



PUEBLA

---

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO BIOQUÍMICA – ALIMENTOS

**“Elaboración de una pasta tipo espagueti de pescado Blanco del Nilo (*Oreochromis niloticus*), con ayuda de la enzima transglutaminasa.”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

**Licenciado en Químico Farmacobiólogo**

PRESENTA

**p. Q.F.B. CARMEN ARELI ZEPEDA ZAMORA**

DIRECTOR:

**D.C. ADDI RHODE NAVARRO CRUZ**

ASESOR:

**D.C. RAUL AVILA SOSA SANCHEZ**

PUEBLA PUE. DICIEMBRE 2014

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Vicerrectoria de Investigación y Estudios de Posgrado por la asignación de beca para la realización de este trabajo.

Antes que nada quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi Directora de tesis, D.C. Addi Rhode Navarro Cruz, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con ella, por haber tenido la paciencia necesaria para ayudarme, por transmitirme su conocimiento y por ser demasiado accesible en todo momento.

Un agradecimiento muy especial al D.C. Raul Avila Sosa Sanchez, por su grata colaboración, por su apoyo y por sus valiosos consejos sobre este trabajo.

También deseo agradecer a los sinodales encargados de revisar y corregir este trabajo: M.C. Nohemí Melgoza Palma, M.C. Gonzalo Alfonso Flores Mendoza y M.E.C. Obdulia Vera López, gracias por su tiempo y dedicación.

A los que me introdujeron en el mundo de la investigación, el D.C. Ihuilcamina Daniel Limón Pérez de León, al D.C. Alfonso Daniel Díaz Fonseca, a la M.C. Aleidy Patricio Martínez por enseñarme lo que saben.

A mi familia, en especial a mi madre que me ha apoyado en todos los aspectos, a mis hermanos: Diana, Erick, Laura y Luis que han sido ese motor en mi vida, y a mi primo Carlos, que es como otro hermano.

A mis amig@s: Cinthia que siempre me enseña cosas nuevas y sorprendentes, Mirella por la confianza, Hilce, no alcanzarían las palabras para expresar.....Mauricio por todos esos buenos momentos, a Nico por enseñarme el verdadero valor de la amistad incondicional y estar a mi lado en estos años, Alfredo por ser así conmigo y mostrarme nuevas cosas, a los Incrospis, Karla, Cerón, Kikin, Iza, Canek y Jonás, a Markito gracias por formar parte de mi vida.

El presente trabajo de investigación fue realizado con financiamiento VIEP, dentro del Programa Institucional de Fomento a la Investigación y a la Consolidación de Cuerpos Académicos, subprograma de Apoyo al Desarrollo de la Investigación, del 1º. De Enero al 31 de Diciembre de 2014, con la clave NACA-NAT14-I.

# INDICE

## RESUMEN

### 1. INTRODUCCIÓN

### 2. ANTECEDENTES

#### 2.1. Características generales de las transglutaminasas

#### 2.2. Función de las transglutaminasas

#### 2.3. Transglutaminasas y su paso a la tecnología de alimentos

#### 2.4. Aplicación de las transglutaminasas en tecnología de alimentos

#### 2.5. Lípidos y proteínas funcionales del pescado

### 3. JUSTIFICACIÓN

### 4. OBJETIVOS

#### 4.1. Objetivo General

#### 4.2. Objetivos particulares

### 5. DIAGRAMA DE TRABAJO

### 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7. METODOLOGÍA

### 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 9. CONCLUSIONES

### 10. RECOMENDACIONES

### 11. BIBLIOGRAFÍA

### 12. ANEXOS

## RESUMEN

La incorporación de nuevas tecnologías con el objetivo de ofrecer al mercado nuevos productos obtenidos a partir de restos de especies e incluso de especies de bajo valor comercial parece ser una opción muy interesante. En algunas especies el rendimiento de músculo puede ser del 50%, aunque en otras no supera el 30-40%, por lo que con estos restos se podrían elaborar productos de mayor valor añadido y de características sensoriales bien definidas en función de los gustos del consumidor al que se dirigen. Para aprovechar los restos mencionados procedentes bien de especies nobles o del músculo extraído de especies no comerciales, se suele picar el músculo. En la mayoría de los casos este músculo es lavado y se le añaden una serie de ingredientes con los que se puede modificar su estabilidad, la textura, el color y/o el sabor. A estos nuevos productos se les agrupa bajo la denominación de “productos reestructurados” y su elaboración está basada en la estructuración del músculo picado en mayor o menor grado. Utilizando transglutaminasa (TGasa) se puede producir carne reestructurada uniendo “pedazos” de carne a bajas temperaturas (10°C) durante toda la noche. Tal capacidad de unir pedacera de carne y formar una sola pieza con todas las propiedades organolépticas de un filete original, es llamada unión en frío (cold binding), la cual es empleada exitosamente utilizando carne de res, puerco, pollo y pescado. El cold binding es considerado actualmente como la aplicación más característica para las TGasas y es de las más prometedoras para aumentar el valor agregado de productos cárnicos. En el presente trabajo se desarrolló una formulación para la elaboración de una pasta de pescado (tipo espagueti) texturizando en frío con la enzima transglutaminasa. La evaluación sensorial demostró en general una buena aceptación del producto y el análisis proximal mostró un contenido casi del doble de proteína con respecto a una pasta normal de sémola de trigo.

## 1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de alimentarse, a lo largo de la historia, ha hecho que el hombre intente por muchas vías conseguir más y mejores alimentos, obligándose a cambiarlos, alterarlos y reestructurarlos. Estas modificaciones alimenticias ayudan principalmente a la conservación del alimento y de sus nutrientes, aumentan la disponibilidad teniéndolos al alcance la mayor parte año, aumentan el valor nutricional y mejoran las características organolépticas aumentando la aceptación por el hombre (Lillo y Vizcaya, 2002).

Algunas de estas modificaciones se llevan a cabo gracias a la ayuda de enzimas añadidas a los alimentos y en años recientes la habilidad única de las transglutaminasas (TGasas) de modificar la funcionalidad de las proteínas debido a entrecruzados covalentes ha generado un enorme interés (Tang y Wu, 2006).

La formación de enlaces covalentes entre proteínas es la base de la habilidad de las TGasas para modificar las propiedades funcionales de las proteínas de alimentos (Dvorcakova y col., 2002). Por otra parte, las transglutaminasas ligan extensivamente polímeros insolubles de proteínas. Estos polímeros biológicos son imprescindibles para el organismo para crear barreras y estructuras estables. Algunos ejemplos son la formación de coágulos de sangre (factor de coagulación XIII) así como la piel y pelo. La reacción catalítica es irreversible. Se cree que las TGasas están relacionadas con algunas enfermedades. Investigaciones recientes indican que las víctimas de enfermedades neurológicas como lo son Huntington, Parkinson y Alzheimer tienen niveles inusualmente altos de transglutaminasas (Dvorcakova y col., 2002).

Utilizando TGasa se puede producir carne reestructurada uniendo “pedazos” de carne a bajas temperaturas (10°C) durante toda la noche. Tal capacidad de unir pedacería de carne y formar una sola pieza con todas las propiedades organolépticas de un filete original, es llamada unión en frío (cold binding), la cual es empleada exitosamente utilizando carne de res, puerco, pollo y pescado. El cold binding es considerado actualmente como la aplicación más característica para las TGasas y es de las más prometedoras para aumentar el valor agregado de productos cárnicos (Oddur, 1997; Ikura y col., 1992; Motoki y Seguro, 1998).

## 2. JUSTIFICACIÓN

Debido a los grandes cambios que ha sufrido el ecosistema, el hombre, por la necesidad de sobrevivir, ha modificado sus hábitos alimenticios y se ha visto precisado a formular nuevos productos alimenticios con la ayuda de la biotecnología y la tecnología de alimentos.

La diversificación de nuevos productos es inevitable y especialmente los del ámbito marino, que ofrecen una gama incalculable de especies que se pueden aprovechar en procesos varios como: curados (secos, salados, ahumados y enlatados), pastas y embutidos (crudos, cocidos y escaldados). Claro está que existe muy poca tradición de consumo de estas presentaciones de productos en México, al igual que en otros países de Latinoamérica, por lo que se hace necesario estudiar su aceptación en nuestro medio.

Por tal motivo se propone la realización de una pasta (tipo espagueti) de pescado Blanco del Nilo (*Oreochromis niloticus*) debido a que es una especie rica en proteínas de alto valor biológico, rica en AGPI, y de un precio accesible y de gran disponibilidad.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

- ✚ Elaborar una pasta tipo espagueti de pescado Blanco del Nilo (*Oreochromis niloticus*), con ayuda de la enzima transglutaminasa.

#### **3.2. Objetivos particulares**

- ✚ Realizar diversas formulaciones hasta encontrar la de mejor aceptación por consumidores de prueba en una evaluación sensorial por escala hedónica.
- ✚ Realizar análisis fisicoquímico y microbiológico al producto terminado.

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1. Características generales de las transglutaminasas

La necesidad de alimentarse, a lo largo de la historia, ha hecho que el hombre intente por muchas vías conseguir más y mejores alimentos, obligándose a cambiarlos, alterarlos y reestructurarlos. Estas modificaciones alimenticias ayudan principalmente a la conservación del alimento y de sus nutrientes, aumentan la disponibilidad teniéndolos al alcance la mayor parte año, aumentan el valor nutricional y mejoran las características organolépticas aumentando la aceptación por el hombre.

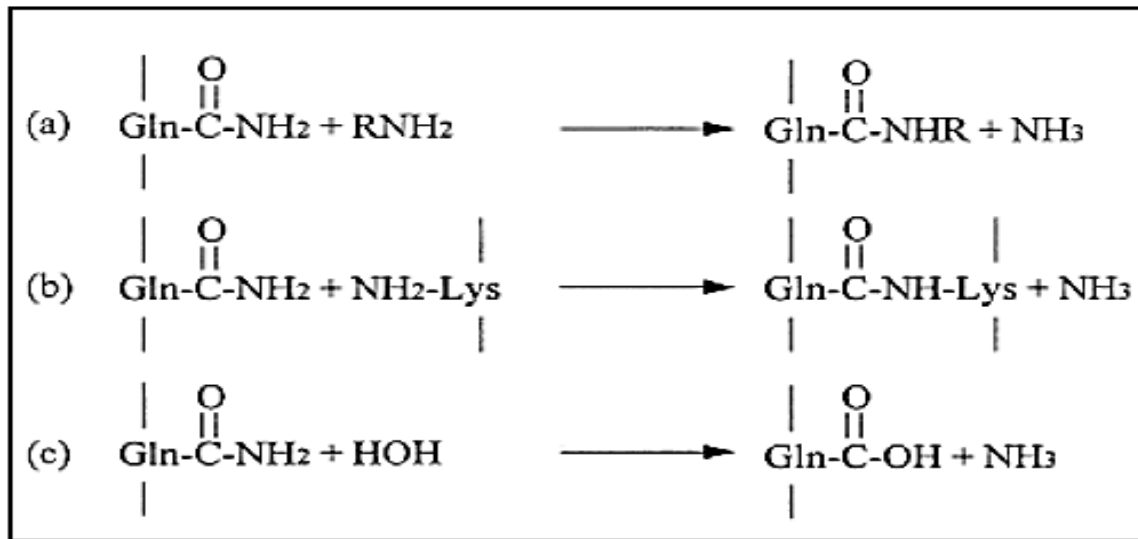
Algunas de estas modificaciones se llevan a cabo gracias a la ayuda de enzimas añadidas a los alimentos. La mayoría de las enzimas utilizadas en los procesos de la industria alimentaria, como lo son amilasas, proteasas y lipasas, contribuyen principalmente a la ruptura de los componentes alimenticios. La habilidad única de las transglutaminasas (TGasas) de modificar la funcionalidad de las proteínas debido a entrecruzados covalentes ha generado un enorme interés (Kamath y col., 1992; Haard y col, 2000; Tang y Wu, 2006).

Las transglutaminasas son una familia de proteínas presentes en la mayoría de los tejidos y fluidos extracelulares de los vertebrados e involucradas en numerosos procesos biológicos tales como: coagulación sanguínea, cicatrización de heridas, queratinización de la epidermis y endurecimiento de la membrana de los eritrocitos. Se han encontrado en mamíferos, pescados, plantas y microorganismos. El papel fisiológico de las TGasas parece ser considerablemente diverso y varias enfermedades se han relacionado con deficiencias o sobreproducción de estas enzimas en el organismo humano (Wilhelm y col., 1996).

Se identificaron por primera vez por Waelsch y colaboradores (Clarke y col., 1959) como enzimas del hígado capaces de incorporar aminos dentro de las proteínas. Wilhelm y colaboradores (1996) distinguieron distintos tipos de isoformas de

TGasas según la fuente de obtención y describieron distintos métodos de extracción, purificación y forma de determinar su actividad.

Las TGasas son transferasas, las cuales tienen el nombre sistemático de proteína-glutamina  $\gamma$ -glutamyltransferasa (EC 2.3.2.13). Esta enzima cataliza la reacción de transferencia entre los grupos  $\gamma$ -carboxiamida de residuos de glutamina en proteínas, péptidos y en varias aminas primarias. Cuando un grupo  $\epsilon$ -amino de lisina actúa como receptor de grupos acil, resulta en una polimerización y un entrecruzado molecular de las proteínas vía formación de enlaces  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamil) lisina. Esto ocurre a través del intercambio de los grupos  $\epsilon$ -amino de los residuos de lisina por amonio en el grupo carboxiamida del residuo de la glutamina en la molécula de proteína (ver figura 1). En la ausencia de aminas primarias, el agua puede tomar el papel del aceptor de grupos acil, resultando en la desaminación de los grupos  $\gamma$ -carboxiamida de residuos de glutamina para formar ácido glutámico. Los aminoácidos conservados que forman el sitio catalítico de la TGasas son la Cisteína (Cys), Histidina (His) y Ácido aspártico (Asp). (Blaskó y col., 2004).



**Figura 1.** Reacción catalizada por las transglutaminasas (TGasas): (a), reacción de acyl-transferencia; (b), reacción de entrecruzado entre los residuos de Gln y Lys de proteínas o péptidos; (c) desaminación. La presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  es un prerequisite para la reacción en la mayoría de TGasas. (Motoki y Seguro, 1998).

La formación de enlaces covalentes entre proteínas es la base de la habilidad de las TGasas para modificar las propiedades funcionales de las proteínas de alimentos (Motoki y Seguro 1998; Dvorcakova y col., 2002). Por otra parte, las transglutaminasas ligan extensivamente polímeros insolubles de proteínas. Estos polímeros biológicos son imprescindibles para el organismo para crear barreras y estructuras estables.

#### 4.2. Función de las Transglutaminasas

Las TGasas forman un gran familia de enzimas intracelulares y extracelulares que catalizan modificaciones proteicas y dicha catálisis es dependiente de  $Ca^{+2}$  (Esposito y Caputo, 2005). Las TGasas se distribuyen extensamente en la mayoría de los tejidos animales, vegetales y fluidos corporales (Tabla 1) y están implicadas en varios fenómenos biológicos, tales como coagulación de la sangre, sanación de heridas, queratinización epidérmica, y rigidez de la membrana de los eritrocitos (Aeschlimann, 1994). Las TGasas según se ha reportado, es la responsable de la regulación del crecimiento, diferenciación y proliferación celular. Las TGasas también han sido descubiertas en las plantas (Icekson y Apelbaum, 1987), pescado (Araki y Seki, 1993) y en los microorganismos (Ando y col., 1989).

Tabla 1. Ejemplos de la presencia y distribución de TGasas en seres vivos

Tipo de Fuente	Especie	Tejido
Mamíferos	Humanos, cerdo, reces, ovejas, conejos	Hígado, corazón, riñón, sangre
Aves	Pollo, paloma	Molleja, sangre
Peces	Atún, macarela, salmón	Músculo, hígado
Plantas	Alfalfa, chícharos, brócoli, espinacas	Hojas
Otros	Camarón, ostras, almejas	Músculo

Adaptado de Activa-Ajinomoto's Transglutaminase, © 1999-2005).

### 4.3. Transglutaminasas y su paso a la tecnología de alimentos

A principios de los 80's la posibilidad de modificar las propiedades funcionales de las caseínas de leche y las globulinas de soya fue demostrada utilizando TGasa obtenida de hígado de cerdo (Ikura y col., 1992) y plasma bovino (Kurth y Rogers, 1984).

La TGasa obtenida a partir de hígado de cobaya fue la única fuente de enzima comercial durante varios años. A principios de los años 80, se llevaron a cabo los primeros experimentos en alimentos y se observó la posibilidad de modificar el comportamiento de las proteínas de la leche y de la soja, utilizando TGasa extraída de hígado de cobaya y de plasma bovino (Ikura y col., 1980). Con posterioridad se intentó obtener cantidades elevadas de la enzima mediante la manipulación genética usando microorganismos huéspedes como *Escherichia*, *Bacillus*, *Aspergillus* o *Saccharomyces*. No obstante, ninguna de esas TGasas se comercializó debido a la baja aceptación y al poco rendimiento obtenido (Motoki y Seguro, 1998).

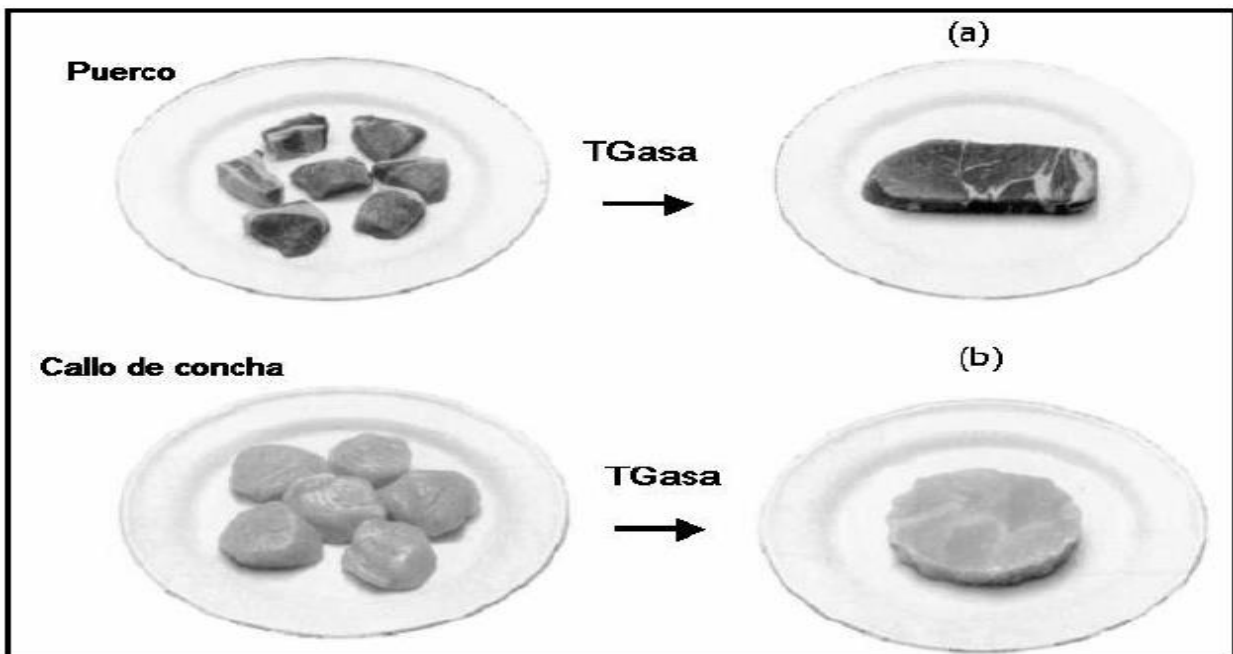
Estudios sobre surimi derivado de algunas especies de pescado (*Theragra chalcogramma*, *Sardinops melanosticus* y *Micropogon undulatus*), llevaron al descubrimiento de que una TGasa endógena era la responsable de la gelificación espontánea de las pastas de surimi a bajas temperaturas (5-40°C). Este descubrimiento ha promovido investigaciones sobre el contenido de TGasas endógenas en organismos marinos, así como la evaluación de TGasas provenientes de otras fuentes para ser aplicadas en el desarrollo de productos y procesos tecnológicos en alimentos (Kamath y col., 1992; Seki y col., 1992; Tsukamasa y col., 1993). De tal manera que todos estos resultados indicaban que las TGasas eran potencialmente útiles por sus nuevas y únicas propiedades funcionales. Es a partir de entonces cuando la producción masiva de TGasas se volvió la principal meta a alcanzar.

#### 4.4. Aplicación de las Transglutaminasas en tecnología de alimentos

Utilizando TGasa se puede producir carne reestructurada uniendo “pedazos” de carne a bajas temperaturas (10°C) durante toda la noche. Tal capacidad de unir pedacera de carne y formar una sola pieza con todas las propiedades organolépticas de un filete original, es llamada unión en frío (cold binding), la cual es empleada exitosamente utilizando carne de res, puerco, pollo y pescado (figura 2).

El cold binding es considerado actualmente como la aplicación más característica para las TGasas y es de las más prometedoras para aumentar el valor agregado de productos cárnicos (Oddur, 1997; Ikura y col., 1992; Motoki y Seguro, 1998).

Se ha desarrollado el sistema que regenera la carne usando simultáneamente TGasa y caseinato. Cuando la materia prima es tratada con caseinato y TGasa, esta se vuelve un sistema viscoso lo cual ayuda a actuar como pegamento que unen a los trozos de carne (Kuraishi y col., 1996).



**Figura 2.** Aplicación de transglutaminasa. (a), filete reestructurado a partir de carne de puerco. (b) nuevo tipo de marisco a partir de callo de concha (Modificado de Motoki y Seguro, 1998).

Proteínas de soya como las globulinas 11S y la 7S son buenos sustratos para las TGasa. El "Tofu", un producto a partir de soya, es producido por la coagulación de las proteínas de soya por la adición de  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Mg}^{2+}$ . Sin embargo, no es sencillo producir un Tofu de larga vida de anaquel ya que su suavidad y consistencia se ve afectada por procesos de esterilización. Con el uso de TGasa es posible mantener las características organolépticas a pesar de los procesos térmicos (Tang y Wu, 2006; Motoki y Seguro, 1998).

En estudios realizados por Sakamoto y colaboradores, (1994), se demostró que aplicando TGasa en la elaboración de noodles y pastas a partir de harina de trigo, era posible prevenir el deterioro de la textura después de la cocción y mejorar la resistencia del producto, incluso cuando la cantidad de harina utilizada fuera poca.

En productos como caseína de leche, la cual no tiene buena capacidad de formar geles, ni siquiera aplicando calor, fue posible generar sistemas gelificados con buena resistencia térmica después de someterla a una reacción enzimática con TGasas. Un ejemplo de esto puede ser el yogur, que es un tipo de gel de leche que puede sufrir una separación de fases de proteínas y agua con cambios de temperatura e impacto físico. Esto puede ser solucionado aplicando TGasa, la cual favorece la estabilidad térmica del gel y su capacidad de retención de agua.

Por otra parte es posible producir productos a base de leche como los helados cremosos y quesos bajos en grasas. Vale la pena pensar que la TGasa es capaz de introducir muchas funciones nuevas a gelatinas y colágenos, en la manera de modificar sus puntos de fusión y la fuerza de geles dependiendo de la cantidad de TGasa.

Sistemas proteicos en la elaboración de productos tipo salchicha, pueden ser mejorados con complejos de gelatina/colágeno tratados con TGasa, ya que se ha observado la buena estabilidad térmica que estos aportan al producto sin la aplicación de reactivos químicos (Ikura y col., 1992; Kuraishi y col., 1996). Por otro lado, Watanabe y col., 1994 reportaron que el tratamiento con TGasa reduce la alergenicidad en las harinas de trigo.

En el caso del pescado procesado, se encontró que la TGasa provocaba una gelificación espontánea en pasta de carne de pescado la cual se llamó “suwari”, donde se producía una pasta rígida de proteína a bajas temperaturas a partir de entrecruzamientos (Seki y col., 1992). La TGasa microbiana se ha aplicado en preparaciones de surimi (de varias especies de pescado) y se ha observado que mejora la fuerza del gel significativamente durante la cocción, incluso a pesar de que el surimi había sido almacenado 2 días en hielo (Ramírez y col., 2000; Wu, 1992; Maruyama y col., 1995; Lee y col., 1997).

#### **4.5. Lípidos y proteínas funcionales del pescado**

En los últimos años ha aumentado mucho la popularidad de los productos marinos. El pescado ha sido una importante fuente de proteínas y lípidos de origen animal. Las proteínas del pescado tienen la ventaja de tener una composición de aminoácidos bien equilibrada se han intentado aprovechar este tipo de materia prima para la producción de nuevos preparados proteicos (El-Sayed, 1999).

Particularmente se ha centrado el interés en los lípidos marinos, que tiene altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 de cadena larga, los efectos beneficiosos para la salud de los AGPI omega 3 se han atribuido a su capacidad para reducir el contenido de triacilglicerol y colesterol en suero. Además, AGPI amega-3 son esenciales para el normal crecimiento y desarrollo y podrían también intervenir en la prevención y tratamiento de la hipertensión, artritis, otras enfermedades inflamatorias y autoinmunes y el cáncer (Tziomalos y col., 2007; Dallongeville y col., 2003).

El pescado contiene aproximadamente entre 11 y 27 % de proteínas con una excelente distribución de aminoácidos y digestibilidad. Las proteínas del pescado, como las de otros tipos de músculo, se pueden clasificar en sarcoplásticas, miofibrilares y del estroma o tejido conectivo (Abou y col., 2011).

Las proteínas sarcoplásticas, principalmente albúmina, pero también mioglobina y enzimas, representan aproximadamente el 30% del total de las

proteínas del músculo. Las proteínas miofibrilares de los músculos (aproximadamente el 60-70%) están compuestas por miosina, actina, tropomiosina y troponinas C, I y T. El estroma está formado por colágeno y elastina procedente de los tejidos conectivos.

La composición depende del tipo de especie, el pez llamado tilapia (*Oreochromis niloticus*), en México es conocido como blanco del Nilo (figura 3), es una especie de pez de la familia *Cichlidae* en el orden de los Perciformes (Fitzsimmons, 2000).



**Figura 3.** Pez Blanco del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Este pez puede medir hasta 60 cm y pesar hasta 4 kg. Es fácilmente reconocible debido a su cuerpo comprimido, a las líneas verticales separadas de color oscuro y a la barra en la aleta caudal. En época reproductiva el color de las aletas se vuelve rojizo.

La tilapia (*Oreochromis niloticus*) es un pez nativo de África que ha sido introducido a muchos países del mundo. Es resistente a enfermedades, se reproduce con facilidad, consume una gran variedad de alimentos y tolera aguas con bajas concentraciones de oxígeno disuelto. Comúnmente, es cultivada en estanques, jaulas y arrozales inundados. La mayoría de las especies de tilapia pueden crecer en aguas salobres y algunas se adaptan al agua de mar. Todas estas características hacen que la tilapia o blanco del Nilo, sea una especie de cultivo apta en la mayoría de los países en vías de desarrollo (Fitzsimmons, 2000).

Entre otras tilapias esta especie es la menos tolerante al frío por lo que prefiere climas subtropicales y tropicales, aunque tolera variaciones en la temperatura y oxígeno. Su dieta es amplia, se alimenta de algas bentónicas, fitoplancton, huevos de otras especies de peces y larvas (Abou y col., 2011).

Su composición nutricional (Tabla 2) es relevante ya que por su bajo precio aporta una gran cantidad de nutrientes para el consumidor.

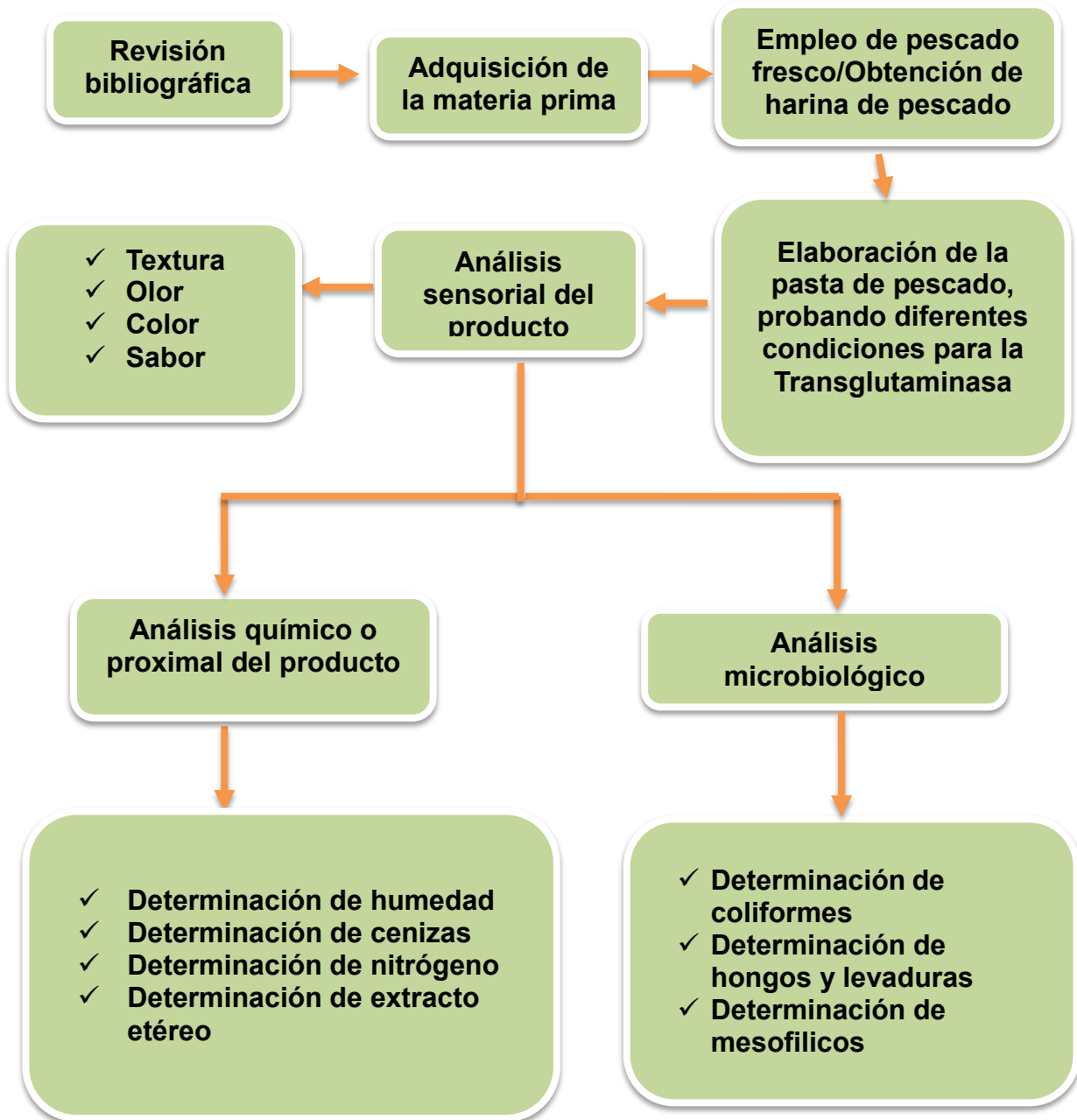
Esta especie de pescado es de muy fácil producción, que prolifera en aguas chinas y que, en los últimos años, ha llegado a los supermercados mexicanos en forma de filetes congelados, que se ofertan a menores precios que la tilapia que se cría en aguas nacionales.

Tabla 2. Composición nutricional de *Oreochromis niloticus*, por cada 100 g

Energía	402 KJ/96 Kcal
Proteína	20,08 g
Carbohidratos	0 g
Fibra	0 g
Azúcar	0 g
Grasas	1,7 g
Grasa saturada	0,571 g
Grasa Poliinsaturada	0,387 g
Grasa Monoinsaturada	0,486 g
Colesterol	50 mg
Sodio	52 mg
Potasio	302 mg

Adaptado de Fitzsimmons y Col., 2000

## 5. DIAGRAMA DE TRABAJO



## 6. MATERIAL Y METODOS

### MATERIAL

Materia prima: Pescado Blanco del Nilo (*Oreochromis niloticus*), harina de trigo y sal.

Material de vidrio: El necesario para cada determinación.

Reactivos de grado analítico: Los necesarios para cada determinación además de Transglutaminasa Activa Ajinomoto®, alginato sódico y cloruro de calcio.

### EQUIPO

Se puede apreciar en la tabla 3.

Tabla 3. Equipo y especificaciones empleadas en el proyecto

EQUIPO	MARCA
Báscula	Tor Rey PCR-20
Balanza analítica	OHAUS E01140
Estufa	Coriat PC-6
Horno	Felisa S/N
Mufla	SIB LINDBERG 51848
Equipo Micro Kjeldahl	LABCONCO 603000
Equipo Soxhlet	
Deshidratador de alimentos	Excalibur 3900

## ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Se muestran las técnicas microbiológicas empleadas a continuación en la tabla 4.

Tabla 4. Técnicas microbiológicas empleadas para el análisis del producto terminado

DETERMINACION	MÉTODO	REFERENCIA
MESOFILICOS	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA.
HONGOS Y LEVADURAS	Vertido en placa	NOM-111-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.
COLIFORMES	Vertido en placa	NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA.

## ANALISIS FISICOQUIMICO

Se muestran en la tabla 5 las determinaciones fisicoquímicas realizadas al producto terminado.

Tabla 5. Determinaciones para el análisis fisicoquímico del producto elaborado.

DETERMINACION	METODO	REFERENCIA
HUMEDAD	TERMOBALANZA	NOM 116-SSA-1-1994
CENIZAS	CALCINACION	NMX-F-607-NORMEX-2002
PROTEINA	KJELDAHL	NMX-F-608-NORMEX-2002
GRASAS	Soxhlet	NMX-F-089-S

## **ANALISIS SENSORIAL**


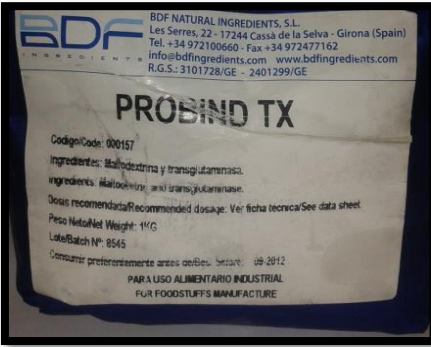

Para la evaluación sensorial, se utilizó una escala hedónica de cinco puntos con panelistas no entrenados, la referencia se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Método para la evaluación de las características sensoriales.

DETERMINACIÓN	METODO	REFERENCIA
Análisis sensorial	Escala hedónica	Anzaldúa, 1994

## 7. METODOLOGIA

Se realizaron dos procedimientos, inicialmente se resolvió utilizar el pescado en fresco, tal y como se puede adquirir comercialmente y simplemente elaborar la formulación pasando el pescado por un procesador de alimentos, tal como se muestra a continuación.

<p>Obtención de la materia prima:</p> <p>Pescado blanco del nilo, presentación comercial natural.</p> <p>Harina de trigo</p> <p>Sal</p> <p>Transglutaminasa Activa Ajinomoto®, alginato sódico y cloruro de calcio.</p>	 The image shows a retail package of 'Sierra Madre Blanco del Nilo Natural' fish fillets. The packaging is blue and white, featuring a picture of a fish fillet on a plate with vegetables. Text on the package includes 'Sin Complicaciones ¡Todo el sabor!', 'PESCADO Y MARISCOS', 'Sierra Madre', 'Blanco del Nilo Natural', and 'Filete de Cuitado natural'. There is also a 'No' symbol in a yellow circle.
<p>Diferentes condiciones para enzima</p> <p>Temperatura 10°C, temperatura ambiente (aproximadamente 20°C)</p> <p>Cantidad de enzima 0.5, 1.0 y 2.0 g</p>	 The image shows a white sachet of BDF PROBIND TX enzyme. The sachet has the BDF logo and the following text: 'BDF NATURAL INGREDIENTS, S.L.', 'Les Serres, 22 - 17244 Cassà de la Selva - Girona (Spain)', 'Tel. +34 972100660 - Fax +34 972477162', 'info@bdfingredients.com www.bdfingredients.com', 'R.G.S.: 3101728/GE - 2401299/GE'. The product name 'PROBIND TX' is prominently displayed. Below it, it lists 'Codigo/Code: 000157', 'Ingredientes: Halobacterina y transglutaminasa', 'Ingredientes: Halobacterina y transglutaminasa', 'Dosis recomendada/Recommended dosage: Ver ficha tecnica/See data sheet', 'Peso Neto/Net Weight: 11G', and 'Lote/Batch N°: 8545'. At the bottom, it says 'Conservar preferentemente areas oscuras, below: 09/2012' and 'PARA USO ALIMENTARIO INDUSTRIAL FOR FOODSTUFFS MANUFACTURE'.
<p>Trituración del pescado</p>	 The image shows a close-up of a hand using a white plastic pestle to grind fish in a mortar. The fish is light-colored and appears to be in the process of being broken down into smaller pieces.

<p>Adición de la enzima previamente hidratada en 10 ml de agua</p>	
<p>Adición de la harina para la formación de una pasta viscosa pero no pegajosa.</p>	
<p>Obtención del tipo de pasta deseado pasando a través de un cortador de pastas</p>	
<p>Secado a 70°C</p> <p>Tallarín 40 min. Espagueti 30 min.</p>	

Para la formulación empleando harina se obtuvo la harina cortando los filetes en una rebanadora hasta un grosor de aproximadamente 1mm y se deshidrató durante tres días en un deshidratador Excalibur a 70°C. Una vez deshidratado el pescado se procedió a triturarlo en un molino para café, donde se obtuvo una mezcla de diferentes tamaños de partícula, por lo que se tamizó y se obtuvo un tamaño de partícula uniforme de 180 µm, con la finalidad de lograr una mejor mezcla con la harina de trigo. Finalmente con la harina obtenida se procedió a formular la pasta utilizando las mismas condiciones que las utilizadas con el pescado en fresco.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Inicialmente se trabajó con la pasta en forma de espagueti, sin embargo debido a que la masa elaborada con pescado fresco no era uniforme, se optó por la forma de tallarín en la cual eran mucho menos notorias las imperfecciones de la pasta, sin embargo vale la pena mencionar que probablemente si se utilizara un extrusor para dar la forma de espagueti las imperfecciones casi no serían notorias, ya que el moldeado se dio con una máquina doméstica para elaborar pastas.

Para la pasta de tallarín y de espagueti con pescado fresco las cantidades de harina para formar la pasta se tuvieron que modificar, esto debido a que la masa obtenida podía dar la forma de tallarín al pasar por el cortador, sin embargo cuando se cambiaba el cortador para dar la forma de espagueti la masa se pegaba y por ello fue necesario incrementar la cantidad de harina, por lo que las formulaciones quedaron finalmente como se muestra a continuación:

Tabla 7. Formulaciones empleadas para elaborar la masa para los diferentes tipos de pasta

	Pescado fresco	TGasa	Sal	Harina de trigo	Agua*
Pasta tipo tallarín	100g	1g	2g	40g	10ml
Pasta tipo espagueti	100g	1g	2g	60g	10ml

\* El agua de la formulación era únicamente para hidratar la enzima y una vez hidratada se malaxó el pescado durante 5 minutos.

Se confeccionaron asimismo dos pastas “testigo” en las cuales se adicionó únicamente harina de trigo, sal y TGasa en una formulación y en otra solo harina de trigo y sal tanto para la forma de espagueti como para la de tallarín, con el objetivo de poder visualizar que el proceso de elaboración no sesgara los resultados.

Se probaron dos temperaturas de actividad para la TGasa, de las cuales se seleccionó la de 10°C, lo cual era de esperarse, ya que además de ser la

temperatura óptima de actividad para la enzima, se conoce que las proteínas se reestructuran mejor a bajas temperaturas (Seky y col., 1992).

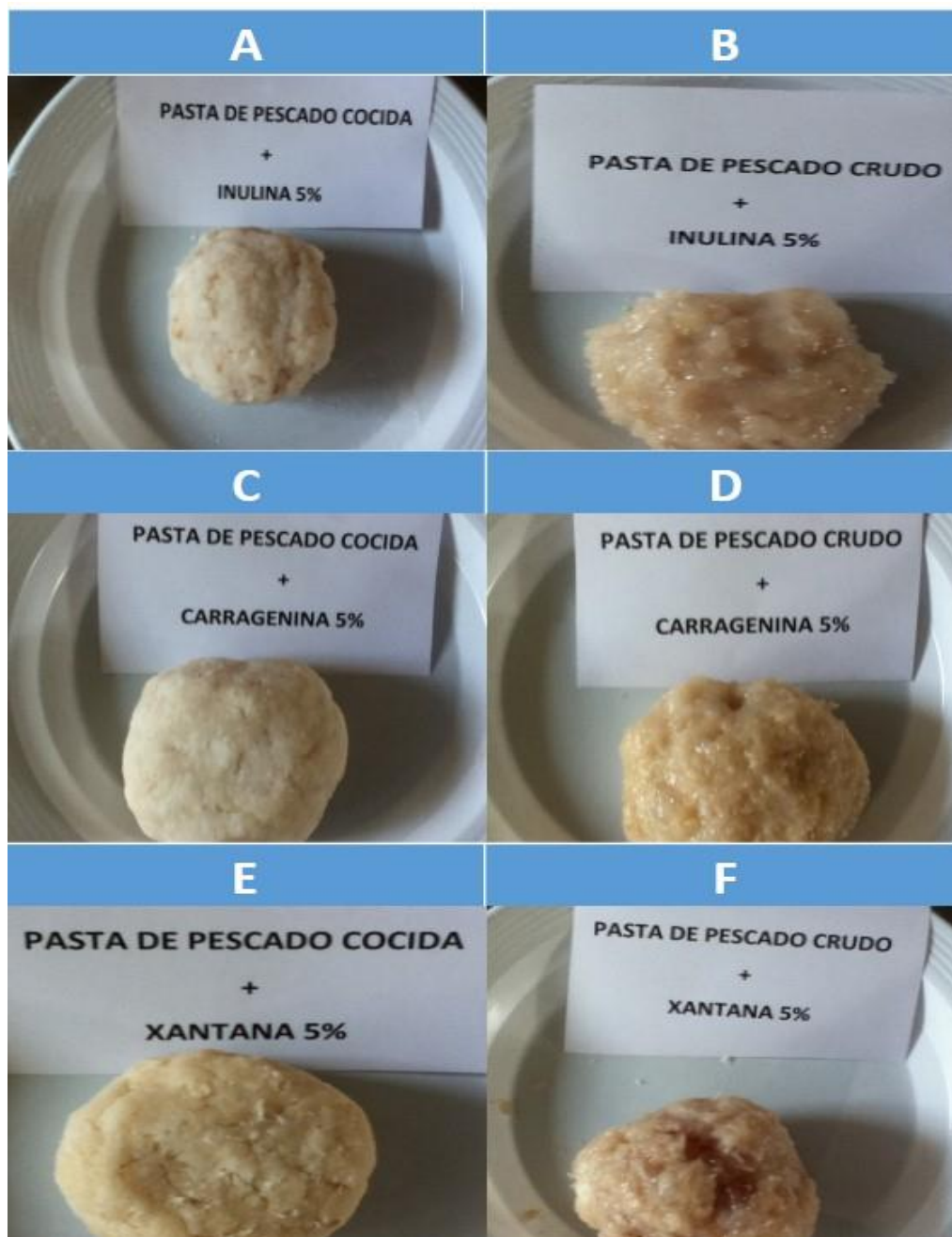
En lo que se refiere a la enzima, se probaron tres diferentes concentraciones de la enzima, de las cuales se seleccionó la de 1.0g por cada 100 g de pescado fresco, ya que la concentración 0.5g/100 g pescado fresco daba lugar a una pasta sin cohesión y la de 2.0 g no presentaba diferencia con respecto a la de 1.0 g. Las primeras formulaciones desarrolladas daban origen a pastas pegajosas prácticamente imposibles de moldear, por lo que se recurrió a la adición de diferentes gomas con la finalidad de mejorar las características de textura de la masa obtenida, sin embargo ninguna de las gomas dio los resultados deseados, por lo que se decidió continuar con la primera formulación, las gomas ocupadas para esto fueron inulina, xantana y carragenina, las masas obtenidas se manejaron para su moldeado en crudo y con una cocción previa en agua hirviendo con sal durante diez minutos para observar la textura de la masa, los resultados obtenidos se observan en la figuras 4A, 4B, 4C, 4D, 4E y 4F, y se describen a continuación.

Se observa que la adición de inulina al 5% (fig. 4A) a la pasta original, cuando se coció por 10 minutos en agua hirviendo formaba una masa quebradiza que no se podía pasar por la cortadora, en crudo (fig. 4B) la masa tenía una consistencia bastante pegajosa, lo cual sugería que debía agregarse una mayor cantidad de harina de trigo lo cual tampoco era conveniente para el trabajo ya que se estaría disminuyendo la concentración de proteína.

Cuando se utilizó carragenina al 5% con la pasta original (fig. 4C) y se coció, presentó características más maleables, por lo que se decidió pasarla por la cortadora, pero esta se rompía, por lo tanto no se le podía dar forma ni de tallarín ni de espagueti. En crudo (fig. 4D) se observó que ésta tenía una consistencia pegajosa, que no se podía moldear.

La adición de xantana con cocción por 10 min en agua hirviendo (fig. 4E) originó características semejantes a las obtenidas con carragenina, era un poco más

maleable pero tampoco se pudo pasar por la cortadora; en crudo (fig. 4F) se observó que al igual que las dos anteriores ésta también era demasiado viscosa y difícil de moldear.



**Figura 4.** Formulación de las distintas masas de pescado con TGasa y con adición de inulina, carragenina o xantana.

Con esto se concluyó que ni la adición de gomas a la masa original ni el proceso de cocción previa de la masa tenía utilidad alguna, puesto que la masa cocida aunque se podían moldear un poco no tenía mucha consistencia para pasar por la cortadora y darle forma ni de espagueti ni de tallarín, y en la masa cruda se presentaban características de viscosidad excesiva lo que impedía que se pudiesen manejar con facilidad lo que sugería agregarles una mayor cantidad de harina lo cual no era la finalidad.

Debido a la polémica que se ha generado con respecto a que sustituir el consumo de pescados azules (ricos en ácido grasos  $\omega$ -3) por el de pescado blanco podría desequilibrar el perfil de ácidos grasos y favorecer el estado pro inflamatorio, se decidió probar con un pescado azul, salmón, a una proporción de 50 g de pescado blanco y 50 g de salmón, en una prueba sensorial previa se observó que el olor era bastante desagradable, por lo cual el producto fue rechazado además de ser un pescado con un mayor costo en el mercado.

Para intentar que la pasta elaborada fuese lo más parecido posible a una pasta de trigo comercial, se decidió adicionar colorante amarillo huevo, ya que la pasta de pescado presentaba un color muy pálido, resultando que en crudo el color era agradable, pero cuando se cocía este color era demasiado intenso y fue rechazado por los panelistas en la evaluación sensorial previa, por lo que se decidió que no era una buena opción agregarle color a la pasta, estos resultados se muestran en la figura 5.

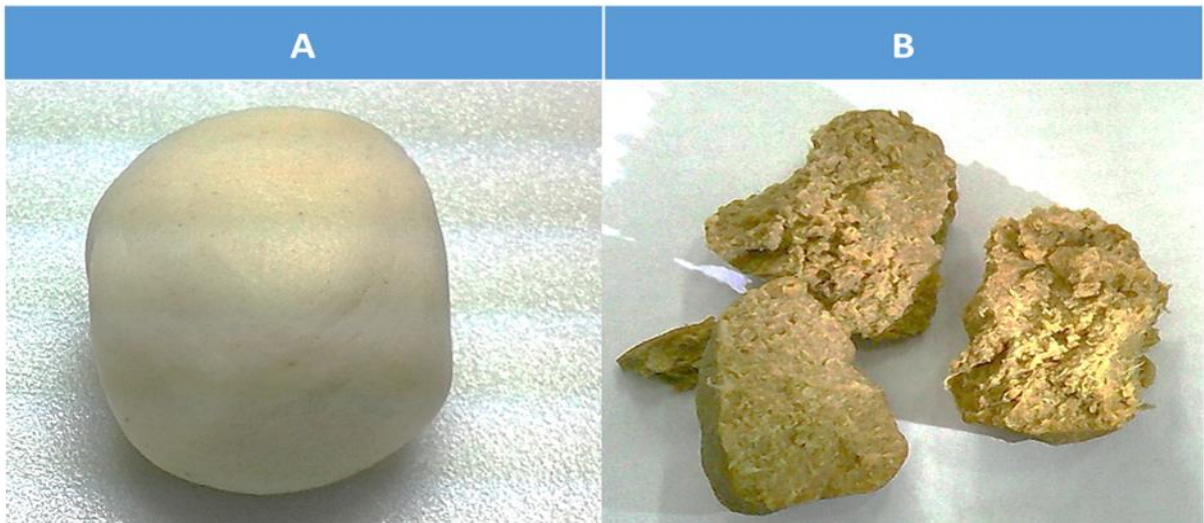
Buscando mejorar la textura de la pasta, se decidió cambiar el pescado crudo por harina de pescado, elaborada tal como se indicó anteriormente en el desarrollo experimental En lo que respecta a la elaboración del espagueti y tallarín utilizando harina de pescado en lugar de pescado fresco, ésta se rehidrató y se le adicionó TGasa al 1% y sal al 2 % (mismas condiciones que para la masa elaborada con pescado fresco), la masa obtenido bajo estas condiciones por sí sola no tenía una consistencia adecuada para ser pasada por la cortadora, así que se adicionó harina de trigo al 50% de harina de trigo, dando como resultado una masa maleable, que se podía pasar por la cortadora con la ventaja adicional de que con

la misma formulación se podía moldear tanto espagueti como tallarín, la masa presentaba un olor agradable y suave a pescado y un color blanco, finalmente después de darle forma se secó a 70°C por 30 minutos.



**Figura 5.** Efecto del color sobre la pasta. La figura 5A muestra la pasta con 50% de salmon+50% de pescado blanco sin colorante, en la figura 5B se aprecia la pasta adicionada con colorante amarillo huevo.

Para intentar aprovechar los residuos de partículas más grandes, se elaboró la masa de acuerdo a las condiciones indicadas anteriormente, pero ésta se deformaba, además de que no se ligaba bien, tal y como se muestra en la figura 6, por lo que las partículas más grandes resultado del tamizado no fueron incorporadas a la masa ni utilizadas en forma alguna.



**Figura 6.** Apariencia de las masas de acuerdo al tamaño de partícula. La figura 6A muestra la masa hecha con un tamaño de partícula de 180µm, donde se aprecia completamente ligada y lisa, por otro lado la de un tamaño de partícula de 300µm no está lisa, presenta imperfecciones y es quebradiza.

Uno de los objetivos buscados en el desarrollo de este producto era incrementar su contenido proteico, en la tabla 8 se muestran los valores de proteína encontrados para los diferentes tipos de pasta elaborada.

Tabla 8. Composición en proteínas de las pastas de pescado elaboradas

Tipo de pasta	Tipo	Porcentaje de proteína
Pasta elaborada con pescado crudo	Espagueti	13.3 (N x 6.25)
	Tallarín	15.6 (N x 6.25)
Pasta elaborada con harina de pescado	Espagueti y Tallarín	26.9 (N x 6.25)
Promedio de las pastas comerciales		Mín. 8.0 (Nx5.76) (NMX-F-023-S-1980)

De la tabla anterior se puede observar que los contenidos de proteína encontrados en todos los productos de pescado duplican y hasta triplican los contenidos

mínimos requeridos por la norma mexicana para pastas, con lo cual se puede considerar que independientemente de la forma de uso del pescado (en fresco o en forma de harina) o de la forma que se le dé al producto, se puede tener la certeza de tener un alimento rico en proteínas ofreciendo una alternativa al consumo de productos de mayor valor nutricional, sobre todo para los niños, quienes no siempre gustan del consumo de pescado.

Otro punto importante a notar es la diferencia entre el contenido de proteína del espagueti y el tallarín, que en teoría no deberían presentar diferencias, sin embargo cabe recordar que la pasta se estructuró con una máquina casera para pastas lo que dificultaba el manejo de la masa, dando como resultado que para la forma más fina que es la del espagueti se tuviese que adicionar mayor cantidad de agua para facilitar el manejo en la máquina de pasta, cosa que se supone no tendría por qué suceder si se utilizara un extrusor.

Con respecto a otros parámetros de la composición proximal, éstos se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Composición fisicoquímica de las pastas elaboradas

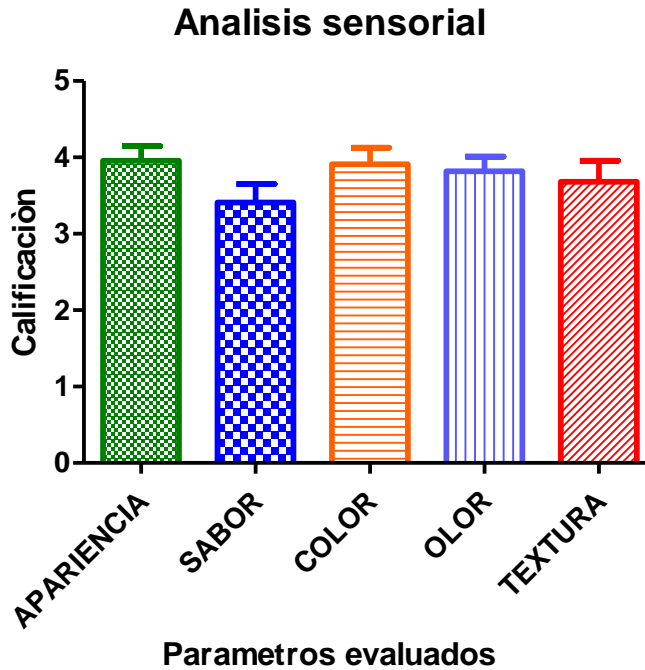
	<b>Tipo</b>	<b>% de Humedad</b>	<b>% de Cenizas</b>	<b>% de grasa</b>
<b>Pescado crudo</b>	Espagueti	8.48	1.43	0.1
	Tallarín	11.4	1.25	0.3
<b>Harina de pescado</b>	Tallarín y Espagueti	10.08	1.43	0.92
<b>NMX-F-023-S-1980</b>	Pasta con harina de trigo	Max. 14	Max 1.2	Min 0.25

De la tabla anterior se desprende que los contenidos de humedad de los productos desarrollados aparte de cumplir con la norma mexicana, garantizarían una adecuada conservación y vida en anaquel de los mismos.

En cuanto al contenido de cenizas, era de esperar que los valores superaran a la norma mexicana (debe recordarse que en un sentido estricto la pasta elaborada no es una pasta) debido a que el pescado es un alimento rico en minerales.

En cuanto al porcentaje de grasa, debido a que se trata de un pescado blanco, muy bajo en grasa, eran de esperarse también los bajos contenidos de la misma.

Una vez obtenidas las pastas, a través de evaluaciones sensoriales preliminares (preferencia para las muestras presentadas a panelistas no entrenados), se seleccionó la pasta para la evaluación sensorial final; se utilizó una escala hedónica de 5 puntos y 35 panelistas no entrenados, la pasta se coció en agua hirviendo con sal durante 10 minutos, se sazonó ligeramente con laurel, orégano y albahaca, se aderezó con aceite de oliva, se espolvoreó con queso parmesano rallado y se sirvió en platos desechables a una temperatura cercana a los 40°C para su mejor degustación. En el parámetro de apariencia la calificación obtenida fue de  $4\pm 0.9$ , lo que significa que a pesar de estar elaborada con pescado y presentar algunas imperfecciones, la pasta al menos por su apariencia tuvo una muy buena aceptación. En lo que se refiere al sabor, la calificación promedio fue de  $3.4\pm 1.14$ , fue el parámetro de menor aceptación, no obstante ser una calificación aceptable, sin embargo, de los comentarios recibidos es que la mayoría de los panelistas suele consumir la pasta adicionada con crema, pasta de tomate, carne, jamón, etc., por lo que la principal queja en cuanto al sabor del producto no estaba directamente relacionada con la pasta sino con la forma de preparación, ya que únicamente estaba cocinada con aceite de oliva extra-virgen y especias. El color, el olor y la textura recibieron calificaciones respectivamente de  $3.9\pm 1.02$ ,  $3.8\pm 0.91$  y  $3.7\pm 1.29$ , lo cual refleja que también en estos parámetros el producto desarrollado tuvo una buena aceptación, el análisis de varianza mostró que no se presentó diferencia entre las calificaciones para ninguno de los factores evaluados (ver figura 7).






**Figura 7.** Evaluación sensorial de la pasta de pescado estructurada con TGasa.

Finalmente se realizó el análisis microbiológico a cada una de las muestras trabajadas, como fueron el tallarín, el espagueti de pescado fresco y de la harina de pescado en sus dos formas, la de espagueti y la de tallarín, así como también los blancos (que no contenían pescado) todas bajo las condiciones de la norma respectiva para cada determinación.

En base a los resultados obtenidos se observa que en los productos existen buenas prácticas de higiene y manufactura, tanto para mesofílicos, coliformes y hongos y levaduras, esto debido a que hubo ausencia de cada uno de estos microorganismos en las diluciones -1, -2 y -3, dando como resultados los que se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados microbiológicos de los productos elaborados

Análisis	Método	Referencia	Resultado
<b>MESOFILICOS</b>	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA.	<10 UFC/gr. 
<b>HONGOS Y LEVADURAS</b>	Vertido en placa	NOM-111-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.	<10 UFC/gr. 
<b>COLIFORMES</b>	Vertido en placa	NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA.	<10 UFC/gr. 

A continuación se muestran algunas de las imágenes correspondientes al desarrollo de las pastas, en el anexo final se muestra el archivo fotográfico completo.



Figura 8. Imágenes de los productos desarrollados: espagueti y tallarín

Las figuras 8A y 8B presentan las pastas hechas a base de pescado fresco, en las figuras 8C y 8D se observan las pastas hecha a base de harina de trigo (las que se denominaron como pastas testigo). En la figura 9 se aprecia la pasta de tallarín tal y como se presentó para la evaluación sensorial a los panelistas no entrenados.



**Fig. 9.** Presentación de la pasta preparada para la evaluación sensorial

## **CONCLUSIONES**

De estos resultados se desprende que con la ayuda de la enzima Transglutaminasa es posible desarrollar productos con texturas, colores, olores y apariencias atractivas para los consumidores, proporcionando una alternativa de gran aceptación sensorial incluso para personas que no gustan del consumo de pescado.

Ventajas adicionales obtenidas con esta tecnología son la prolongación de la vida en anaquel del pescado, ya que después de tres meses de conservación de las pastas a temperatura ambiente, éstas conservan aún todas sus propiedades sensoriales y no se ha observado desarrollo microbiano.

La pasta que rindió los mejores resultados fue la elaborada a base de harina de pescado, sin embargo se incrementa el costo por el proceso de secado.

## 9. SUGERENCIAS

Intentar el uso de un extrusor para la formación de la pasta, a fin de evitar la introducción de aire y la formación de burbujas que dan un aspecto no tan homogéneo al producto.

Probar la elaboración de pastas para sopa, del tipo de la sopa de letras, estrellitas, etc., ya que el espagueti o el tallarín son presentaciones que requieren la adición de cremas o salsas que las hacen más energéticas y son platillos que no necesariamente se consumen con mucha frecuencia en los hogares, mientras que generalmente siempre se incluye la llamada “sopa aguada” en la mayoría de los menús caseros.

Realizar la evaluación sensorial de las pastas con población infantil para determinar si ésta sería una buena forma de introducir el consumo de pescado entre esta población.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Abou, Y., Didier, E., Beckers, I., Micha, J.C. (2011). Approximate Compositional Values and Tissue Fatty Acid Profiles of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Fed Azolla-Diets in Earthen Ponds. *Food and Nutrition Sciences* 2: 964-973.
2. Aeschlimann, D., Paulsson, M. (1994). Transglutaminase: protein cross-linking enzyme in tissues and body fluids. *Thromb. Haemost.* 71: 402-415.
3. Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, M., Uchio, R., Tanaka, H., Motoki, M., Nihon, K. (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2613-2617.
4. Anzaldúa, A. (1994). *La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la teoría y la práctica*. Editorial Acribia Zaragoza España.
5. Araki, H., Seki, N. (1993). Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosin. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 59: 711-716.
6. Blaskó, B., Mádi, A., Fésüs, I. (2004). Structural elements responsible for transglutaminase activity of protein disulphide isomerases and thioredoxins. *J. Biol. Reg. Homeos. Ag.* 18 (1):1-8.
7. Clarke A.D., Sofos J.N., Schmidt G.R. (1988). Effect of Algin Calcium, Ph and Muscle Proteins on Gelation and Microstructure of Gels and Structured Beef. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 21(1): 46-53.
8. Dallongeville, J., Yarnell, J., Ducimetiere, P., Arveiler, D., Ferrieres, J. (2003). Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 108: 820 -825.
9. Dvorcakova M. Maecejova D, Pallet V, Higuieret P, Vasson MP, Rock E, Brtko J. 2002. Transglutaminases and endocrine system. *Endocrine Reg* 36: 31-36.
10. El-Sayed, A.F.M. (1999). Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 179: 149-168.



11. Esposito, C., Caputo, I. (2005). Mammalian transglutaminases: Identification of substrates as a key to physiological function and physiopathological relevance. *FEBS J.* 272: 615-631.
12. Fitzsimmons, K. 2000. Tilapia aquaculture in Mexico. In: B.A. Costa-Pierce & J.E. Rakocy (eds.). *Tilapia aquaculture in the americas*, Vol.2. The World Aquaculture Society, Louisiana, pp. 171-183.
13. Haard, F., Simpson, K. *Seafood Enzymes*. Marcel Dekker, Inc. Transglutaminases in seafood processing. Isaac N. A. Ashie & Tyre C. Lanier (2000); Part II. Chapter 6. pp. 147- 167.
14. Ickson, I., Apelbaum, A. (1987). Evidence for transglutaminase activity in plant tissue. *Plant Physiol.* 84: 972-974.
15. Ikura, K., Kometani, T., Yoshikawa, M., Sasaki, R., Chiba, H. 1980. Crosslinking of casein components by transglutaminase. *Agric Biol Chem* 44:1567–1573.
16. Ikura K, Sasaki R, Motoki M. 1992. Use of transglutaminase in quality-improvement and processing of food proteins. *Comments Agric & Food Chem* 2: 389-407.
17. Kamath, G., Lanier, T., Foegeding, E., Hamann, D.D. (1992). Nondisulfide covalent crosslinking of myosin heavy chain in setting of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16:151-172.
18. Kuraishi, C., Sakamoto, J., Soeda, T. (1996). The usefulness of transglutaminase for food processing. *biotechnology for improved foods and flavors (ACS Symposium Series 637)*, American Chemical Society, pp. 29-38.
19. Kurth L, Rogers PJ. 1984. Transglutaminase catalyzed crosslinking of myosin to soya protein, casein and gluten. *J Food Sci* 49: 573-576.
20. Lee, H.G., Lanier, T.C., Hamann, D.D., Knopp J.A. (1997). Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols. *J. Food Sci.* 62: 20-24.
21. Lillo M., Vizcaya, F. 2002. Origen y desarrollo de los hábitos y costumbres alimentarias como recurso sociocultural del ser humano: una aproximación a la historia y antropología de los cuidados en la alimentación. *Cultura de los Cuidados* 11:61-65.

22. Maruyama, N., Nozawa, H., Kimura, I., Satake, M., Seki, N. (1995). Transglutaminase-induced polymerization of a mixture of different fish myosin. *Fish Sci* 61: 495-500.
23. Motoki M, Seguro K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends Food Sci Tech* 9: 204-210.
24. NMX-F-089-S.
25. NMX-F-023-S-1980.
26. NMX-F-607-NORMEX-2002.
27. NMX-F-608-NORMEX-2002.
28. NOM 116-SSA-1-1994.
29. NOM-092-SSA1-1994.
30. NOM-111-SSA1-1994.
31. NOM-113-SSA1-1994.
32. Oddur V. 1997. The state of enzyme biotechnology in the fish processing industry. *Trends Food Sci Tech* 8: 266-270.
33. Ramírez, J.A., Santos, I.A., Morales, O.G., Morrissey, M.T., Vázquez, M. (2000). Application of microbial transglutaminase to improve mechanical properties of surimi from silver carp. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 3: 21-28.
34. Seki, N., Uno, H., Lee, N.H., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., Arai, K. (1992). Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakk* 56:125-132.
35. Tang C, Wu H. 2006. Coagulation and gelation of soy protein isolates induced by microbial transglutaminase. *Journal of Food Biochemistry* 30: 35-55.
36. Tsukamasa, Y., Sato, K., Shimizu, Y., Imain, C., Sugiyama, M., Minegishi, Y., Kawabata, M. (1993).  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl) lysine crosslink formation in sardine myofibril sol during setting at 25°C. *J. Food Sci.* 58:785-787.

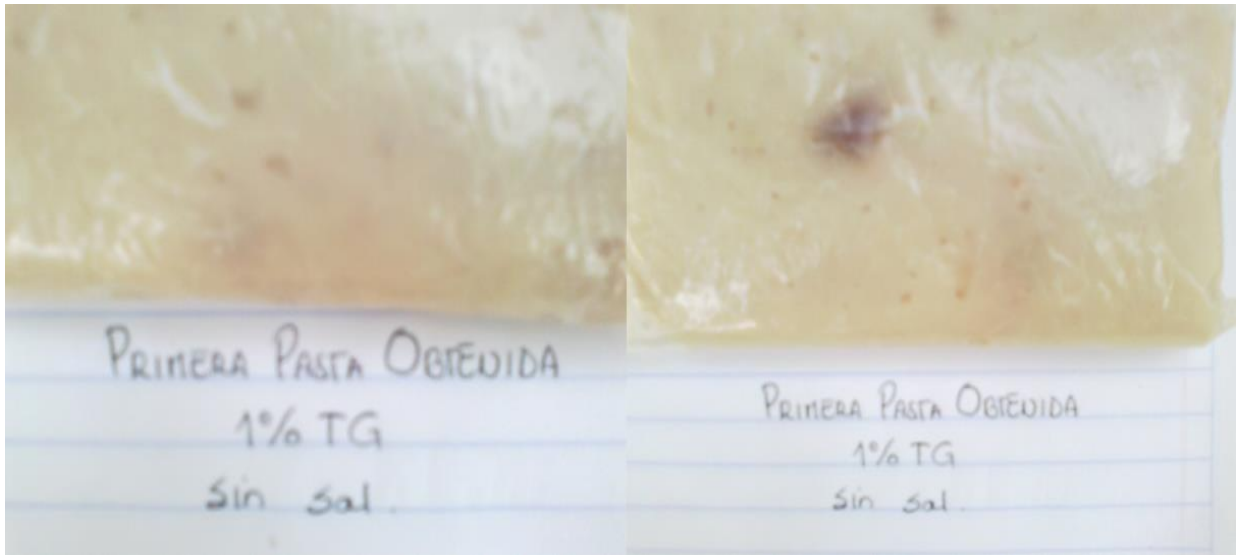
37. Tziomalos, K., Athyros, V.G., Mikhailidis, D.P. (2007). Fish oils and vascular disease prevention: an update. *Curr Med Chem.* 14(24): 2622-2628.
38. Watanabe, M., Suzuki, T., Ikezawa, Z., Arai, S. (1994). Controlled enzymatic treatment of wheat proteins for production of hyperallergenic flour. *Agric. Biol. Chem.* 55: 2725-2731.
39. Wilhelm, B.; Meinhard, A.; Seitz, J. 1996. Transglutaminases: Purification and activity assays. *J Chromatography B: Biomedical Applications*, 684(1-2):163-177.
40. Wu, M.C. (1992). Manufactured of surimi-based products. In TC Lanier, & C M Lee, eds. *Surimi Technology*. NY, Marcel Dekker, pp 245-272.

## ANEXOS

### A. Boleta utilizada para la evaluación sensorial

EVALUACION SENSORIAL						
						
PASTA PROTEICATIPO TALLARIN						
PRODUCTO _____						
Edad: _____		Sexo _____		Fecha _____		
<p>INSTRUCCIONES: Degustar cada muestra, anotando qué tanto le gusto o disgusto el producto, utilizando la escala hedónica (de 5 puntos) apropiada para mostrar su actitud, haciendo una anotación en el punto de la escala que mejor describe sus sensaciones.</p>						
	CALIFICACION	APARIENCIA	SABOR	COLOR	OLOR	TEXTURA
5	ME GUSTA MUCHO					
4	ME GUSTA LIGERAMENTE					
3	NI ME GUSTA NI ME DISGUSTA					
2	ME DISGUSTA LIGERAMENTE					
1	ME DISGUSTA MUCHO					
OBSERVACIONES: _____						
_____						
_____						

B. Galería fotográfica, se presentan las fotografías no incluidas en el texto de la tesis.



Primeras masas obtenidas después de la adición de la TGasa



Pastas obtenidas inicialmente dándola forma con un cuchillo



Pastas de pescado posteriormente a su proceso de secado



Masa lista para dar la forma, amasado manual de la masa y formación de la pasta con una máquina casera de elaboración de pastas



Proceso de deshidratación del pescado



Espagueti y tallarín después de la cocción en agua hirviendo durante diez minutos



Preparación de la pasta para su evaluación sensorial



Pasta preparada lista para su evaluación sensorial



Platos listos para la evaluación sensorial