

HIDROLIZADO PROTEICO OBTENIDO A PARTIR DE RESIDUOS DE ANCHOVETA (*Engraulis ringens*): EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES FUNCIONALES

HYDROLYZED PROTEIN OBTAINED FROM ANCHOVY (*Engraulis ringens*) RESIDUES: EVALUATION OF THEIR FUNCTIONAL PROPERTIES

^{1,2}Silvia Pandia, ²Armando Solari, ²Miguel Albrecht-Ruiz

¹Tesis UNALM. ²DGITTP. Instituto Tecnológico de la Producción.
Carretera a Ventanilla, km 5,200 Callao. spandia@itp.gob.pe

RESUMEN

PANDIA S, SOLARI A, ALBRECHT-RUIZ M. 2013. Hidrolizado proteico obtenido a partir de residuos de anchoveta (*engraulis ringens*): Evaluación de sus propiedades funcionales. Bol. invest. Inst. tecnol. Prod. Perú 11: 44-51.- Con la finalidad de aprovechar las proteínas de los residuos frescos de anchoveta se realizó la hidrólisis proteica con una enzima comercial. Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (MSR) para modelar el comportamiento de las variables temperatura, tiempo, % enzima y relación agua: sustrato, sobre la variable respuesta, el grado de hidrólisis (GH), logrando optimizar el proceso para obtener (i) hidrolizado proteico con 5% de GH: 67,92 °C; 60,32 min; 1,14 % de enzima y relación agua: sustrato de 0,78; (ii) hidrolizado proteico con 10% de GH: 66,50 °C; 78,17 min; 1,41 % de enzima y relación agua: sustrato de 0,78 y (iii) hidrolizado proteico con 15% de GH: 63,93 °C; 82,91 min; 1,59 % de enzima y relación agua: sustrato de 0,85. Los valores máximos del Índice de solubilidad del nitrógeno (ISN) se encontraron en los productos hidrolizados y liofilizados con GH de 10 y 15 a valores de pH de 9 y 11. La capacidad de retención de agua aumentó en relación directa con el GH llegando a 4,0 ml agua/g correspondiente al hidrolizado con 15% de GH. La capacidad de emulsión (CE) y la estabilidad de la emulsión (EE) mostraron una relación inversa al GH; el máximo valor de la capacidad de formación de espuma (CFE) se observó al 10% de GH.

PALABRAS CLAVE: Residuos de anchoveta, hidrólisis proteica, enzimas, MSR, propiedades funcionales.

ABSTRACT

PANDIA S, SOLARI A, ALBRECHT-RUIZ M. 2013. Hydrolyzed protein obtained from anchovy (*Engraulis ringens*) residues: evaluation of their functional properties. Bol. invest. Inst. tecnol. Prod. Perú 11: 44-51.- In order to take advantage of proteins from fresh anchovy residues, protein hydrolysis was performed using a commercial enzyme. Response surface methodology (RSM) was applied to model the change of the variables like temperature, time, % enzyme and relation water: substrate on the response variable, the degree of hydrolysis (DH), thus optimizing the process to obtain (i) hydrolyzed protein with 5% DH: 67,92 °C, 60,32 min, enzyme at 1,14 % and water: substrate ratio of 0,78; (ii) hydrolyzed protein with 10 %DH: 66,50 °C, 78,17 min, enzyme at 1,41 % and water: substrate ratio of 0,78; and (iii) hydrolyzed protein with 15% DH: 63,93 °C, 82,91 min, enzyme at 1,59 % and water: substrate ratio of 0,85. Hydrolyzed protein thus prepared were lyophilized and its maximum values for nitrogen solubility index (NSI) were found in hydrolyzed protein with 10 % and 15 % DH at pH 9 and 11, respectively, while water retention capacity increased in direct relation to the DH reaching 4,0 ml/g for hydrolyzed protein with 15% DH. Emulsion capacity (EC) and emulsion stability (ES) showed an inverse relation to the DH; the maximum value of the foaming capacity (FC) was observed at 10 % DH.

KEYWORDS: anchovy residues, protein hydrolysis, enzymes, RSM, functional properties.

INTRODUCCIÓN

La industria conservera de la anchoveta peruana ha aumentado progresivamente en la última década, alcanzándose a desembarcar 84 194 t en el 2011 para su procesamiento a enlatados (PRODUCE 2013), la magnitud de residuos provenientes de ésta industria constituyen aproximadamente el 40% del peso total de la anchoveta que es descabezada y eviscerada (corte HG), siendo destinado los residuos, principalmente a la elaboración de harina de baja calidad por su alto contenido de cenizas.

El aprovechamiento de las proteínas presentes en los residuos resultaría en una alternativa viable para procesarlos y convertirlos en productos comercializables y con valor agregado. Una de las técnicas que aplican enzimas en la transformación del pescado ha atraído considerable interés para la conversión de subproductos en concentrados proteicos a través de su hidrólisis controlada mediante proteasas (SHAHIDI et al. 1995), la hidrólisis de proteínas produce una disminución en el tamaño de estas biomoléculas modificando sus características funcionales (KRISTINSSON & RASCO 2000). LAHL & BRAUN 1994) citados por LIASET et al. 2000, mencionaron que los factores que afectan la hidrólisis enzimática pueden ser la naturaleza del sustrato, el tipo de enzima, la relación enzima: sustrato y finalmente la concentración de sustrato.

El presente trabajo tuvo como objetivo hidrolizar las proteínas de los residuos de anchoveta con una enzima comercial, modelar el proceso de hidrólisis enzimática y evaluar las propiedades funcionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Materia prima: Los residuos de anchoveta fresca provenientes de una planta de procesamiento primario de anchoveta de Pisco fueron molidos, pasados por una criba de 1 mm de diámetro, pesados, embolsados y congelados a -20 °C hasta su uso.

Hidrólisis de proteínas: La materia prima, agua y enzima Protamex (endopeptidasa proveniente de *Bacillus sp.*) fueron mezcladas en vasos de precipitación y agitados por paletas a 60 rpm, sumergidos en baño maría con control de temperatura. La inhibición de la hidrólisis fue a 85 °C durante 15 min, se tamizó

a fin de eliminar restos de huesos y espinas. El líquido fue colocado en tubos plásticos, centrifugado a 3000 rpm por 15 min obteniéndose tres fracciones lipídica, soluble (acuosa) y precipitada, que fueron cuantificadas y evaluadas químicamente.

Métodos analíticos: Los análisis realizados fueron: la composición proximal (FAO 1986), bases volátiles nitrogenadas por el método de CONWAY (UCHIYAMA et al. 1962), histamina por HPLC (MALLE et al. 1996), el pH fue medido con un electrodo para muestras semisólidas. El grado de hidrólisis por espectrofotometría (DUMAY et al. 2004). La Aw con un Aqualab (Decagon Devices, Pullman, WA, USA). El índice de solubilidad de nitrógeno (ISN) por el método de la AOAC modificado por MORR et al. 1985 (GBOGOURI et al. 2004). La capacidad de retención de agua (CRA) y de emulsificación (CE) según lo propuesto por DINIZ & MARTIN 1997 (modificados por WASSWA et al. 2007), la estabilidad de la emulsión (EE) por el método de YASUMATSU citado por GBOGOURI et al. 2004 y la capacidad de formación de espuma (CFE) según DINIZ & MARTIN 1997, citado por WASSWA et al. 2008. Estos ensayos se realizaron a la fracción soluble liofilizada. Todos los análisis físicos y químicos fueron realizados por duplicado.

Diseño experimental: Se aplicó el diseño experimental de superficie de respuesta (MSR) (MONTGOMERY 2005) para estudiar la influencia de los factores en el grado de hidrólisis (GH) de los residuos de anchoveta utilizando un diseño compuesto central (DCC). En base a experimentos preliminares realizados en ITP, se seleccionó como variables con efectos significativos en la hidrólisis de proteínas de residuos frescos la temperatura (X_1 , °C), tiempo (X_2 , minutos), concentración de enzima (X_3 , %) y RAS que es la relación agua: sustrato (X_4) las que fueron codificadas para cinco niveles de -2, -1, 0, +1, +2. La variable respuesta fue el GH.

El experimento consistió de 2⁴ puntos factoriales, 8 puntos axiales y 7 réplicas del punto central haciendo un total de 31 corridas experimentales. La MSR fue empleada para evaluar los efectos interactivos de las variables independientes sobre la variable dependiente (GH) mediante una ecuación cuadrática y generar condiciones óptimas para lograr GH deseados (5%, 10% y 15%) de los residuos de anchoveta.

Los valores de los GH de los residuos frescos de anchoveta correspondientes a cada

uno de los 31 tratamientos (Tabla 1), fueron analizados mediante MSR para la obtención de un modelo predictivo que relacione el efecto de las variables de estudio y las interacciones sobre el grado de hidrólisis.

Se empleó el análisis de regresión para ajustar a un modelo de superficie de respuesta para la respuesta investigada. Se obtuvo la ecuación de segundo orden para la predicción del modelo. Se determinaron los coeficientes y valores P en todas las variables de términos lineales (X_1, X_2, X_3, X_4), cuadráticos ($X_1^2, X_2^2, X_3^2, X_4^2$) y las interacciones ($X_1X_2, X_1X_3, X_1X_4, X_2X_3, X_2X_4, X_3X_4$).

Los datos experimentales fueron analizados estadísticamente con el programa STATGRAPHICS (STATPOINT Technologies, EEUU versión 16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de materia prima

La anchoveta presentó una longitud total y peso promedio de $12 \pm 1,4$ cm y 23 ± 5 g respectivamente, un pH inicial de 6,08 con calificación de muy fresca, 9,65 mg de N de BVT/100g; $0,08 \pm 0,04$ mg histamina /100g. Los residuos contenían 13,03 % de proteína, 4,35 % de grasa cruda, 78,15 % de humedad de y 3,90 % de ceniza.

Efecto de la hidrólisis en residuos de anchoveta

En la Tabla 1 se muestra los % GH obtenidos mediante la combinación de los factores que afectan la hidrólisis.

Tabla 1.- Variables codificadas y sus respectivos niveles en el grado de hidrólisis

N° de experimento	Nivel de variable codificada				Respuesta Y (GH) %
	X_1 (°C)	X_2 (min)	X_3 (conc. enzima %)	X_4 (agua/sustrato)	
1	-2(48)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	22,4
2	-1(53)	-1(60)	-1(1,5)	-1(0,75)	17,5
3	-1(53)	1(60)	-1(1,5)	-1(0,75)	20,1
4	-1(53)	-1(60)	1(2,5)	-1(0,75)	21,1
5	-1(53)	1(60)	1(2,5)	-1(0,75)	25,9
6	-1(53)	-1(60)	-1(1,5)	1(1,25)	23,6
7	-1(53)	1(60)	-1(1,5)	1(1,25)	26,0
8	-1(53)	-1(60)	1(2,5)	1(1,25)	26,3
9	-1(53)	1(60)	1(2,5)	1(1,25)	28,7
10	0(58)	-2(30)	0(2,0)	0(1,0)	17,9
11	0(58)	2(150)	0(2,0)	0(1,0)	19,2
12	0(58)	0(90)	-2(1,0)	0(1,0)	18,9
13	0(58)	0(90)	2(3,0)	0(1,0)	23,1
14	0(58)	0(90)	0(2,0)	-2(0,5)	23,1
15	0(58)	0(90)	0(2,0)	2(1,5)	23,6
16	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	23,4
17	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	23,8
18	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	23,6
19	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	23,5
20	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	27,5
21	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	19,0
22	0(58)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	28,5
23	1(63)	-1(60)	-1(1,5)	-1(0,75)	12,8
24	1(63)	1(120)	-1(1,5)	-1(0,75)	13,6
25	1(63)	-1(60)	1(2,5)	-1(0,75)	18,9
26	1(63)	1(120)	1(2,5)	-1(0,75)	19,4
27	1(63)	-1(60)	-1(1,5)	1(1,25)	13,6
28	1(63)	1(120)	-1(1,5)	1(1,25)	13,6
29	1(63)	-1(60)	1(2,5)	1(1,25)	13,8
30	1(63)	1(120)	1(2,5)	1(1,25)	14,5
31	2(68)	0(90)	0(2,0)	0(1,0)	14,8

La ecuación del modelo de superficie de respuesta que se generó fue:

$$Y = -290,504 + 7,91901X_1 + 0,975046X_2 + 30,6716X_3 + 46,3412X_4 - 0,0596869X_1^2 - 0,01225X_1X_2 - 0,037X_1X_3 - 0,52X_1X_4 - 0,000381581X_2^2 - 0,0620833X_2X_3 - 0,0275X_2X_4 - 5,46869X_3^2 + 1,23X_3X_4 - 5,45476X_4^2$$

Sólo el tiempo, la concentración de enzima y la relación agua: sustrato ejercen efectos significativos positivos sobre el GH, mientras que los otros efectos de las otras variables son significativos pero negativos sobre el GH.

El valor del coeficiente de determinación R^2 del modelo ajustado para el GH fue de 0,8364 indicando que el modelo de regresión define el comportamiento real del sistema y que el modelo explicó el 83,64 % de la variación total.

Gráficas de contorno

La Figura 1a, 1b y 1d indican una relación inversa de la temperatura y el GH. KUROZAWA et al. 2008, reportaron que las altas temperaturas de hidrólisis dieron lugar a una disminución en el GH de pechuga de pollo con la enzima Alcalasa, lo cual se debió a la desnaturalización térmica de la estructura de la proteasa, lo que redujo su actividad enzimática.

La Figura 1b muestra que el incremento de la concentración de enzima produjo inicialmente un aumento en el GH posteriormente los sucesivos incrementos de enzima, no dieron lugar a un incremento del GH. LEHNINGER (2000) mencionó que a mayores concentraciones de enzima, existen más sitios activos disponibles de la enzima para hidrolizar el sustrato, resultando una mayor escisión de enlaces peptídicos, siempre y cuando las cantidades de sustrato y enzima estén en equilibrio. Similares resultados fueron reportados por KUROZAWA et al. 2008, SALETE & SALAS 2008, NILSANG et al. 2005, BENJAKUL & MORRISEY 1997.

La Figura 1a y 1c indican que si la cantidad de agua se incrementaba, la interacción entre enzima-sustrato mejoraba la hidrólisis, pero si el agua se encontraba en cantidad mayor, disminuía la interacción enzima-sustrato. SUROWKA & FIK 1994 citados por BENJAKUL & MORRISEY 1997, mencionaron que el incremento de agua que se añade al sustrato aumenta la homogeneidad de la enzima, promueve la hinchazón del tejido, y reduce la concentración localizada de los productos de hidrólisis.

La Figura 1d indica una relación directa entre el tiempo y el GH. A medida que transcurrió el tiempo, el sustrato se fue consumiendo por la enzima, lo que se expresó como un aumento en el GH. Al respecto, NILSANG et al. 2005 reportaron resultados similares cuando hidrolizaron concentrados solubles de pescado, encontrando que los valores de GH obtenidos se incrementaron con el aumento en el tiempo de hidrólisis.

Optimización de la hidrólisis en residuos de anchoveta

Los valores obtenidos de la optimización por la MSR considerando los resultados de GH se observan en la tabla 2.

Tabla 2.- Variables obtenidas por optimización

GH (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Enzima (%)	Relación agua: sustrato
5%	67,92	60,32	1,14	0,78
10%	66,50	78,17	1,41	0,78
15%	63,93	82,91	1,59	0,85

Con los valores teóricos de las variables de estudio se realizó una nueva hidrólisis de los residuos para obtener 3 tipos de hidrolizados proteicos con GH definido.

Análisis de hidrolizados liofilizados obtenidos

La muestra control y los hidrolizados con 5%, 10% y 15% de GH presentaron proteína total de 70,1%, 83,3%, 83,0% y 83,7 %; grasa cruda de 3,6%, 0,9%, 0,9% y 0,9 % y ceniza 18,9%, 11,9%, 11,6% y 11,3 % en base seca, respectivamente.

Al respecto, SRIPATHY citado en RUITER (1999), mencionó que la composición proximal del hidrolizado de proteína de pescado es de aproximadamente un 85 % de proteína hidrolizada, formado por péptidos pequeños y aminoácidos libres, un 10 % de materia inorgánica y un 5 % de agua. El contenido en lípidos suele ser muy bajo. El alto contenido de proteínas en los hidrolizados, a diferencia del control, se debe a que en la centrifugación luego de la hidrólisis enzimática se hizo una remoción, tanto de los lípidos, como de la fracción proteica insoluble.

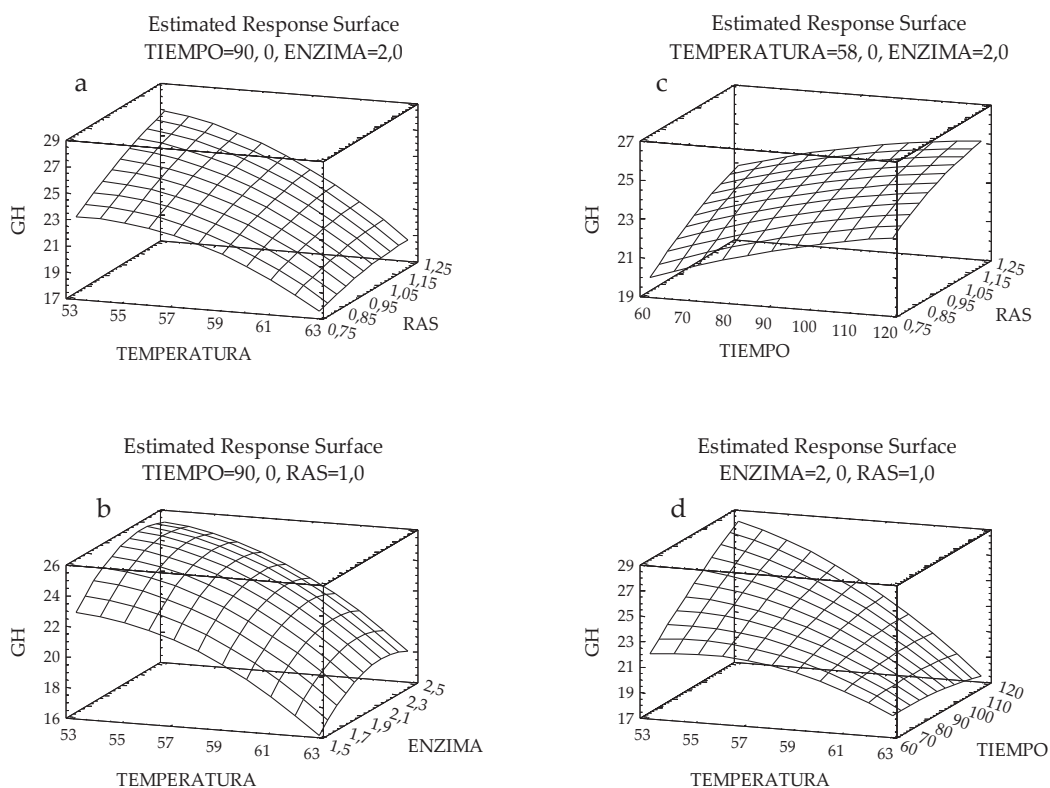


Figura 1.- Influencia de las variables independientes en el grado de hidrólisis: (a) temperatura x RAS; (b) temperatura x enzima; (c) tiempo x RAS y (d) temperatura x tiempo

Los tres hidrolizados liofilizados presentaron un olor característico a pescado, sabor a pescado y marisco, color beige y textura pulverulenta fina.

Por otro lado, los valores de actividad de agua (A_w) en el control y en los 3 hidrolizados fluctuaron entre 0,24 a 0,26.

Índice de solubilidad del nitrógeno (ISN)

Tabla 3.- Índice de solubilidad del nitrógeno de los hidrolizados liofilizados

pH	Tratamiento control	Grado de hidrólisis (%)		
		5	10	15
3	18,8 ± 0,1 ^a	45,8 ± 0,0 ^b	46,9 ± 0,0 ^c	46,7 ± 0,0 ^c
5	21,7 ± 0,1 ^a	57,8 ± 0,0 ^b	57,9 ± 0,0 ^b	60,6 ± 0,0 ^c
7	23,9 ± 0,0 ^a	56,5 ± 0,0 ^b	60,6 ± 0,0 ^c	62,2 ± 0,0 ^d
9	24,5 ± 0,0 ^a	56,0 ± 0,0 ^b	61,8 ± 0,0 ^c	63,1 ± 0,0 ^d
11	25,4 ± 0,0 ^a	55,6 ± 0,0 ^b	62,5 ± 0,3 ^c	62,9 ± 0,1 ^d

Letras diferentes indican diferencia significativa en cada fila ($p < 0,05$)

A medida que el GH se incrementó, el ISN también aumentó, la hidrólisis mejoró la solubilidad de los hidrolizados en todo el

rango de pH evaluado. Los valores máximos de ISN se encontraron en los hidrolizados con GH de 10 y 15 a valores de pH de 9 y 11.

Tabla 4.- Capacidad de retención de agua, emulsificación, estabilidad de la emulsión y formación de espuma

Muestra	CRA (ml Agua/g muestra)	CE(ml aceite/0,5 g muestra)	EE(%)	CFE(%)
Control	2,1 ± 0,1 ^a	14,3 ± 0,4 ^b	55,7±0,0 ^a	7,54±0,0 ^a
GH 5%	3,4 ± 0,3 ^b	19,0 ± 0,7 ^d	77,8±0,0 ^d	32,41±0,0 ^c
GH 10%	3,8 ± 0,1 ^{b.c}	16,5 ± 0,7 ^c	74,4±0,0 ^c	40,21±0,0 ^d
GH 15%	4,0 ± 0,1 ^c	11,5 ± 0,7 ^a	69,1±0,0 ^b	30,58±0,0 ^b

Letra diferentes indican la diferencia significativa en cada fila (p < 0,05)

El aumento en la solubilidad se explica por la ruptura enzimática de las proteínas en unidades de péptidos más pequeños (KRISTINSSON & RASCO 2000). PHILLIPS & BEUCHAT 1981, citados por MAHMOUD (1994) mencionaron que el aumento en la solubilidad se debe a los grupos amino y carboxilo ionizables recién expuestos que aumentan la hidrofiliidad de los hidrolizados. En relación al pH, KRISTINSSON & RASCO 2000 mencionan que el pH de la solución influye en la carga de los grupos de cadena laterales de los lados ligeramente ácidos y básicos, por lo que las proteínas y los hidrolizados de proteínas generalmente presentan menor solubilidad en su punto isoeléctrico y mayor solubilidad, cuando la carga es máxima (en bajo y alto pH).

Capacidad de retención de agua

Los valores de CRA fueron bajos aumentando en relación directa con el GH, siendo el control el que presentó menor CRA (2,1 ml agua/g de muestra) mientras que el tratamiento con 15% de GH fue el que presentó mayor CRA (4,0 ml agua/g de muestra).

El aumento de la capacidad de absorber agua al incrementarse el grado de hidrólisis se fundamenta en la mayor concentración de grupos ionizables surgidos durante la hidrólisis de los enlaces peptídicos (KRISTINSSON & RASCO 2000), los cuales poseen mayor propiedad hidrofílica y solvatante (HOYLE & MERRIT 1994, citados por BELÉN et al. 2007). KRISTINSSON & RASCO 2000, citados por WASSWA et al. 2007, mencionan que la presencia de grupos polares como COOH y NH₂ que se incrementan durante la hidrólisis enzimática tiene un efecto sustancial en el aumento del agua absorbida.

Capacidad de emulsificación (CE)

La CE muestra una relación inversa al GH, la hidrólisis afectó en gran medida las

propiedades emulsificantes de los hidrolizados ya que los péptidos pequeños formados durante la hidrólisis resultan ser menos eficientes en la reducción de la tensión interfacial, porque no pueden desplegarse y reorientarse a la interfase como los péptidos de gran tamaño. KRISTINSSON & RASCO 2000 mencionaron que las propiedades emulsificantes de los hidrolizados proteicos están directamente influenciadas por la presencia de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos en su estructura, disminuyendo la tensión superficial en la interfase aceite-agua, favoreciendo la emulsión de estos componentes del alimento al orientar su parte hidrofóbica hacia la fase lipídica apolar y la región hidrofílica hacia la fase acuosa.

Estabilidad de la emulsión (EE)

En la Tabla 4 se observa que la EE muestra una relación inversa al GH, esto puede deberse a la presencia de péptidos pequeños, que son menos efectivos en la estabilización de las emulsiones, ya que los productos con GH bajos tienen alta hidrofobicidad de superficie (QUAGLIA & ORBAN 1990). La hidrofobicidad de los péptidos grandes es mayor que la de péptidos pequeños derivados de la misma enzima utilizada para la hidrólisis. En la emulsión, los péptidos grandes adsorbidos en la superficie del aceite inducen la formación de pequeñas gotitas de aceite, que son de mayor estabilidad que las grandes gotas de aceite inducidas por péptidos pequeños.

Es posible que los péptidos hidrolizados con una carga neta expuesta mayor, formen películas cohesivas fuertes que rodean las gotitas de aceite las cuales son capaces de mantener estabilizada la emulsión (LICEAGA-GESUALDO & LI-CHAN 1999).

Capacidad de formación de espuma (CFE)

La CFE también se incrementó desde el tratamiento control hasta el hidrolizado de

10 % GH. A partir de este punto ocurrió una disminución de la CFE.

WASSWA et al. 2008, obtuvieron 3 tipos de hidrolizados a partir de la piel de perca, carpa y tilapia del Nilo reportando valores de CFE que fluctuaron entre 11,9 y 28,6 %, (no reportan el GH para fines de comparación), mencionaron que la alta capacidad espumante y estabilidad de los hidrolizados puede atribuirse a un aumento de hidrofiliidad en la superficie. Las proteínas que mantienen su estructura terciaria en la interfase mantendrán una red intermolecular extensa (interacciones proteína-proteína), formando películas firmes que dará como resultado una espuma más estable.

CONCLUSIONES

1. El GH aumentó en forma proporcional al incremento de las variables tiempo y relación agua: sustrato, mientras que la relación del GH con las variables temperatura y concentración de enzima fue inicialmente directamente proporcional y luego pasa a ser inversamente proporcional.
2. Los hidrolizados liofilizados con 5, 10 y 15 % de GH presentaron en promedio: 83,3 % de proteína total, 0,9 % de grasa cruda, y 11,6 % de ceniza en base seca asimismo los valores de actividad de agua fueron de 0,26; 0,26 y 0,24 respectivamente.
3. Las propiedades físicas de los hidrolizados liofilizados presentaron las siguientes comportamientos:
 - Incrementos en el índice de solubilidad respecto al GH, mostrando que los valores máximos se encontraron en hidrolizados con 10 y 15 de GH y a valores de pH de 9 y 11.
 - Los valores de la capacidad de retención de agua aumentaron en relación directa al GH.
 - Los valores de la capacidad de emulsificación y estabilidad de la emulsión mostraron una relación inversa con el GH.
 - La capacidad de formación de espuma, presentó un máximo valor en el hidrolizado con 10 % de GH correspondiente a un incremento de 433,3 % respecto al control.

AGRADECIMIENTO

La autora principal agradece al ITP por el financiamiento, facilidades en el uso de las instalaciones, equipos y el apoyo de los profesionales en la ejecución de este trabajo de investigación, el cual fue presentado como tesis a la UNALM para la obtención del Título de Ingeniero Pesquero.

REFERENCIAS

1. BELÉN D, MORENO M, GARCÍA D, MEDINA C, SIDOROVAS A. 2007. Caracterización de un hidrolizado proteico enzimático obtenido del pez caribe colorado (*Pygocentrus cariba* Humboldt, 1821). 32 (3) 188-193 p.
2. BENJAKUL S, MORRISSEY M. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. J. Agric. Food Chem. 45, 3424- 3429 p.
3. BOTTA J, LAUDER J, JEWER MA. 1984. Effect of Methodology on total Volatile Basic (TVB-N). Determination as an index of Quality of fresh Atlantic Cod (*Gadus morhua*). J. Food Sci. 49: 734-750
4. DUMAY J, BARTHOMEUF C, BERGE JP. 2004. How Enzymes May Be Helpful for Upgrading Fish By-Products: Enhancement of Fat Extraction. Journal of Aquatic Food Product Technology. Vol. 13(2).
5. FAO. 1986. Food analysis: general techniques, additives, contaminants, and composition. Food and Nutrition Paper. Rev. 14/7, 238 p.
6. GBOGOURI GA, LINDER M, FANNI J, PARMENTIER M. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. Journal of Food Science. 69 (8) 615-622 p.
7. KRISTINSSON HG, RASCO BA. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. Journal Agric Food Chemistry (48):657-666.
8. KUROSAWA I, PARK K, HUBINGER M. 2008. Optimization of the enzymatic hydrolysis of chicken meat using response surface methodology. Journal of Food Science 73 (5): 405-411.
9. LEHNINGER A. 2000. Principios de Bioquímica. 3^{era} ed. Barcelona. 1013 p.
10. LIASET B, LIED E, ESPE M. 2000. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterization and nutritional evaluation. J. Sci. Food Agric 80: 581-589.
11. LICEAGA G, LI-CHAN E. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). Food Chemistry Toxicology 64(6): 1000-1004 p.

12. MAHMOUD M. 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technology*. 48 (10): 89-95 p.
13. MALLE P, VALLE M, BOUQUELET S. 1996. Assay of biogenic amines involved in fish de composition. *J. AOAC International*. 79: 43 - 49.
14. MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN. 2013. (online). Disponible en. http://www2.produce.gov.pe/RepositorioAPS/3/jer/DESEMSUBMENU01/2011/diciembre/01_03.pdf. (Acceso el 18 de marzo del 2013)
15. MONTGOMERY D. 2005. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Limusa. México D.F., 700 p.
16. NILSANG S, LERTSIRI S, SUPHANTHARIKA M, ASSAVANIG A. 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*. 70: 571-578 p.
17. OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION COMMISSION REGULATION (EC) N° 2074/2005. Chapter III. Determination of the Concentration of TVB-N in Fish and Fishery Products, 5 December 2005
18. QUAGLIA GB, ORBAN E. 1990. Influence of enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of sardine (*Sardina pilchardus*) protein hydrolysates. *Journal Food Science* 55(6):1571-1619 p.
19. REGLAMENTO (CE) n° 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
20. RUITER A. 1999. El pescado y los productos derivados de la pesca. Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. Editorial Zaragoza, 430 p.
21. SALETE G, SALAS M. 2008. Influência das concentrações de enzima e de substrato no grau de hidrólise e no conteúdo protéico de hidrolisados enzimáticos de corvina (*Micropogonias furnieri*). *B.CEPPA, Curitiba* (26), N° 1 : 61-70 p.
22. SHAHIDI F, HANG XQ, SYNOWIECKI J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry* (53):285-293 p.
23. WASSWA J, TANG J, GU X, YUAN X. 2007. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry* (104): 1698-1704 p.
24. WASSWA J, TANG J, GU X. 2008. Functional properties of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), nile perch (*Lates niloticus*) and nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin hydrolysates. *International Journal of Food Properties*. 11: 339-350 p.
25. UCHIYAMA H, EHIRA S, KOBAYASHI H, SHIMIZU W. 1970. Significance in measuring volatile bases and trimetilamine nitrogen and nucleotides in fish muscle as indices of freshness of fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 36(2): 177-187 p.