelistas, los cuales registran sus reacciones en una escala descriptiva graduada. Las marcas son dadas en valores numéricos por cada persona y después se analizan los resultados.

La exactitud de las pruebas de evaluación sensorial de alimentos y la veracidad que puede tomarse sobre los resultados

obtenidos, depende de la estandarización de las condiciones de la prueba y la utilización de los métodos de análisis estadístico para obtener los resultados.

C A P I T U L O   I I I

## MÉTODOS DE ELABORACION DE TEMPEH Y FRIJOL NEGRO FERMENTADO

El método seguido para la elaboración del tempeh y del frijol negro fermentado, fué el empleado por Martinelli y Hesseltine en 1964, ya que es un método sencillo, práctico y con buenos resultados.

## MATERIAL

Bandeja de plástico

Olla y papel de aluminio

Licuada Osterizer

Bolsas de plástico perforadas (25 X 15 cm)

Estufa ( Mod: 714, 110 volts)

Molino eléctrico Ce Co Co (tipo D, No 20 809/115 volts).

Malla No. 20

Cepa de *Rhizopus oligosporus* (NRRL 2710)

Agua destilada estéril

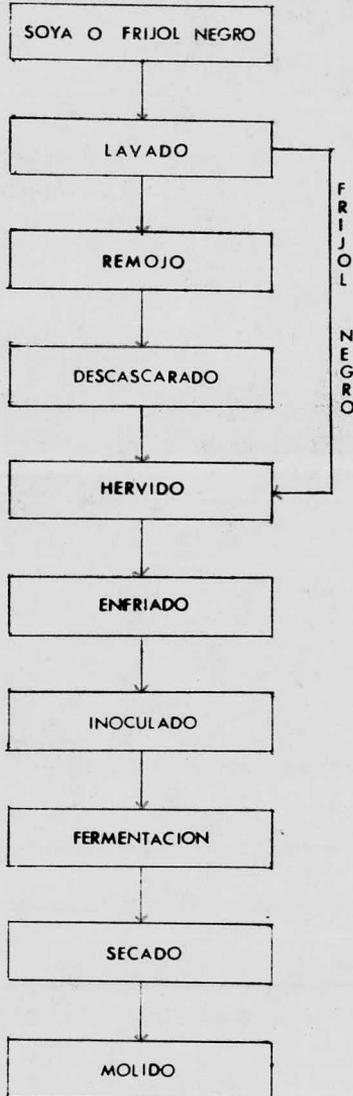
## TECNICA

La soya es remojada durante una noche; a la mañana siguiente, es descascarada por un proceso manual, friccionando los granos. Se hierven durante 30 min.; una vez pasado ese tiempo, se drenan y secan, dejándose enfriar hasta aproximadamente 40°C. Los granos son sometidos a una molienda gruesa en licuadora y después son inoculados con una cepa pura de *Rhizopus oligosporus* (NRRL 2710) la cual se obtuvo en el Departamento de Microbiología de la

Facultad de Química. El medio nutritivo es el de gelosa-patata --- glucosa <sup>D G G L O S A</sup> Sabouraud glucosa, en los cuales se observa al cabo de -- seís días, una buena esporulación, manifestada por una capa superficial de color negro sobre la capa blanca del micelio. La suspensión de esporas se hace agregando de 2 a 3 ml de agua destilada estéril y se agita durante unos segundos el tubo en el que se encuentra la cepa. Una vez realizada esta operación, la suspensión se adiciona a los granos partidos y cocidos, mezclandolos para que la siembra sea homogénea; en seguida los granos inoculados son introducidos a las bolsas de plástico perforadas para formar panes-rectangulares de aproximadamente 2 a 3.5 cm de espesor. Se incuban de 35 a 37°C, durante 24 hrs. pasado ese tiempo, la soya fermentada (tempeh), se extiende en charolas de papel aluminio y se pone a secar a 60°C por 12 hrs, para eliminar humedad y detener la fermentación que puede producir sabor y olor desagradable. Ya seco, el tempeh se muele en el molino eléctrico, hasta que el tamaño de partícula sea aproximadamente igual al de la malla No. 20.

El método seguido para la elaboración del FNF, es el mismo exep tuado solamente el remojo y descascarado, por lo que el tiempo de cocción fué de 60 min.(ver fig.2)

**FIG. No. 2**  
**DIAGRAMA DE BLOQUES DE LA ELABORACION**  
**DE TEMPEH Y FRIJOL NEGRO FERMENTADO**



## MODIFICACION DEL METODO DE DEL VALLE/NICKERSON

El objetivo principal de la modificación del método de Del Valle/Nickerson, es el de resolver el problema de la oxidación, - el cual, como se ha mencionado en páginas anteriores es la causa principal del enranciamiento, que trae como consecuencia una disminución en la calidad (produciendo olor y sabor desagradables), - como en la vida del producto, o sea, durante la oxidación de las grasas se forman compuestos tóxicos, como son los productos secundarios de la oxidación del linolato de metilo, aislados e identificados por Tovar y Kaneda (1975), entre los cuales se encuentran el n-hexanal, 2-trans-hexanal, 2-hidroxihexanal e hidroxialdehídos principalmente, que tienen efectos tóxicos en ratas, con una dosis letal de 82.76, 6.98, 5.15, 4.75 moles/kg de rata, para cada una respectivamente. Debido a esto, se requiere solucionar el problema de la oxidación, ya que además de que la población mexicana tiene una dieta deficiente, el consumir productos en mal estado agrava sus problemas nutricionales. Tal objetivo se puede lograr la incorporación de tempeh y FNF, que poseen actividad antioxidante.

## MATERIAL

Cuchillos

Mezcladora Waring (Mod; CB-5, 115 volts)

Balanza granataria

Gasa de algodón

Agitador

Prensa hidráulica Carver (Mod. C, serie # 23,500-733, Cap. 24,000 lb de presión)

Horno Thelco al vacío (Mod; # 19, serie 24-AB-0,120 volts)

Cloruro de sodio

Tempeh y frijol negro fermentado (FNF) secos y molidos

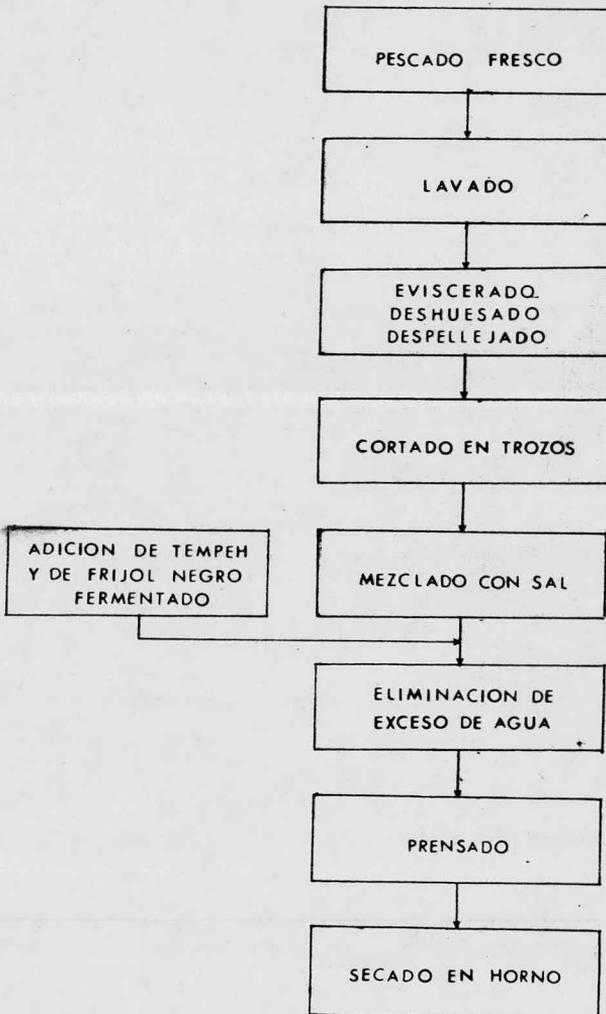
Pescados: lisa (*Mugil cephalus*) y sierra (*Scomberomorus Sierra*) -

#### TECNICA

El pescado utilizado para la elaboración de los pasteles - fué seleccionado por su contenido de grasa, siendo en este caso - lisa y sierra, las cuales se compraron en el Mercado de la Viga, - ubicado en el centro de la Ciudad de México.

Los pescados se lavan, descaman, evisceran, despellejan y deshuesan; el músculo así obtenido se corta en trozos y se mezcla con sal en un 25% en base húmeda en una mezcladora Waring, dividiéndose después en porciones de 200g; el exceso de agua es eliminado exprimiendo el músculo salado con gasa de algodón, inmediatamente después se mezcla con el tempeh y el FNF secos y molidos, en porciones de 20 y 30% para cada especie. Una vez hecha la mezcla, se prensa a 4,000 lb. de presión para dar forma a los pasteles. - La última operación es sacar los pasteles en el horno a 60°C por espacio de 18 hrs. (ver fig. 3).

**FIG. No. 3**  
**DIAGRAMA DE BLOQUES DE LA MODIFICACION**  
**AL METODO DE DEL VALLE/NICKERSON**  
**PARA PASTELES DE PESCADO SALADO**



## METODO DEL ACIDO 2-TIOBARBITURICO

Existen varias modificaciones para la determinación de rancidez al método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), el seguido en este experimento es el utilizado por Yu y Sinnhuber (1957), para pescado. Debido a que no fué posible encontrar el (TEP), comercialmente, el cual es usado como patrón en estas determinaciones puesto que su hidrólisis ácida produce malonaldehído, siendo éste el indicativo que marca el grado de rancidez de las muestras (g de malonaldehído/1000 g de muestra), se relacionó directamente el grado de rancidez con las unidades Klett obtenida para las muestras (Yu y Sinnhuber, 1957).

## MATERIAL

Matraces de bola 250 ml con boca esmerilada 24/40

Refrigerantes con puntas esmeriladas 24/40

Pipetas y probetas

Recipientes para baño María

Tubos de centrifuga

Embudos de separación de 100 ml

Celdas para colorimetría

Centrífuga Internacional-Clinical (Mod. A-3076 X - 10, 115 volts)

Colorímetro Fotoeléctrico Klett-Summerson (Mod. 5924, 115 volts)

## PREPARACION DE REACTIVOS

1.- Acido tricloroacético: 20g en 100 ml de agua destilada.

- 2.- Solución de clorhídrico de piridina: 30 ml de piridina más 70 ml de ácido clorhídrico 6 N; o disolver 43 g de clorhídrico de piridina en agua destilada adicionando 8 ml de ácido clorhídrico 6 N y aforar a 100 ml con agua destilada.
- 3.- Reactivo de ácido 2-tiobarbitúrico (Merck): 2 g de TBA más 193 ml de agua destilada y 6.6 ml de hidróxido de sodio 2 N, se mezclan calentando por varios minutos a baño María, hasta total disolución.
- El buffer de citrato contiene 59g de citrato de sodio dihidratado, más 50 ml de ácido clorhídrico concentrado y 400 ml de agua destilada se mezcla y se filtra.
- El reactivo completo es hecho mezclando dos partes de TBA, con una parte de la solución buffer de citrato y si es necesario, ajustar el pH a 2.6.
- 4.- Reactivo de HCl, ácido tricloroacético y piridina: mezclar 650-ml de HCl 0.6 N con 50 ml de ácido tricloroacético y 50 ml de solución de clorhídrico de piridina.
- 5.- Eter de Petróleo.

#### TECNICA

Se pesan de 0.220 a 0.260 g de muestra seca y molida en un matraz de 250 ml de bola con boca esmerilada 24/40, adicionar 4 ml de agua destilada, 5 ml de clorhídrico de piridina, 10 ml de solución de ácido tricloroacético y 6 ml de solución de TBA. Conectar el matraz al refrigerante y poner el sistema a baño María, agitan

do de vez en cuando.

Refluír por 30 min. exactamente y adicionar por la parte superior del refrigerante 75 ml de reactivo de HCl-tricloacético-piridina; al término de los 30 min. agitar y dejar refluír otros-10 min. Pasando este tiempo, enfriar los matraces con agua fría hasta temperatura ambiente. Centrifugar aproximadamente 40 ml de la solución por 5 min. a 1800 rpm. Medir 15 ml en un embudo de separación y adicionar 10 ml de éter de Petróleo, agitando vigorosamente por 30 seg. Centrifugar por 3 min. a 1200 rpm. En caso de cualquier turbidez de la solución, agitar nuevamente con éter de petróleo y centrifugar. Repetir ésta operación cuantas veces sea necesario. Poner la solución en una celda de colorimetría de 1 cm. La densidad de color se determinó en un colorímetro fotoeléctrico Klett-Summerson (usando el filtro No. 54 rango del espectro 520 - 580 mn). Los resultados son expresados directamente en unidades-Klett, debido a que el peso de la muestra es constante.

DETERMINACION DE PROTEINAS POR EL METODO  
DE MICROKJELDAHL (A.O.A.C.)

Fundamento.- Las proteínas y demás materia orgánica son -- oxidadas por el ácido sulfúrico; el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Si se hace reaccionar esta sal con una base fuerte, se desprende amoníaco, el cual se destila y es recibido en un volumen conocido de ácido valorado. Por titulación del ácido no neutralizado, se calcula la cantidad de amoníaco desprendido y así la cantidad de nitrógeno de la muestra. El porciento de nitrogéno al ser multiplicado por el factor- 6.25, nos dá el porcentaje de proteínas (Manual de Prácticas de - Análisis de Alimentos)

MATERIAL

Balanza analítica (Marca: Sartorius)

Mecheros

Matraces microkjeldahl de 50 ml

Embudos de cola corta

Aparato de destilación microkjeldahl

Bureta de 50 ml

Vasos de precipitado de 100 ml

Matraces Erlenmeyer de 250 ml

REACTIVOS

Acido Sulfúrico concentrado

Oxido de mercurio

Sulfato de potasio

Acido bórico al 4%

Hidróxido de sodio 1:1 en agua

Solución indicadora (mezclar 2 partes de una solución alcohólica de rojo metilo al 0.2% con una parte de solución alcohólica de -- azul de metileno al 0.2%)

Acido clorhídrico 0.01 N

#### TECNICA

Se pesan 100 mg de muestra en un pedazo de papel glassine, envolver bien para que no se salga la muestra e introducir en el matraz microkjeldahl; añadir 2 g de sulfato de potasio, 40 mg de óxido de mercurio, 2 ml de ácido sulfúrico concentrado y unas perlas de vidrio para regular la ebullición.

Calentar el matraz hasta la total destrucción de la materia orgánica, o sea hasta que el contenido del matraz quede completamente claro, sin presentar residuos negros de materia orgánica.

Dejar enfriar, disolver el residuo en la menor cantidad de agua posible (5 a 10 ml), pasarlo al aparato de destilación y enjuagar el matraz tres veces con 2 ml de agua, añadiendo estos lavados al aparato de destilación. A la salida del condensador del destilador, colocar un vaso de pp. de 100 ml con 15 ml de ácido bórico y 5 gotas del indicador.

Añadir 20 ml de NaOH 1:1 al aparato de destilación empezar la destilación y continuarla hasta obtener 50 ml de destilado. --- Retirar el vaso del destilador y titular con el HCl 0.01 N hasta la primera aparición del color violeta. Hacer un blanco utilizando un pedazo de papel igual al usado en la muestra y proceder de la misma manera.

$$\% N = \frac{(\text{Volumen A} - \text{Volumen B}) \times N \times 0.014 \times 100}{\text{g de la muestra}}$$

$$\% \text{ de proteínas} = N \times 6.25$$

Volumen A = ml de HCl gastados en el problema

Volumen B = ml de HCl gastados en el blanco

N = normalidad del ácido clorhídrico

0.014 = miliequivalente del nitrógeno

## ANALISIS ORGANOLEPTICO

Las pruebas de aceptación realizadas en esta investigación entran dentro del Análisis Estadístico Subjetivo y comprenden las pruebas de preferencia o aceptación, en las cuales pueden realizarse de dos maneras:

- a).- Uso de un Equipo Piloto.- Un grupo de personas de las cuales se obtiene una estimativa de la reacción probable del consumidor hacia un nuevo producto.
- b).- Grupo de Consumidores: La población usada debe comprender -- los niveles económicos y geográficos, a los cuales se dirige el producto desarrollado.

En la investigación llevada a cabo en esta tesis, se escogió la primera variante, o sea el uso de un equipo piloto. El tipo de prueba utilizada es el de Marcación, descrito anteriormente. A dichas pruebas se les aplica un análisis de varianza para obtener datos estadísticos, con los cuales poder concluir si los pasteles son aceptados por los consumidores y si existe o no, una diferencia significativa entre las dos muestras, al ser aceptado uno más que otro.

## ANALISIS DE VARIANZA

1.- Factor de Corrección=  $(\text{Total})^2 / \text{Número de respuestas}$   
(FC)

2.- Suma del Cuadrado de las Muestras=(Suma del cuadrado del total)  
(SS)<sub>m</sub>

- de cada muestra) / Número  
de juicios por cada mues  
tra) - FC
- 3.- Suma del Cuadrado de los Panelistas = (Suma del cuadrado del-  
(SS)<sub>p</sub> total por cada panelista) / Número --  
de juicio por cada panelista) - FC
- 4.- Suma Total de Cuadrados = Suma de los cuadrados de cada jui--  
(ST) cio - FC
- 5.- df= Grdos de libertad: a) para las muestras, es el número de-  
muestras menos 1. b) para los panelistas, el número de panelis  
tas, menos 1. c) el df total es el número de juicios totales-  
menos 1.
- 6.- Error= Para determinar el "error" de df, se restan los valores  
obtenidos al total. Para determinar el "error" de SS, se res-  
tan los valores obtenidos para las otras variables del total.
- 7.- MS= El cuadrado significativo para cada variable se determina  
dividiéndose el SS de cada una por su respectivo grado de  
libertad.
- 8.- F= El radio de variación o F, para cada muestra se determina

dividiéndose el MS de cada muestra entre el MS del error. El F para los panelistas se puede determinar dividiéndose su MS entre el MS del error.

Para determinar si hay diferencia entre las muestras y si ésta es significativa, el valor calculado de F se compara en tablas (Larmond, 1970).

CAPITULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSION

En un principio, la elaboración del tempeh y frijol negro fermentado (FNF), se llevó a cabo como en Indonesia, utilizando hojas de plátano para envolver el producto y dejarlo fermentar; esto, aunque mejora el sabor, presenta ciertos problemas, ya -- que no se fermenta uniformemente y las hojas contribuyen con diversos microorganismos, lo que hace que la fermentación se des-vié por otros caminos. Otro problema es la inaccesibilidad de - las hojas y su manipulación, lo cual hace al método inconveniente.

Tales razones y debido a las recomendaciones de Salazar y Vazquez (1976), cuya tesis trata del producto antes mencionado, nos llevó a elegir el método de Martinelli y Hesseltine, que -- presenta las ventajas de mayor comodidad y seguridad, al utilizar las bolsas de plástico perforadas para la fermentación, lo cual ayuda también a una mejor compactación del producto en el caso de la soya. Con el FNF, no se logra una buena compactación, lo cual podría atribuirse a la composición química de esta leguminososa. En lo que respecta a las cualidades organolépticas, las del FNF no son tan buenas como las de la soya, parte de lo cual se puede atribuir a que no se descascara ni se remoja. Por lo - tanto, el tiempo de cocción del frijol negro es mayor que el de la soya, para que el grano tenga la consistencia adecuada para-

la molienda.

El tiempo de fermentación para ambas leguminosas fué de - 24 hr., aunque la bibliografía menciona que a mayor tiempo de fermentación, mayor será la capacidad antioxidante; pero debido a que las cualidades organolépticas cambian considerablemente - (mayor producción de amoníaco) y los productos requieren de que se conserven en las mejores condiciones, puesto que van a ser consumidas, el tiempo óptimo para cumplir los requisitos anteriores es el mencionado.

Los objetivos del secado son favorecer la molienda y detener la fermentación causada por el hongo, evitando de esta manera su desarrollo en el producto final. Este proceso baja la calidad nutricional tanto del tempeh como del FNF, por lo cual se debe hacer en el menor tiempo pósito, a temperaturas no mayores de 60°C.

La molienda se realiza una vez que el tempeh y el FNF están secos y el tamaño de partícula fué igual al de la malla No. 20. Este tamaño se escogió ya que fué el que mejor consistencia daba a los pasteles al ser prensados; una molienda más fina dió por resultado pasteles quebradizos y un tamaño de partícula mayor, no ejerce la actividad antioxidante deseada, oxidándose el pescado más rápidamente.

En el presente trabajo, el problema de oxidación que se observa en el método de Del Valle/Nickerson, es resuelto con la

incorporación del tempeh y del FNF, comprobándose la actividad antioxidante de dichos productos con respecto a un patrón de la misma especie de pescado utilizada en la elaboración de los pasteles, además de que la aceptación podría incrementarse por el sabor conocido de las leguminosas.

La elección de las especies utilizadas en esta investigación, se basó en el mayor contenido de grasa y precios bajos. En un principio se utilizó sardina, que es una de las especies más grasosas que existen en el mercado y por lo tanto tienden a oxidarse más fácilmente, desperdiciándose una gran cantidad si no son tratadas convenientemente.

La adquisición de sardina fresca se dificulta, pues no se encuentra en el mercado, por lo que se compró congelada, lo cual hace que presente diversos problemas, entre otros, que no se congela inmediatamente después de ser capturada, llevándose a cabo la descomposición tanto microbiana como oxidativa, deteniéndose momentáneamente al someterse el pescado a la congelación. Pero cuando el pescado se descongela, el fenómeno antes mencionado sigue su curso, puesto que el tiempo que tarda este proceso es grande.

En las sardinas utilizadas se observó el fenómeno de "rusting", o sea, el oscurecimiento de la grasa de un color amarillo claro a café. La lectura de la prueba de TBA de la sardina recién descongelada fue muy elevado, lo que indicó el alto gra-

do de rancidez.

Otro de los problemas por los cuales se eliminó el uso de dicha especie, es el estado de descomposición, que hace que el músculo pierda su consistencia absorbiendo mayor cantidad de agua, dando como resultado que en el momento de ser prensado, se elimina la mayor parte junto con el agua.

Los problemas antes mencionados nos llevaron a tratar de conseguir otras especies, aunque no con la misma cantidad de -- grasa, si con la suficiente para que se pudieran observar los cam bios oxidativos una vez formados los pasteles y sometidos a la incubación.

Las especies elegidas fueron lisa (*Mugil cephalus*) y sierra (*Scomberomorus sierra*), las cuales poseen un contenido graso de 1.1 y 3.4% (Hernández, et al) respectivamente, teniendo gran cantidad de ácidos grasos insaturados según se observó en la Tabla I.

Durante el descamado, eviscerado, deshuesado y despellejado, se trató de obtener los mejores rendimientos, teniendo -- buen cuidado de no eliminar carne.

La incorporación de la sal se hizo mediante una mezcladora mecánica, tomando la sal el lugar del agua al desnaturalizar las proteínas.

La incorporación del 20 y 30% en bases húmeda de tempeh -- y FNF secos y molidos, se hizo tratando de cubrir la cantidad --

mínima necesaria de antioxidante para una mejor preservación, - así como para tratar de que el sabor del pastel tuviera parecido (en el caso del FNF) a alimentos consumidos comunmente por los habitantes del país.

La presión óptima se encontró que es a las 4,000 lb de -- presión, teniéndose en este punto una consistencia y compactación satisfactorias. Una mayor presión, baja el rendimiento al salirse la mezcla junto con el agua; una presión menor trae como consecuencia que el pastel se desmorone al ser secado, por faltarle compactación.

Es de considerarse que, tanto el tempeh como el FNF no desarrollaron su mayor actividad antioxidante, debido al tamaño de partícula un tanto grande, ya que es sabido que la actividad de la mayoría de las sustancias químicas está en función de la superficie de contacto, por lo que al tener un mayor diámetro de partícula, la sustancia antioxidante generada por el hongo no se encuentra en un contacto muy íntimo con el pescado.

Debido a las condiciones ambientales de la temporada en la cual se realizó este estudio y que se caracterizaron por la lluvia constante, los pasteles no se secaron al sol. El rendimiento obtenido una vez secos los pasteles fué del 65% aproximadamente.

Los pasteles secos se incubaron a 50°C para acelerar de esta manera las reacciones de descomposición que pueden afectar

a los pasteles y poder determinar los cambios químicos que suceden en el producto en un tiempo menor. El tiempo disponible para este estudio fué de 6 semanas, durante las cuales se hicieron las determinaciones de rancidez por el método de TBA anteriormente descrito, con intervalos de una semana. La modificación química que interesa es el aumento de malonaldehído, el cual nos indica la degradación de los ácidos grasos insaturados y por lo tanto la rancidez que alcanza el producto midiéndola por métodos colorimétricos.

Las determinaciones se hicieron por duplicado para corroborar las lecturas y en el caso de una desviación de 20%, se repitió la determinación. Los resultados obtenidos para cada caso se muestran en las tablas No. II y III, están dados en unidades Klett en lugar de gr. de malonaldehído/100 g de muestra, ya que no se pudo elaborar la curva patrón por no encontrarse el 1,1', 3,3'-tetraetoxipropano en el mercado nacional.

Los pasteles patrones elaborados con el pescado salado, dieron lecturas mucho mayores en comparación con los pasteles a los cuales se les agregó tempeh y FNF. Los pasteles con las mezclas del 20% dan lecturas más elevadas que las de las mezclas del 30%, en las cuales la rancidez se ha reducido a más de la mitad con respecto a los patrones. La excepción la hacen los valores obtenidos para sierra con 30% de tempeh y que son más elevados que los dados para el 20% de la misma mezcla. Esto se de-

TABLA No II  
VALORES DE TBA EN UNIDADES KLETT PARA 'LISA'

Proporciones de tem- peh y FNF*	TIEMPO EN SEMANAS						
	0	1	2	3	4	5	6
Patrón húmedo	5.4						
Patrón seco		60	74	75	82	91	101
20% de Tempeh		26	32	38	40	69	76
30% de Tempeh		21	25	32	35	39	42
20% de FNF		32	34	37	51	70	88
30% de FNF		31	32	35	39	46	47

FNF\* = frijol negro fermentado

TABLA No III  
VALORES DE TBA EN UNIDADES KLETT PARA 'SIERRA'

Proporciones de tempeh y FNF*	TIEMPO EN SEMANAS						
	0	1	2	3	4	5	6
Patrón húmedo	9						
Patrón seco		56	79	91	94	105	110
20% de tempeh		25	30	32	33	41	55
30% de tempeh		31	37	38	47	50	57
20% de FNF		28	37	38	42	45	62
30% de FNF		14	22	31	34	38	45

FNF\* = frijol negro fermentado

be a que la porción de carne tomada para la fabricación del pastel, sufrió una posterior oxidación ya que no se elaboró el mismo día que los otros pasteles, guardándose en refrigeración por un día.

Comparando los pasteles de tempeh con los de FNF, se observa que los primeros ejercieron mayor actividad antioxidante que los segundos, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos por Castro y Tovar (1976) sobre la mayor actividad del FNF, pero debe tomarse en cuenta que ellos fermentaron el frijol negro por 48 hrs., obteniendo dichos resultados; pero el mayor tiempo de fermentación afecta las cualidades organolépticas de los productos de pescado. Con respecto a las especies, en -- los pasteles elaborados con sierra se nota una oxidación mayor, puesto que esta especie tiene un contenido de grasa más elevado.

Para poder usar los datos del artículo de Yu y Sinnhuber (1957), que asocian densidad óptica (D.O), con cualidades organolépticas de los pescados, se pasaron éstas a unidades Klett -- por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Unidades Klett} = \text{D.O.} \times 500$$

Estos datos muestran que a partir de lecturas de 150 U.K. (0.3 de D.O.), el pescado muestra signos de rancidez.

Comparando los resultados obtenidos en este estudio con -- dicha tabla, podemos concluir que los pasteles están dentro de los rangos de aceptación organoléptica, aún los pasteles usados

como patrones, que son los que dieron lecturas más elevadas.

Por dichos resultados, se comprueba que la modificación al método de Del Valle/Nickerson es efectiva al ejercer actividad antioxidante los productos adicionados (tempeh y FNF) al -- pescado, haciendo que se conservan por un tiempo más largo en mejores condiciones.

Por otra parte, las determinaciones de proteína mostrados en las tablas IV y V, nos indican los resultados obtenidos para cada pastel, observando que los patrones de ambas especies tienen un contenido menor de proteínas comparándolos con la mezcla pescado-tempeh al 20%. Este incremento se debe al contenido alto de proteínas en la soya y a la proporción de sal de ambos pasteles, ya que el patrón está elaborado con carne y sal, con lo -- cual se aumenta el contenido de esta última con respecto a otra muestra de la misma cantidad en gramos, pero con la mezcla pescado-tempeh-sal.

Los pasteles de pescado con proporciones de 20 y 30% de -- FNF, dieron valores de proteína más bajos que los de la mezcla -- pescado-tempeh y que el patrón, ya que el contenido de proteínas de frijol negro es menor que el de la soya.

No obstante, la mezcla de ambas leguminosas con el pescado es una buena suplementación, puesto que las proteínas de las leguminosas son deficientes en el aminoácido metionina, el cual es tá presente en el pescado salado en cantidad suficiente; mien---

**TABLAS No IV y V**  
**CONTENIDO DE PROTEINAS DE LOS**  
**PASTELES DE PESCADO SALADO**  
 EN BASE SECA

PARA LISA	% DE PROTEINAS
PATRON	<b>38.6</b>
20% DE TEMPEH	<b>42.1</b>
30% DE TEMPEH	<b>39.2</b>
20% DE FNF	<b>34.5</b>
30% DE FNF	<b>32.7</b>

PARA SIERRA	% DE PROTEINAS
PATRON	<b>37.9</b>
20% DE TEMPEH	<b>40.1</b>
30% DE TEMPEH	<b>37.2</b>
20% DE FNF	<b>33.6</b>
30% DE FNF	<b>31.5</b>

tras que el pescado salado es deficiente completamente en triptofano (Hernández et al., 1971) y dicho aminoácido se encuentra presente en la soya y en el frijol, lo que aminora dicha falta.

Las proporciones de tempeh y FNF, puesto que se hicieron en base húmeda, pueden estar en exceso; ya que al ser eliminada el agua de los pasteles, aumenta la proporción de leguminosas fermentadas. Un problema a resolver, el cual no se trató en esta investigación, será determinar la cantidad óptima de tempeh y FNF, en la cual se ejerza la actividad antioxidante satisfactoria sin que se pierda el sabor inferido por dichos productos al pescado.

Para su consumo, los pasteles se tienen que desalar en -- agua hirviendo en proporciones de 5:1 (agua-pastel), por tres -- ocasiones. Al realizar esta operación, se observó que los paste pierden su forma, lo que se debe atribuir al contenido de -- tempeh y FNF en polvo, que absorben la humedad y se expanden.

Para determinar la concentración óptima de sal residual -- de los pasteles, se efectuaron pruebas panel, teniéndose como -- problemas los pasteles sometidos a la operación de desalado en -- las tres ocasiones, sacando muestras después de cada lavado.

El tipo de prueba usado es la denominada prueba simple, -- en la cual se pide a los jueces su opinión acerca del contenido de sal, de acuerdo al gusto personal. Para esta prueba se utilizó un grupo de 20 personas. El número de lavados óptimo se de--

terminó en la forma siguiente:

No. de muestra	7482	1037	4689
No. de lavado	1o. lavado	2o. lavado	3er. lavado

Las muestras se codificaron con números elevados para evitar los jueces se influenciaron al poner a las muestras números pequeños.

Las pruebas de aceptabilidad de tipo subjetivo, se hicieron usando equipos constituidos de 15 personas, con el fin de probar el grado de aceptación de las características organolépticas de los pasteles de tempeh y FNF en diferentes tiempos de incubación a 50°C (2 y 8 semanas) y 9 semanas a temperatura ambiente. Los equipos estuvieron formados por trabajadores y estudiantes de la UNAM.

Para dichas pruebas, los pasteles se prepararon de la misma manera en todas las ocasiones, siguiendo la receta de la tabla VI:

TABLA No. VI

## INGREDIENTES

1 Jitomate mediano

1/4 de cebolla

1 Diente de ajo

1/cucharada grande de aceite vegetal comestible

1 pastel de pescado con tempeh o FNF (130 g)

## PROCEDIMIENTO

El pastel se desala en agua hirviendo (5:1) por dos veces, desalojando el agua. Repetir la operación si es necesario de acuerdo al gusto. Freir el diente de ajo en el aceite vegetal, una vez frito, sacarlo y agregar el jitomate con la cebolla previamente molidos; dejar freir por espacio de 10 min. agregar el pastel desalado y cocinar durante 20 min. más. Se puede agregar chile al gusto y servir en tacos o tortas.

De acuerdo a los datos de la tabla No. VII y anexos, se puede concluir que la aceptación de los productos de pescado con tempeh y FNF, se inclina ligeramente por estos últimos, -- con una tendencia catalogado de "buena". Tal vez, esto se deba a que la mezcla con FNF, tiene un sabor conocido agradable al paladar.

Por medio del análisis de varianza, se comprobó que no -- hay una diferencia significativa en apariencia, olor y sabor de las muestras de tempeh y FNF en las pruebas No. 1 y No. 3 (2 se manas a 50°C y 9 semanas a temperatura ambiente), pero si existe una ligera diferencia en la prueba No. 2 (8 semanas a 50°C), en lo que respecta a sabor y olor.

Al hacer el análisis de varianza del sabor de las 3 pruebas de FNF y tempeh respectivamente, se encontró que existe diferencia entre las tres, siendo la prueba No. 2 la menos acceptada, lo que indica que ya se empieza a notar el sabor a rancio,-- debido a la oxidación de los ácidos grasos insaturados.

Un punto importante de aclarar, es que los pasteles se -- sirvieron a los jueces en su forma natural, es decir, solamente se les añadió los condimentos necesarios para hacerlos más -- atractivos, omitiendo el chile, ya que puede enmascarar el sa-- bor del pastel y el pan o tortillas, puesto que lo que se desea saber por medio de las pruebas, es si son aceptados o no. No -- obstante, la forma ideal de ser servidos sería junto con los -- alimentos antes mencionados, los cuales son básicos en la ali-- mentación del mexicano promedio, ayudando así a una mejor aceptación.



QUÍMICA

TABLA No. VII

## Número de personas

## PRUEBA No. 1 (2 semanas a 50°C)

Escala	5 Excelente	4 Bueno	3 Regular	2 Malo	1 Pésimo
FNF					
Apariencia	1	8	5	1	0
Olor	3	8	4	0	0
Sabor	0	10	5	0	0
TEMPEH					
Apariencia	1	9	4	1	0
Olor	3	5	7	0	0
Sabor	0	9	4	2	0

## PRUEBA No. 2 (8 semanas a 50°C)

FNF					
Apariencia	0	8	5	2	0
Olor	1	8	6	0	0
Sabor	0	6	6	3	0
TEMPEH					
Apariencia	2	4	6	3	0
Olor	0	7	6	0	2
Sabor	0	3	6	4	2

## PRUEBA No. 3 (9 semanas a temperatura ambiente)

FNF					
Apariencia	2	6	5	1	1
Olor	3	8	3	1	0
Sabor	3	3	7	1	1
TEMPEH					
Apariencia	3	6	5	1	0
Olor	1	6	7	1	0
Sabor	1	4	9	1	0

## ANEXOS

## PRUEBA No. 1 (SABOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL		
1	4	4	8		
2	4	2	6		
3	4	3	7	FC = 381.63	
4	4	4	8	SS <sub>m</sub> = 0.3	
5	4	4	8	SS <sub>p</sub> = 9.867	
6	3	4	7	ST = 11.36	
7	3	4	7		
8	4	2	8	MUESTRAS	PANELISTAS
9	4	4	8	5%	
10	4	3	7	F <sub>1-14</sub> = 4.60	F <sub>14-14</sub> = 2.50
11	3	4	7		
12	4	3	6	1%	
13	3	3	6	F <sub>1-14</sub> = 8.68	F <sub>14-14</sub> = 3.79
14	3	4	7		
15	4	3	7		
<u>TOTAL</u>	<u>55</u>	<u>52</u>	<u>107</u>		

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.3	0.3	3.75	NSD*
Panelistas	14	9.86	0.7	8.75	NSD
Error	<u>14</u>	<u>1.2</u>	<u>0.08</u>		
	29	11.36			

## PRUEBA No. 3 (SABOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL		
1	2	3	5		
2	4	2	6		
3	4	4	8		
4	4	3	7		
5	4	3	7		
6	4	4	8	FC = 258.13	
7	3	3	6	SS <sub>m</sub> = 2.13	
8	3	3	6	SS <sub>p</sub> = 19.86	
9	3	3	6	ST = 23.86	
10	3	2	5		
11	4	2	6		
12	3	1	4		
13	2	2	4		
14	2	4	6		
15	3	1	4		
<u>TOTAL</u>	<u>48</u>	<u>40</u>	<u>88</u>		

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	2.13	2.13	16.4	+SD al 5% y 1%
Panelistas	14	19.86	1.41	10.8	SD al 5% y 1%
Error	<u>14</u>	<u>1.87</u>	0.13		
	29	23.86			

\*No hay diferencia significativa

+Hay diferencia significativa

## PRUEBA No. 3 (SABOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	3	3	6	
2	3	4	7	
3	2	3	5	
4	4	3	7	
5	3	3	6	
6	5	3	8	FC = 340.03
7	3	2	5	SS <sub>m</sub> = 0.036
8	4	3	7	SS <sub>p</sub> = 22.47
9	4	3	7	ST = 24.97
10	3	4	7	
11	3	3	6	
12	5	4	9	
13	3	3	6	
14	5	4	9	
<u>15</u>	<u>1</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	
TOTAL	51	50	101	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.036	0.036	0.17	NSD
Panelistas	14	22.47	1.605	9.11	SD al 5%
Error	<u>14</u>	<u>2.464</u>	0.176		
Total	29	24.97			

## PRUEBA No. 1 (APARIENCIA)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	3	5	8	
2	4	4	8	
3	4	3	7	
4	3	4	7	
5	4	2	6	
6	2	4	6	FC = 396.033
7	4	4	8	SS <sub>m</sub> = 0.033
8	4	4	8	SS <sub>p</sub> = 8.467
9	4	4	8	ST = 14.967
10	3	4	7	
11	3	4	7	
12	4	3	7	
13	3	4	7	
14	4	3	7	
<u>15</u>	<u>5</u>	<u>3</u>	<u>8</u>	
TOTAL	54	55	109	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.03	0.03	0.075	NSD ni al 5% y 1%
Panelistas	14	8.467	0.6	1.5	NSD ni al 5% y 1%
Error	<u>14</u>	<u>6.467</u>	0.4		
Total	29	14.96			

## PRUEBA No. 2 (APARIENCIA)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	4	5	9	
2	4	5	9	
3	4	3	7	
4	4	4	8	
5	4	3	7	
6	2	2	4	FC = 346.8
7	4	3	7	SS <sub>m</sub> = 0.133
8	4	2	6	SS <sub>p</sub> = 14.26
9	3	3	6	ST = 20.96
10	3	3	6	
11	3	3	6	
12	4	4	8	
13	3	2	5	
14	4	4	8	
15	2	4	6	
<u>TOTAL</u>	<u>52</u>	<u>50</u>	<u>102</u>	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.13	0.13	0.276	NSD
Panelistas	14	14.26	1.01	2.14	
Error	<u>14</u>	<u>6.62</u>	0.47		
	29	20.96			

## PRUEBA No. 3 (APARIENCIA)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	4	3	7	
2	4	3	7	
3	3	3	6	
4	3	4	7	
5	4	4	8	
6	3	2	5	FC = 388.8
7	3	3	6	SS <sub>m</sub> = 0.53
8	3	5	8	SS <sub>p</sub> = 25.2
9	4	5	9	ST = 27.2
10	5	3	8	
11	2	4	6	
12	5	4	9	
13	3	4	7	
14	5	4	9	
15	1	5	6	
<u>TOTAL</u>	<u>52</u>	<u>56</u>	<u>108</u>	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.53	0.53	5.04	NSD
Panelistas	14	25.2	1.8	17.14	SD al 1% y 5%
Error	<u>14</u>	<u>1.47</u>	0.105		
Total	29	27.2			

## PRUEBA No. 1 (OLOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	4	3	7	
2	5	4	9	
3	5	5	10	
4	4	4	8	
5	4	4	8	
6	3	5	8	FC = 440.833
7	4	4	8	SS <sub>m</sub> = 0.3
8	4	4	8	SS <sub>p</sub> = 14.66
9	4	3	7	ST = 16.167
10	5	3	8	
11	4	3	7	
12	4	3	7	
13	3	3	6	
14	3	5	8	
15	3	3	6	
<u>TOTAL</u>	<u>59</u>	<u>56</u>	<u>115</u>	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.3	0.3	3.52	NSD
Panelistas	14	14.66	1.04	12.23	SD al 5%
Error	<u>14</u>	<u>1.2</u>	0.085		
Total	29	16.167			

## PRUEBA No. 2 (OLOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL	
1	5	4	9	
2	4	3	7	
3	4	4	8	
4	4	4	8	
5	3	1	4	
6	4	3	7	FC = 353.63
7	3	3	6	SS <sub>m</sub> = 1.63
8	4	4	8	SS <sub>p</sub> = 15.87
9	4	1	2	ST = 21.37
10	3	3	6	
11	4	3	7	
12	3	3	6	
13	4	4	8	
14	3	4	7	
15	3	4	7	
<u>TOTAL</u>	<u>55</u>	<u>48</u>	<u>103</u>	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	1.63	1.63	5.90	SD al 5%
Panelistas	14	15.87	1.13	4.09	NSD
Error	<u>14</u>	<u>3.87</u>	0.27		
Total	29	21.37			

## PRUEBA No. 3 (OLOR)

PANELISTAS	FNF	TEMPEH	TOTAL
1	5	4	9
2	4	4	8
3	4	3	7
4	4	3	7
5	4	4	8
6	2	2	4
7	3	4	7
8	3	5	8
9	4	4	8
10	5	3	7
11	4	4	8
12	4	4	8
13	4	3	7
14	5	4	9
<u>15</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>6</u>
TOTAL	58	54	112

$FC = 418.133$   
 $SS_m = 0.533$   
 $SS_p = 10.867$   
 $ST = 13.86$

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	0.53	0.53	3.01	NSD
Panelistas	14	10.86	0.77	4.37	NSD
Error	<u>14</u>	<u>2.47</u>	0.176		
Total	29	13.86			

## COMPARACION DE LAS PRUEBAS DE FNF (SABOR)

PANELISTAS	N°1	N°2	N°3	TOTAL		
1	4	3	3	9		
2	4	4	3	11		
3	4	4	2	10	FC = 527.022	
4	4	4	4	12	SS <sub>m</sub> = 1.644	
5	4	4	3	11	SS <sub>p</sub> = 22.978	
6	3	4	5	12	ST = 30.978	
7	3	3	3	9		
8	4	3	4	11	MUESTRAS	PANELISTAS
9	4	3	4	11	5%	
10	4	3	3	10	F <sub>2-14</sub> = 3.33	F <sub>14-29</sub> = 2.01
11	3	4	3	10		
12	4	3	5	12	1%	
13	3	2	3	8	F <sub>2-14</sub> = 5.42	F <sub>14-29</sub> = 2.76
14	3	2	5	10		
15	4	3	1	8		
<u>TOTAL</u>	<u>55</u>	<u>48</u>	<u>51</u>	<u>154</u>		

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	1.64	0.82	3.74	SD al 5% y 1%
Panelistas	14	22.97	1.64	7.48	SD al 5% y 1%
Error	<u>29</u>	<u>6.36</u>	0.219		
Total	45	30.97			

## COMPARACION DE LAS PRUEBAS DE TEMPEH (SABOR)

PANELISTAS	N°1	N°2	N°3	TOTAL	
1	4	3	3	10	
2	2	2	4	8	
3	3	4	3	10	
4	4	3	3	10	
5	4	3	3	10	
6	4	4	3	11	FC = 448.088
7	4	3	2	9	SS <sub>m</sub> = 5.512
8	2	3	3	8	SS <sub>p</sub> = 23.91
9	4	3	3	10	ST = 33.92
10	3	2	4	9	
11	4	2	3	9	
12	3	1	4	8	
13	3	2	3	8	
14	4	4	4	12	
15	3	1	5	9	
<u>TOTAL</u>	<u>52</u>	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>142</u>	

VARIABLES	df	SS	MS	F	
Muestras	1	5.51	2.75	17.78	SD al 5% y 1%
Panelistas	14	23.91	1.70	11.01	SD al 5% y 1%
Error	<u>29</u>	<u>4.50</u>	0.155		
Total	45	33.92			

En la tabla de comparación de las pruebas de FNF y Tempeh hay diferenciación significativa entre las muestras lo que se comprobará con la Prueba de Duncan de Rango Múltiple.

## FNF (SABOR)

Marca de la muestra	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
	55	48	51
Marca de la muestra/Número de panelistas =			
	= 55/15	48/15	51/15
	= 3.66	3.2	3.4

Ordenando de acuerdo a su magnitud:

A	B	C
Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
3.66	3.4	3.2

$$SE = \sqrt{0.219/15} = 0.121$$

$$rp = 2.90 \quad 3.04 \quad (5\%)$$

$$Rp = 0.35 \quad 0.367$$

$$3.66 - 3.2 = 0.46 > 0.367$$

$$3.66 - 3.4 = 0.26 < 0.35$$

$$3.4 - 3.2 = 0.2 < 0.45$$

## TEMPEH (SABOR)

Marca de la muestra	Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
	52	40	50
Marca de la muestra/Número de panelistas =			
	= 52/15	40/15	50/15
	= 3.46	2.66	3.33

A	B	C
Prueba N°1	Prueba N°2	Prueba N°3
3.46	3.33	2.66

$$SE = \sqrt{0.155/15} = 0.101$$

$$rp = 2.90 \quad 3.04$$

$$Rp = 0.292 \quad 0.307$$

$$3.46 - 2.66 = 0.8 > 0.307$$

$$3.46 - 3.33 = 0.13 < 0.292$$

$$3.33 - 2.66 = 0.67 > 0.292$$

El precio real del producto no fué determinado, debido a las condiciones económicas por las cuales atravieza el país, - puesto que los precios de las materias primas no están fijos.- El costo aproximado de un pastel de 450 g. tomando los precios actuales del mercado, sería de \$15.80 para el tempeh y \$14.35- para el frijol negro fermentado. Estos precios se reducirían - considerablemente, si los pasteles se procesaran en los luga-- res adecuados como son las costas y cerca de otras plantas pro cesadoras de pescado. Los precios del pescado y las legumino-- sas se tomaron del mercado al menudeo.

C A P I T U L O V

## CONCLUSIONES

- 1.- Se comprobó la actividad antioxidante del FNF y por lo tanto la modificación al método del Del Valle/Nickerson dió resultado, al detenerse la oxidación de los ácidos grasos de las especies utilizadas para la elaboración de los pasteles.
- 2.- El tempeh tuvo una actividad antioxidante ligeramente mayor - que el FNF, fermentado ambos 24 hrs, en contradicción a los - datos obtenidos por Castro y Tovar (1976), quiza esto se deba a que ellos fermentaron durante 48 hrs.
- 3.- Es necesario hacer un estudio más profundo del FNF, para aplicarlo a otros alimentos.
- 4.- Los pasteles elaborados por la modificación al método de DelVallé/Nickerson, se pueden preservar durante más largo tiempo conservando buenas cualidades organolépticas.
- 5.- El producto se elaboró con perspectivas de que los consume gente de escasos recursos económicos por su contenido de proteínas y su sabor conocido.
- 6.- Se observó que, en el caso de dejar fermentar el frijo negro y la soya por más tiempo, la capacidad antioxidante aumenta, - pero se ven afectadas sus caracterfísticas organolépticas. Por lo anteriormente mencionado, se recomienda verificar el poder antioxidante en relación con el tiempo de fermentación y al - mismo tiempo comprobar tanto que se ven afectadas las cualidades or

ganolépticas mediante pruebas de aceptación.

- 7.- Se recomienda determinar la mezcla óptima tanto de FNF como de tempeh con el pescado, en el cual éstos ejerzan la suficiente actividad antioxidante, así como no se pierda su sabor característico.
- 8.- Las pruebas organolépticas indican una aceptación ligeramente mayor para los pasteles de pescado elaborados con el FNF, aunque estadísticamente no hay significancia.
- 9.- Los pasteles elaborados con el tempeh y FNF, en las proporciones de 20 y 30% con un peso de aproximadamente de 450 gr, alcanzan a cubrir las necesidades proteicas diarias de 2 personas, según la FAO, que recomienda que cada persona adulta ingiera 70 gr. de proteínas, 1/3 de las cuales debe ser de origen animal.
- 10.- Las plantas de procesamiento de pasteles de pescado -leguminosas, deberán estar localizadas en las costas del país para reducir los costos, ya que la materia prima se encuentran en ese lugar, además que se pueden distribuir a todo México, ya que se demostró en el presente trabajo que la vida de anaquel y la preservación de dichos pasteles es larga aún sin refrigeración, lo cual favorece ésta proposición.

## BIBLIOGRAFIA

- Bading, H.T. Doctoral Thesis. 1972, Pags. 1325.  
Netherlands Institute for Dairy Research at Ede
- Bernheim, F.; Bernheim, L.C.M. and Wilbur, M.K.  
"The Reaction Between Thiobarbituric Acid and the Oxidation Products of Certain Lipides". J. Biol. Chem. 174:257 1948.
- Castro, S.P. & Tovar L.R. "Use of Natural Antioxidants Extracted from Phaseolus vulgaris in Varius Fishery Products". American - Oil Chemists, Society. 50<sup>th</sup> Annual Fall Meeting. Chicago II. Sept 1976.
- Del Valle, F.R. & Nickerson, J.T.R. "A Quick Salting Process -- for Fish". 1.- Evolution of the Process. Food Technology - - 22:1136 1968.
- Del Valle, F.R. et al. "Un Método Nuevo para la Conservación Rápida y Barata del Pescado". Tec. de Alim. 7(1):12 1972.
- Del Valle, F.R.; Padilla, M.; Ruz, A. and Rodríguez R. "Pilot - Plant Production of and Large Scale Acceptance Trials with Quick-Salted Fish Cakes". J. Food Sci. 38:246 1973 "A".
- Del Valle, F.R.; Hinojosa, J.; Barrera, D. and De la Mora A. -- "Bacterial Counts and Rancidity Estimates of Stored Quick-- Salted Fish Cakes". J. Food Sci. 38:580 1973 "B".
- Del Valle, F.R.; Bourges, H.; Haas, R. and Gaona H. "Proximate- Analysis, Protein Quality and Microbial Counts of Quick Salted, Freshly Made and Stored Fish Cakes". J. Food Sci. - - 41:975 1976.
- György, P.; Murata, K.; Ikehata, H. "Antioxidants Isolated from Fermented Soybeans (tempeh)". Nature. 203:870 1964.
- György, P.; Murata, K. and Sugimoto, Y. "Studies on Antioxidant Activity of Tempeh Oil". J. of the Am. Oil Chemists' Society. 51:377 1974.
- Gruger, E. M. en "Fish Oils". Editado por Stansby M.E. The AVI-Publishing Co. Inc. Pág. 12,14 1967.
- Hernández, M.; Chavez, A.; Bourges, H. y Mendoza E. "Valor Nutritivo de los Alimentos". Tablas de Uso Práctico 1971.

- Iljas, N.; Peng, A.C. and Gouel, W.A. "Tempeh An Indonesian -- Fermented Soybean Food". The Ohio State University. Ph. D.- (Thesis) 1972.
- Larmond Elizabeth. "Methods For Sensory Evaluation of Food". Canadá Department of Agriculture. 1970.
- Lawrie, R.A. "Ciencia de la Carne". Editorial Acribia. Pág. 246 250. 1971.
- Loredo, H. "Low Cost Products Required for Developing Coun--- tries". Fishing News International. 1972.
- Martinelli, A. and Hesseltine, C.W. "Tempeh Fermentation Package and Tray Fermentations". Food Technology. 18:761 1964.
- Mendenhall, V.T. "Oxidative Rancidity in Raw Fish Fillets Har--- vested from tehe Gulf of México". J. Food Sci. 37:574 1972.
- Mendelsohn, J.M. "Rapid Techniques for Salad Fish". J. Food Sci. 39: 1974.
- Murata, K.; Ikehata, H. and Miyamoto, T. "Studies on the Nutri- tional Value of Tempeh". J. Food Sci. 32:580 1967.
- Nonhebel & Walton. "Free Radical Chemistry". Cambridge Universi- ty Press. Pags. 393-394 1974.
- Ortíz, Jr. F. "La Pesca en México". Fondo de Cultura Económica. Pags. 3-11 1975.
- Patton & Kurtz. "2-Thiobarbituric Acid as a Reagent for Detec- ting Milk Fat Oxidation". J. Dairy Science. 34:669 1951.
- Potter, N.M. "La ciencia de los Alimentos". Edutex, S.A. la. - Edición. Pág. 467 1973.
- Rackis J.J. "Food Safety". I.F.T. Short Course Chicago, June - 1975 Pág. 19.
- Salazar C. y Vázquez J. "Preparación y Análisis de Tempeh un - Alimento Oriental". Tesis de Licenciatura Fac. de Química - UNAM. Pág. 53 1976.
- Schultz, H.W. Day, E.A. & Sinnhuber, R.O. "Symposium on Foods:- Lipids and Their Oxidation". The AVI Publishing Co. Inc. - Pags. 6, 12, 112 1962.

- Sherwing, E.R. "Antioxidants for Food Fats and Oils". J.A.O.C.S. 49:468 1972.
- Sinnhuber, R.O. & Yu, T.C. "2-Thiobarbituric Acid Method for the Measurement of Rancidity in Fishery Products". II.- The Quantitative Determination of Malonaldehyde. Food Technology. 12:9 1958 "A".
- Sinnhuber, R.O.; Yu, T.C. & Yu, C.T. "Characterization of the Red Pigment Formed in The 2-Thiobarbituric Acid Determination of Oxidative Rancidity". Food Research 23:626 1958 "B".
- Stansby, M.E. "Polynsaturates and Fat in Fish Flesh". J.A. Dietetic Association. 63:625 1973.
- Stillings, B.R. & Hackler, L.R. "Amino Acid Studies on the Effect of Fermentation Time and Heat-Processing or Tempeh". J. Food Sci. 30:1043 1965.
- Tarladgis, B.G.; Watts, B.M. & Younathan, M.T. "A Distillation-Method for the Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods". J.A.O.C.S. 37:45 1960.
- Tovar, L.R. & Kaneda T. "Comparative Toxicities of Low Molecular Weight Compounds in Autoxidized Methyl Linolenate". J.O.C.S. 1975 En Impresión.
- Turner, E.W.; Paynter, W.D.; Montie, E.J.; Bessert, M.W. Struck, G.M. & Olson, FC. "Use of the 2-Thiobarbituric Acid Reagent to Measure Rancidity in Frozen Pork". Food Technology July:326 1954.
- Yu, T.C. & Sinnhuber, R.O. "2-Thiobarbituric Acid Method for the Measurement of Rancidity in Fishery Products". Food Technology 11:104 1957.
- Yu, T.C.; Day, E.A. & Sinnhuber, R.O. "Antioxidation of Fish Oils". I.- Identification of Volatile Monocarbonyl Compounds from Autoxidized Salmon Oil. 192. 1960.