



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD EN LAS PROTEÍNAS  
OBTENIDAS A PARTIR DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*) MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. ANADINE ZENAIDA MAMANI CATACTORA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

**EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD EN  
LAS PROTEÍNAS OBTENIDAS A PARTIR  
DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS**

AUTOR

**ANADINE ZENAIDA MAMANI CATACOR  
A**

RECUENTO DE PALABRAS

**25744 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**138223 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**133 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**3.1MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 2, 2024 12:21 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**May 2, 2024 12:23 PM GMT-5**

● **15% de similitud general**

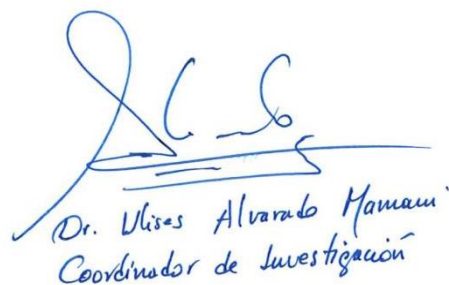
El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 15% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 3% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)

  
Cesar Paul Laqui Vilca  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL  
Reg. CIP 87710

  
Dr. Ulises Alvarado Mamani  
Coordinador de Investigación

Resumen



## DEDICATORIA

### ***A DIOS,***

*Por haber permitido llegar a este punto, por haberme dado salud, sabiduría y el valor necesario para cumplir lo que me propongo, además de su infinita bondad y amor.*

### ***A MI FAMILIA***

*Por haberme educado y soportado mis errores, son mi inspiración para poder superarme cada día, a mis queridos padres Justo y Victoria a quien les debo toda la vida, muchas gracias por sus consejos, por el amor, la comprensión, la paciencia y el apoyo que siempre me han brindado para mi vida diaria, mostrándome el camino a la superación y para culminar una de mis metas.*

*A mis hermanos y a mi tía porque siempre he contado con ellos para todo y de ellos aprendí aciertos y de momentos difíciles.*

***Anadine Zenaida***



## AGRADECIMIENTO

*A Dios por ser mi fortaleza, por haberme guiado a lo largo de este camino y brindarme una vida llena de aprendizaje.*

*A nuestra primera casa de estudios la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Agrarias y a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por haber brindado sus valiosas enseñanzas durante los años de mi formación profesional.*

*A mi Asesor de tesis Ing. M.Sc. Cesar Paul Laqui Vilca, por su apoyo incondicional, por su disposición de tiempo, asesoramiento para llevar a cabo el trabajo de investigación actual.*

*A los distinguidos miembros del jurado D. Sc. Luis Alberto Jiménez Monroy, M. Sc. Pablo Pari Huarcaya y Dr. José David Velezvia Díaz; por sus orientaciones al camino de la superación, por sus valiosos conocimientos, apoyo, sugerencias precisas y correcciones en el trabajo de investigación.*

*A los laboratoristas Tec. Pablo Condori de la Escuela Profesional De Ingeniería Agroindustrial, Tec. Herbert Darwin Flores Rodríguez de la Escuela Profesional De Nutrición Humana y al Lic. Balbino Lorgio Palacios Frisancho de la Facultad De Medicina Humana por brindarme su apoyo para la ejecución de este trabajo de investigación.*

*A mi novio, amigas, amigos y a otras personas que me motivaron a comenzar y completar esta investigación, les agradezco mucho y siempre los tendré presente.*

**Anadine Zenaida**



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE FOTOGRÁFICO**

**ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 18**

**ABSTRACT..... 19**

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1. OBJETIVO GENERAL ..... 22**

**1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 22**

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1. ANTECEDENTES..... 23**

**2.2. LA TRUCHA..... 25**

2.2.1. Composición química y nutricional..... 26

2.2.2. Descripción taxonómica ..... 27

2.2.3. Producción de la trucha arco iris ..... 27

**2.3. PROCESAMIENTO DE TRUCHA ARCO IRIS..... 29**

**2.4. RESIDUOS DE LA TRUCHA..... 30**

2.4.1. Definición ..... 30

2.4.2. Residuos del procesamiento de trucha..... 30



2.4.3. Rendimiento de los subproductos de trucha .....	32
2.4.4. Composición físico química de los subproductos de trucha.....	33
2.4.4.1 Vísceras .....	34
2.4.4.2 Colas y aletas.....	35
2.4.4.3 Cabezas y espinas.....	35
<b>2.5. HIDRÓLISIS.....</b>	<b>36</b>
2.5.1. Hidrólisis proteica de subproductos acuícolas.....	36
2.5.2. Tipos de hidrólisis.....	37
2.5.3. Hidrólisis enzimática de proteínas .....	40
2.5.4. Las propiedades funcionales y nutricionales de los hidrolizados.....	43
2.6.4.1 Propiedades nutricionales de los hidrolizados de residuos de pescado .....	45
2.5.5. Calidad de proteínas obtenidas de residuos de pescado .....	46
<b>2.6 DIGESTIBILIDAD.....</b>	<b>48</b>
2.6.1. Aspectos generales.....	48
2.6.2. Factores que influyen en la digestibilidad .....	50
2.6.3 Digestibilidad <i>in vitro</i> .....	52
2.6.3.1 Estudios de digestibilidad <i>in vitro</i> .....	55
<b>2.7. SUSTRATOS.....</b>	<b>57</b>
<b>2.8. ENZIMAS.....</b>	<b>58</b>
2.8.1 Enzimas endógenas.....	59
2.8.2 Enzimas exógenas.....	59
2.8.2.1 Corolasa 8000.....	63
<b>2.9. HISTAMINA .....</b>	<b>63</b>
2.9.1. Toxicidad de la histamina .....	64



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

<b>3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN .....</b>	<b>66</b>
<b>3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL.....</b>	<b>66</b>
3.2.1. Materia prima.....	66
3.2.2. Materiales .....	67
3.2.2. Equipos .....	68
3.3.2. Reactivos.....	68
<b>3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>69</b>
3.3.1. Elaboración del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.....	69
3.3.2. Diagrama de flujo experimental del hidrolizado enzimático.....	70
3.3.2. Descripción del proceso.....	71
<b>3.4. FACTOR DE ESTUDIO .....</b>	<b>73</b>
3.4.1 Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). .....	73
3.4.2. Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad <i>in vitro</i> de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). .....	73
<b>3.5. VARIABLE DE RESPUESTA .....</b>	<b>74</b>
3.5.1. Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). .....	74
3.5.2 Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad <i>in vitro</i> de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). .....	74
<b>3.6. MÉTODO DE ANÁLISIS.....</b>	<b>74</b>



3.6.1. Formulación de tratamientos .....	74
3.6.2. Determinación del pH.....	75
3.6.3. Determinación de análisis proximal .....	75
3.6.3.1 Determinación de proteínas.....	76
3.6.3.2 Determinación de Grasa .....	77
3.6.3.3 Determinación de ceniza. ....	77
3.6.3.4 Determinación de Humedad.....	78
3.6.4. Determinación de histamina .....	79
3.6.5. Determinación de la digestibilidad de la hidrólisis enzimática. ....	79
3.6.5.1 Método Torry Modificado.....	79
<b>3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>81</b>
3.7.1. Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). ....	81
3.7.2. Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad <i>in vitro</i> de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). ....	83
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
<b>4.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS VÍSCERAS DE TRUCHA ARCOÍRIS</b>	
<b>(<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Y SUS HIDROLIZADOS ENZIMÁTICOS.....</b>	<b>84</b>
4.2.1 Determinación de la proteína.....	85
4.2.2 Determinación de la grasa.....	86
4.2.3 Determinación de la ceniza.....	87
4.2.4 Determinación de la Humedad .....	89
<b>4.4. HISTAMINA.....</b>	<b>90</b>





<b>4.5. DIGESTIBILIDAD.....</b>	<b>94</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>100</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>101</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXOS</b>	

**ÁREA:** Ingeniería y Tecnología

**TEMA:** Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 03 de mayo del 2024



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química y nutricional.....	26
Tabla 2. Composición física y rendimiento de la trucha .....	32
Tabla 3. Composición proximal de subproductos de diversas especies acuícolas .....	34
Tabla 4. Comparación de algunos métodos para determinar la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas .....	54
Tabla 5. Características de las proteasas comerciales.....	62
Tabla 6. Formulaciones de los tratamientos ejecutados .....	75
Tabla 7. Diseño experimental de la presente investigación.....	82
Tabla 8. Resultados promedios y desviación estándar del análisis proximal de la víscera de trucha y el hidrolizado enzimático.....	84
Tabla 9. Resumen de promedios de las características de hidrolizados de vísceras de trucha .....	114
Tabla 10. Resultado de la evaluación del pH del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.....	115
Tabla 11. Resultados del análisis proximal (proteína, grasa, humedad) de los 6 tratamientos del hidrolizado enzimática y el testigo de vísceras de trucha. .....	116
Tabla 12. ANVA para las proteínas del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha. .....	116
Tabla 13. Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la proteína.....	117
Tabla 14. ANVA para la grasa del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris .....	117



Tabla 15. Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la grasa .....	118
Tabla 16. ANVA para las cenizas del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.....	118
Tabla 17. Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para las cenizas.....	119
Tabla 18. ANVA para la humedad del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.....	119
Tabla 19. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la humedad. ....	120
Tabla 20. Resultados del análisis de varianza (ANVA) de la histamina del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris .....	121
Tabla 21. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la histamina en función a la dosis de enzima.....	121
Tabla 22. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la histamina en función al tiempo de hidrolizado .....	122
Tabla 23. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la interacción de tiempo vs tiempo en función a la histamina.....	122
Tabla 24. Resultados del análisis de varianza (ANVA) de digestibilidad del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.....	123



Tabla 25. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la digestibilidad en función a la dosis de enzima. ....	123
Tabla 26. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la digestibilidad en función al tiempo de hidrolizado .....	123
Tabla 27. Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% de intervalo de confianza y una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la interacción de tiempo vs tiempo en función a la histamina .....	124



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. La trucha arco iris y su coloración característica .....	26
Figura 2. Perú: Extracción de recursos hidrobiológicos de origen continental según región, 2021 .....	28
Figura 3. Venta interna de recursos hidrobiológicos procedentes de la acuicultura.....	29
Figura 4. Partes de los residuos de trucha.....	31
Figura 5. Hidrólisis enzimática de un enlace peptídico .....	40
Figura 6. Esquema general del aprovechamiento de residuos de pescado para obtención de hidrolizados enzimáticos .....	43
Figura 7. Clasificación de proteasas según el enlace que cortan .....	61
Figura 8. Proceso de extracción de grasa de las vísceras de trucha arco iris.....	70
Figura 9. Diagrama de flujo del experimento: Hidrolizado de vísceras de trucha arco iris. .....	71
Figura 10. Determinación de la proteína de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos .....	85
Figura 11. Determinación de la grasa de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos .....	86
Figura 12. Determinación de la ceniza de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos .....	88
Figura 13. Determinación de la humedad de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos .....	89
Figura 14. Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función de la dosis de enzima.....	90
Figura 15. Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función del tiempo de hidrolizado .....	91



Figura 16. Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función de la interacción .....	92
Figura 17. Comparación del testigo (T7) vs tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6) .....	92
Figura 18. Prueba de significancia de Tukey para las diferentes dosis de enzima .....	95
Figura 19. Prueba de significancia de Tukey para el tiempo del hidrolizado.....	95
Figura 20. Prueba de significancia de Tukey para la digestibilidad en función de la interacción .....	96
Figura 21. Comparación del testigo (T7) vs tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6). .....	97



## ÍNDICE FOTOGRÁFICO

Fotografía 1. Materia prima de 1kg en pretratamiento .....	127
Fotografía 2. Proceso de hidrolizado. ....	127
Fotografía 3. Separación de grasa.....	127
Fotografía 5. Control de pH y temperatura.....	128
Fotografía 4. Proceso de secado de hidrolizado .....	128
Fotografía 6.Tratamientos (T1, T2, T3) respecto a los hidrolizados enzimáticos .....	128
Fotografía 7. Tratamiento (T4, T5, T6) respecto a los hidrolizados enzimáticos.....	129
Fotografía 8. Determinación de la grasa del hidrolizado enzimático. ....	129
Fotografía 9. Muestras para la determinación de grasa y proteína. ....	129
Fotografía 10. Determinación de cenizas del hidrolizado .....	130
Fotografía 11. Determinación de la Proteína del hidrolizado.....	130
Fotografía 12. Determinación de ceniza .....	130
Fotografía 13. Los 21 tratamientos para la determinación de digestibilidad <i>in vitro</i> ...	130
Fotografía 14. Determinación de la histamina para el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris mediante ELISA .....	131
Fotografía 15. Muestras para la determinación de histamina y la digestibilidad <i>in vitro</i> del hidrolizado enzimático de vísceras de trucha arco iris. ....	131



## ACRÓNIMOS

<b>T</b>	: Tratamientos
<b>R</b>	: Repetición
<b>M</b>	: Muestra
<b>%</b>	: Porcentaje
<b>gr</b>	: Gramos
<b>mg</b>	: Miligramos
<b>°C</b>	: Grados Celsius
<b>Kg</b>	: Kilogramo
<b>Min</b>	: Minutos
<b>h</b>	: Hora
<b>mL</b>	: Mililitros
<b>ANVA</b>	: Análisis de Varianza
<b>pH</b>	: Potencial de hidrogeniones
<b>lt</b>	: Litros
<b>mg</b>	: Microgramos
<b>mm</b>	: Milímetros
<b>M</b>	: Mol
<b>NaOH</b>	: Hidróxido de sodio
<b>TM</b>	: Tonelada métrica
<b>GH</b>	: Grado de Hidrólisis
<b>DCA</b>	: Diseño completamente al azar
<b>FDA</b>	: Food Drug Administration
<b>(p/v)</b>	: Peso/Volumen
<b>EPA</b>	: Ácidos principalmente eicosapentaenoicos





<b>DHA</b>	: Ácidos Docosahexaenoicos
<b>aa</b>	: Aminoácidos
<b>FPH</b>	: Hidrolizado de proteínas de pescado



## RESUMEN

Se considera realizar esta investigación, con el objetivo general de evaluar la digestibilidad de las proteínas obtenidas a partir de residuos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante hidrólisis enzimática en el departamento de Puno a una altitud de 3827 msnm, con los objetivos específicos siguientes: a. Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrolizado para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), b. Medir la digestibilidad *in vitro* de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Respecto al análisis estadístico, para el primer objetivo se utilizó el diseño completamente al azar con arreglo factorial  $a \times b + 1$ , que correspondió a 6 tratamientos más un testigo y 3 réplicas por cada tratamiento, para la comparación de medias se aplicó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos y para el segundo objetivo se aplicó el análisis de varianza y la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error para determinar si existe diferencia significativa. Los resultados obtenidos fueron: a. La dosis óptima respecto a enzima y tiempo de hidrolizado fue obtenida en el tratamiento 6 con 0.55% de Corolase 8000 y tiempo de 190 min, no obstante, considerando la relevancia, el tratamiento 1 con 0.25% de Corolase 8000 y tiempo de 130 min influye significativamente sobre la histamina, b. Respecto a la digestibilidad *in vitro* del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris dio como mejor resultado el tratamiento 6 con 0.55% de Corolase 8000 y tiempo de 190 min, obteniendo un sobresaliente 95.16% de digestibilidad.

**Palabras clave:** Digestibilidad *in vitro*, enzima, hidrólisis, histamina, víscera de trucha.



## ABSTRACT

This research is considered to be carried out, with the general objective of evaluating the digestibility of proteins obtained from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) waste through enzymatic hydrolysis in the department of Puno at an altitude of 3827 meters above sea level, with specific objectives: a. Determine the optimal dose of enzyme and hydrolysis time for the digestibility of proteins obtained from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera, b. Measure the *in vitro* digestibility of hydrolysates from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera. Regarding the statistical analysis, for the first objective, the completely randomized design with  $axb+1$  factorial arrangement was used, which corresponded to 6 treatments plus a control and 3 replications for each treatment. For the comparison of means, the Tukey test was applied to the 5% probability of error to determine if there is a significant difference between the treatments and for the second objective, the analysis of variance and Tukey's test were applied at 5% probability of error to determine if there is a significant difference. The results obtained were: a. The optimal dose with respect to enzyme and hydrolyzate time was obtained in treatment 6 with 0.55% of Corolase 8000 and a time of 190 min. However, considering the relevance, treatment 1 with 0.25% of Corolase 8000 and a time of 130 min influences significantly on histamine, b. Regarding the *in vitro* digestibility of the hydrolyzate of rainbow trout viscera, the best result was treatment 6 with 0.55% of Corolase 8000 and a time of 190 min, obtaining an outstanding 95.16% of digestibility.

Keywords: *In vitro* digestibility, enzyme, hydrolysis, histamine, trout viscera.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En el Perú, el cultivo de la trucha (*Oncorhynchus mikiss*) es importante en el desarrollo económico y social del país, siendo principalmente extraída en los departamentos de Huancavelica, Junín y Puno. En 2021 se comercializó 39, 360 TM como fresco, en ese mismo año la trucha representó el 76, 4% en la venta de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad acuícola (PRODUCE, 2021) por consecuencia se genera el mal manejo de los desechos orgánicos, que incluyen vísceras, piel, cola, cabeza, espinazos y desechos de desembarcaderos pesqueros artesanales. (FAO, 2014) estima que se elaboran 70 millones de TM de pescado fileteado, congelado, enlatado o curado a nivel mundial.

La región Puno se caracteriza básicamente por ser una zona potencial de actividad acuícola, generalmente por la truchicultura con una producción actual que bordea las 44,845 Tm/año (Ramírez *et al.*, 2018), que a su vez genera derivados de este producto bandera, como son los filetes, conservas, entre otros más. Esta producción genera enormes cantidades de subproductos ricos en proteínas, como la víscera, cabezas, aletas, huevas, espinas, pieles etc. Sin embargo, solo el 40% de la producción de la industria de procesamiento de pescado se destina al consumo humano directo, mientras que el 60% se destina a residuos. Estos subproductos presentan compuestos con importantes propiedades nutricionales, funcionales y bioactivos (Dekkers *et al.*, 2011).

El hidrolizado enzimático de proteínas hasta péptidos o aminoácidos por acción de enzimas proteolíticas se utilizan ampliamente en la tecnología alimentaria por sus propiedades nutricionales o funcionales como la solubilidad, el poder emulsificante y la capacidad espumante (Benítez *et al.*, 2008). Los hidrolizados de proteína de subproductos



acuícolas, poseen un excelente equilibrio en aminoácidos, buena digestibilidad y rápida absorción, presentan ciertas propiedades tecno-funcionales (He *et al.*, 2013). Sin embargo, la mala gestión de los desechos de la trucha conduce a la formación de aminas biogénicas, que son compuestos nitrogenados no proteicos, los alimentos con altas concentraciones de aminas biogénicas tienen un impacto en la facilidad de digestión del alimento, por eso es necesario darle un valor agregado para su correcto aprovechamiento de los beneficios como las proteínas presentes, para así utilizarse como un sustituto de harina de pescado para la alimentación animal (Benítez *et al.*, 2008).

Conocer los parámetros adecuados de hidrólisis enzimática en los residuos de trucha permitirá la adecuada obtención de hidrolizado ya que estas se utilizan como suplementos alimenticios y como ingredientes funcionales, además ayudan en términos económicos y ambientales, ya que los productos que se extraen son beneficiosos para la alimentación animal, como harinas, aceites, productos farmacéuticos y abonos. Sin embargo, la calidad nutricional de las proteínas y los aminoácidos se ven afectadas por los primeros procesos de hidrólisis química y extracción con solventes orgánicos. Para lograr procesos de hidrólisis más controlados, se han venido aplicando cada vez más enzimas comerciales para la obtención de hidrolizados proteicos a partir de residuos de pescado (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Esta investigación sugiere realizar tratamientos de hidrólisis a los residuos obtenidos a partir del procesamiento de truchas para evaluar la digestibilidad de la proteína hidrolizada.



## 1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la digestibilidad de las proteínas obtenidas a partir de residuos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante hidrólisis enzimática.

## 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).
- Medir la digestibilidad *in vitro* de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

Valerio *et al.*, (2023) maximizó el impacto de la temperatura, el tiempo y la dosis de enzimas en el grado de hidrólisis y como el nivel de amargor de los hidrolizados de anchoveta (*Engraulis ringens*). Usando el método de superficie de respuesta, una anchoveta sin cabeza, piel, cola o vísceras fue sometida a dos etapas de hidrólisis enzimática. Primero, se examinó la enzima Corolase 8000. El proceso fue optimizado con (60.1°C, 93.4 min y 1.68% de enzima), lo que permitió el grado de hidrólisis más alto hasta el 12.8%. Después, se utilizó la enzima Corolase 7089, que aumentó el grado de hidrólisis (14,8%) y redujo la cantidad de amargor (3,8) al funcionar a 49,1°C durante 54,3 minutos y con 0,472% de enzima.

Roldán A. *et al.*, (2021) elaboró utilizando una anchoveta sin cabeza para realizar un hidrolizado de proteína en polvo y evaluar sus características físico-químicas, sensoriales y microbiológicas. Se evaluaron siete proteasas comerciales durante el proceso de hidrólisis. Protex 6L y Protamex con Flavourzyme 1000L fueron las proteasas comerciales con el GH% más alto sobre las proteínas de anchoveta. A las dos horas de proceso, las dosis de Protamex 0,2% y Flavourzyme 1000L de 0,4% alcanzaron los mayores valores de pH referencia (11,50) y grado de hidrólisis (39,0%) en relación al peso de la materia prima.

Vasquez Mazo, (2020) realizó una investigación *in vitro* de las condiciones ideales (pH y temperatura) que maximizan la actividad proteolítica de Alcalasa 2,4L en la hidrólisis de vísceras de trucha arco iris. A un pH de 8,5 y 60 °C, se descubrió que las



condiciones de operación ideales maximizan el grado de hidrólisis. Después de 6 horas de hidrólisis, los niveles de hidrólisis eran 5,45% (m/v), 0,72 UA/g.

Zapata *et al.*, (2019) comparó el grado de hidrólisis de vísceras de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). En cuanto Alcalasa 2.4L presentó GH más altos por cual se optimizó en función de temperatura y pH, lo que resultó en un GH máximo del 24% a pH 8,5 y 45°C. Los resultados indican que el modelo se realizó satisfactoriamente el grado de hidrólisis en los niveles examinados ( $R^2 = 0,96$ ). El grado de hidrólisis está influenciado por varios factores, incluido el pH, la temperatura, el tipo de enzima, la velocidad de agitación, la escala de trabajo y la presencia de desventaja en el reactor. La hidrólisis enzimática de un sustrato específico requiere esta información.

Lavid, (2019) evaluó la digestibilidad de los residuos de la pesca, sometidos a un procesos de hidrólisis enzimática empleado una proteasa comercial. La digestibilidad *in vitro*, dando como resultado de 50ppm enzima y 180 min con mayor grado de digestibilidad. Se evidencio sobre la histamina que 20 ppm enzima y 120 min el de mejor comportamiento. Por lo tanto, los restos de pescado deben hidrolizarse con una dosis de enzima de 50 ppm por un tiempo de 180 minutos.

Osorio & Llerena, (2018) el hidrolizado producido es una buena fuente de proteína y aminoácidos, aportando específicamente aminoácidos esenciales como la lisina y leucina por lo que este tipo de productos, representan una alternativa más sustentable que la producción de harina de pescado.

Flores Jalixto, (2017) utilizó subproductos de trucha para crear un biofertilizante líquido y describo el producto obtenido física y químicamente. La proteasa se utilizó para realizar la hidrólisis enzimática. Se registraron niveles de nitrógeno de 12057 mg/L, 953





mg/L y 4230 mg/L, respectivamente. La cantidad total de proteínas y aminoácidos fue de 6,2 g/100 g y 3,8 g/100 g, respectivamente.

Shahidi & Ambigaipalan, (2015) estos procesos han mostrado ventajas que se relacionan con las características generales de las enzimas utilizadas, tales como mayor selectividad de sustratos, realización de procesos en condiciones térmicas menos drásticas y fácilmente controlables, lo que minimiza el desarrollo de reacciones secundarias alterantes manteniendo, por lo tanto, el valor nutricional del producto. Así, se han empleado en la hidrólisis de subproductos de enzimas de pescado como Flavourzyme, pronasa, Neutrasa, protamex, pancreatina, pepsina, papaína y termolisina.

Ovissipour *et al.*, (2012) estudiaron la hidrólisis química y enzimática de vísceras de esturión persa (*Acipenser persicus*), encontrando que los hidrolizados enzimáticos proporcionan mayor extracción de proteína en comparación con los hidrolizados químicos.

Taylor *et al.*, (2010) la hidrólisis enzimática es uno de los métodos más populares para extraer subproductos acuícolas porque ofrece una variedad de ventajas, incluidas condiciones de reacción más suaves y una alta especificidad de enzima por el sustrato. Además, produce hidrolizados sin dejar restos de disolventes orgánicos o productos químicos tóxicos.

## **2.2. LA TRUCHA**

La Trucha arco iris cuyo nombre científico es *Oncorhynchus mykiss* esta especie es muy valorada tanto comercialmente como para la crianza en acuicultura en la región sur del Perú. Fue importada de los Estados Unidos hace más de 75 años y se ha adaptado su hábitat en nuestras aguas. Es una especie epipelágica que vive en aguas frías, ríos y

lagos. Su cuerpo es alargado, comprimido, engrosado en el centro y tiene una cabeza y cola cubiertas con escamas.

El nombre de trucha arco iris denominada por la peculiar coloración que posee como se muestra en la Figura 1, por lo que es oscura en el dorso, verde azulada y blanca que posee en el vientre. Sus vetas son negras y la franja de sus flancos es naranja o rojiza (Martínez, 2017).

### Figura 1

*La trucha arco iris y su coloración característica.*



#### 2.1.1. Composición química y nutricional

**Tabla 1**

*Composición química y nutricional*

Componentes	Promedio%
Humedad	75.8
Grasa	3.1
Proteína	19.5
Minerales	1.2
calorías	105

**Fuente:** (Macebo, 2015).



### 2.2.2. Descripción taxonómica

La clasificación taxonómica de la trucha se muestra según: (Behnke, 1992).

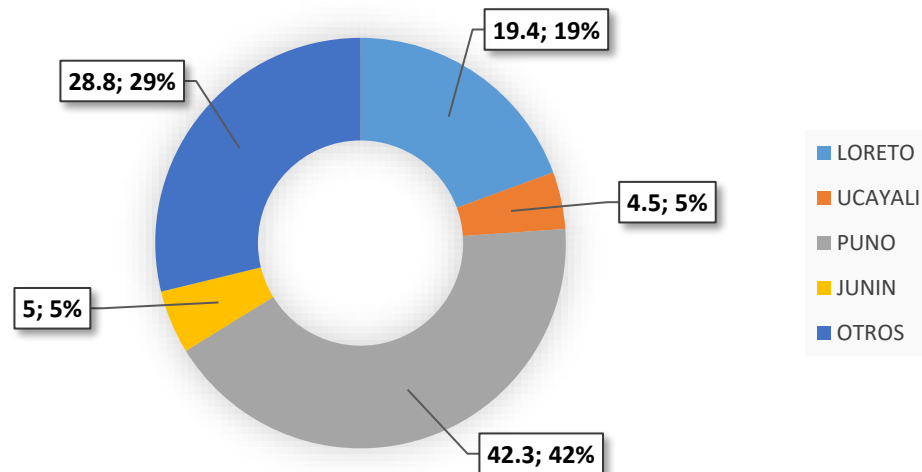
Reino : Animal  
Filo : Chordata  
Subfilo: Vertebrada  
Clase : Actinopterygii  
Orden : Falconiformes  
Familia: Salmónid  
Género: Salmo, *oncorhynchus*, *Salvelinus*  
Especie: Mykiss  
N. científico: *Oncorhynchus mykiss*  
N. común: Trucha, Trucha arco iris, Trucha arcoíris

### 2.2.3. Producción de la trucha arco iris

En el Perú la producción de trucha en los últimos años ha crecido significativamente, pasando de 40 946,49 TM en el año 2014 a 51 580, 59 TM en el 2021 informo la oficina de Estudios Económicos del Ministerio de la Producción. Por lo que esta especie dulceacuícola es la más importante, cultivada especialmente en las zonas alto andinas que debido a sus recursos hídricos de óptimas condiciones han favorecido dicho crecimiento (FAO, 2018). Según el ministerio, la zona de Puno es el principal productor del Perú.

**Figura 2**

*Perú: Extracción de recursos hidrobiológicos de origen continental según región, 2021*



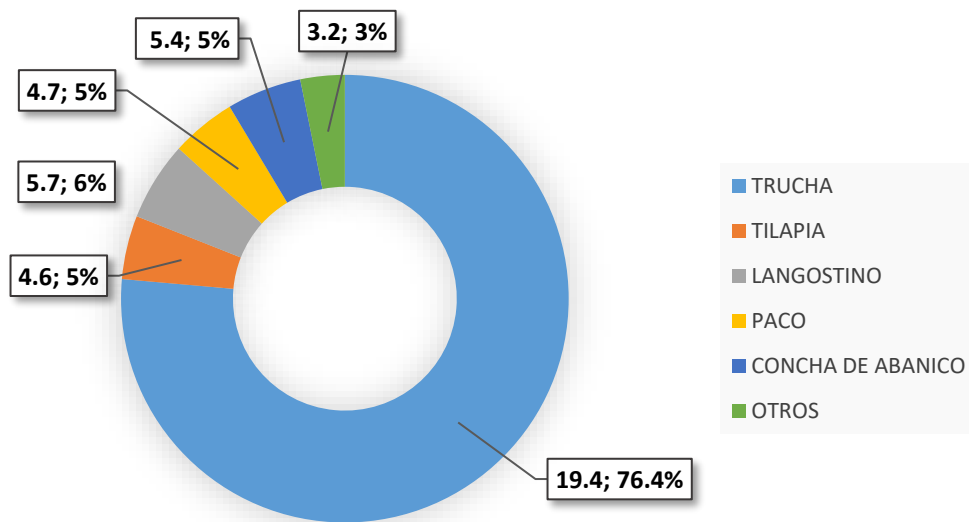
Fuente: (PRODUCE, 2021).

En el año 2021, se produjeron 51 580, 59 TM de los cuales se vendieron al consumo interno, 39 360 TM al mercado externo, con Alemania, Portugal y Canadá como países de destino principales. El cultivo de la trucha se realizó mediante la importación de ovas embrionadas por los países de EE UU., Dinamarca, Inglaterra y Chile con un total de 225 315 millares en el 2016 (PRODUCE, 2016). La cosecha y posterior comercialización de la trucha se realiza a partir de los 25 cm de talla y entre 250 a 350 g de peso unitario (FONDEPES, 2014).

La venta interna de los recursos hidrobiológicos de la acuicultura se muestra en la Figura 2, la venta interna de trucha de 39 360 TM en 2021 representó el 76,4% de los recursos hidrobiológicos vendidos internamente. Además, su extracción fue llevada a cabo principalmente por los departamentos de Puno con 32 704 TM, Pasco con 5 751 TM Y Huancavelica 5 164 TM (PRODUCE, 2021).

**Figura 3**

*Venta interna de recursos hidrobiológicos procedentes de la acuicultura.*



Fuente: PRODUCE 2021.

### 2.3. PROCESAMIENTO DE TRUCHA ARCO IRIS

La región Puno es, según el ministerio, el mayor productor en el Perú por lo que en el 2014 producía 27 183 TM, pero en el 2021 incremento a 32 704 TM (PRODUCE, 2021) lo cual la consolida como líder en la actividad acuícola del país, debido a las mejores condiciones para el cultivo, menores costos y el incremento de la demanda en la región.

La trucha tiene diferentes formas de presentación para ser comercializada que generan subproductos. Según (Fuentealba 2004 mencionado por Flores Jalixto, 2017) los productos más identificados en base a trucha arco iris son:

- Trucha eviscerada, trucha congelada, filetes empacados al vacío interfoliados en cajas.
- Trucha fresca entera refrigerada, trucha eviscerada deshuesada y corte mariposa.



- Trucha ahumada, filete ahumado en caliente o filete ahumado en frío.

El aceite y las harinas son subproductos de los desechos de la trucha, y se está estudiando el aprovechamiento como una alternativa de sus proteínas a partir del hidrolizado enzimático reemplazando la harina de pescado como suplemento para alimentación animal.

## **2.4. RESIDUOS DE LA TRUCHA**

### **2.4.1. Definición**

Los subproductos del pescado son aquellos productos de las materias primas que, por razón de especie, tamaño, calidad o disponibilidad de procesos de elaboración, no resultan adecuados para el consumo directo por el hombre definido por (Windsor & Barlow, 1984).

También denominados residuos y los coproductos del pescado son las partes que se extraen del pescado antes de que llegue al consumidor final para aumentar la calidad, reducir el peso de embarque para su transporte o aumentar el valor del producto principal del pescado, el músculo. Se le llama coproductos a la sangre, vísceras, cabeza, espinas, piel, aletas y cola del pescado (Ramírez, 2007a, mencionado por Cavieres, 2010).

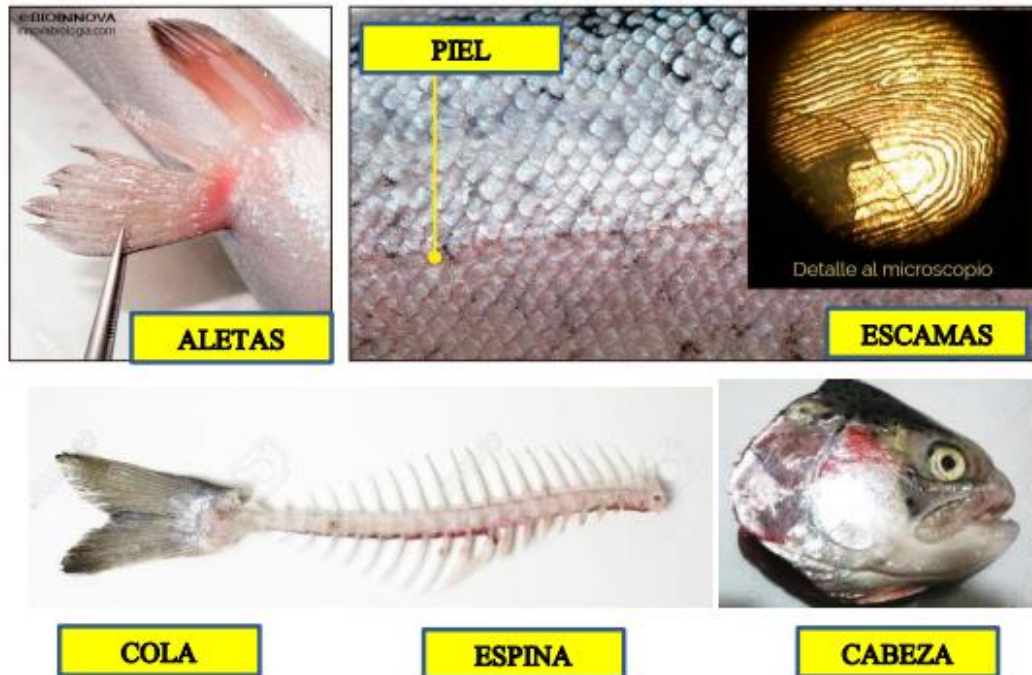
### **2.4.2. Residuos del procesamiento de trucha**

El procesamiento de la trucha requiere la remoción de los sub productos que están conformados por aquellas partes del pez que no paseen un valor comercial, estos son: piel, escamas, huesos, vísceras, aletas y agallas, estos procesos generan aproximadamente 15, 000 TM de residuos orgánicos al año, por

lo que no reciben un proceso en su totalidad al final de la producción (PRODUCE, 2017).

#### Figura 4

##### *Partes de los residuos de trucha*



Fuente: (Quispe & Gutierrez, 2019).

La trucha produce solamente alrededor del 50% de materiales comestible en forma de filetes. El esqueleto, la cabeza, las vísceras, las escamas, las aletas y otros desechos tienen una cantidad de proteína similar a la del filete y rara vez se aprovechan (Windsor & Barlow, 1984).

Según Martines, (2003) las especies como las salmónidas experimentan una pérdida en peso del 28% en los productos congelados, del 38% en la conservación en trozos (incluyendo esqueleto y piel) y del 60% en la conservación de pescado desmenuzado. Las disminuciones en porcentaje se deben a los

desechos primarios producidos en estas industrias, los cuales están compuestos en un 60% por desechos sólidos y el 40% restante por aguas residuales.

### 2.4.3. Rendimiento de los subproductos de trucha

El rendimiento de los subproductos de trucha está conformado por: vísceras (8%), Cabeza (12%), esquelón (3,1%) y piel (1,2%) (Cavieres, 2010).

El fileteo mecánico de 100 kg de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) tiene rendimientos de 40 kg de filetes y 60 kg de subproductos, los cuales están constituidos aproximadamente de 20 kg de carne y un poco de aceite de pescado (Torres *et al.*, 2006).

**Tabla 2**

*Composición física y rendimiento de la trucha*

COMPOSICIÓN FÍSICA	RENDIMIENTO (%)	
	EVISGERADO	FILETEADO
Cabeza	-	9,2
Agallas	2,6	2,6
Vísceras	6,9	6,9
Hígado	3,4	3,4
Gónadas	0,4	0,4
Espinazo y Cola	-	6,2
Aletas	-	2,2
Orejetas	-	2,3
Sangre y otros	2,2	2,2
Parte comestible	84,5	64,6

Fuente: (Vilca, 1999 mencionado por Flores Jalixto, 2017).





#### 2.4.4. Composición físico química de los subproductos de trucha

La composición química de la cabeza, la espina y la cola de la trucha es similar: El 70% es humedad, el 15% es proteína y el 11% es grasa. Los intestinos contienen un alto contenido lipídico correspondiente a un 35%, un bajo contenido de humedad cerca de 56% y un contenido de proteína cerca del 8% (Kotzamanis *et al.*, 2001).

Los ácidos grasos omega-3 tienen como propiedades antiinflamatorias y antitrombóticas, como también son capaces de disminuir los factores de riesgo de algunas enfermedades como cardiovasculares y diabetes (Casas *et al.*, 2014 mencionado por Lavid, 2019).

Los residuos de pescado no solo contienen ácidos grasos de alto valor nutricional, sino que también presentan un porcentaje significativo de proteínas. Desde el punto de vista nutricional la característica más importante de las proteínas del pescado es que contienen todos los aminoácidos esenciales para la vida, la misma manera que las proteínas de la leche, la carne y el huevo son de un elevadísimo valor biológico y tienen la característica de poseer una buena digestibilidad (Traverso & Avdalov, 2014 mencionado por Lavid, 2019). Sin embargo, lo más importante es conocer la composición de aminoácidos de la proteína para hidrolizar, ya que de esta dependerá mucho en qué medida y con qué facilidad puede ser hidrolizada la proteína por cierta proteasa; como es el caso de las sutilísimas, las cuales tienen una amplia especificidad, pero con preferencia por los aminoácidos hidrofóbicos (exceptuando la prolina), por lo tanto, es de esperar que las proteínas con un alto contenido de aminoácidos hidrofóbicos se

hidrolízen más fácilmente con este tipo de enzimas (Adler-Nissen, 1986 mencionado por Vasquez Mazo, 2020).

**Tabla 3**

*Composición proximal de subproductos de diversas especies acuícolas*

<b>Especie</b>	<b>Subproductos</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Humeda d (%)</b>	<b>Ceniza (%)</b>
Catla (Catla catla)	Vísceras	8,5	12,5	76,2	2,5
Trucha Arcoiris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Músculo	20,3	6,2	71,2	1,9
Trucha Arcoiris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Vísceras	15	13	71,7	2,7
Tilapia roja ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Cabeza, esqueleto y cola	14,6	5,5	66,6	8,9
Tilapia roja ( <i>Oreochromis nilotica</i> )	Esqueleto	50,6	30,6	65,3	15,3
Salmon del Atlántico ( <i>Salmo salar</i> )	Vísceras	8	44	60	1
Esturión chino ( <i>Acipenser sinensis</i> )	Músculo	15,2	3,2	74,9	1,0

Fuente: (Vasquez Mazo, 2020).

#### 2.4.4.1 Vísceras

Durante el proceso de trucha, las vísceras se extraen para prevenir su descomposición, finalmente siendo desechadas o puestas en fuentes hídricas. El



5% al 11% del peso corporal del pescado de agua dulce está compuesto por vísceras. Su composición química promedio de las vísceras de trucha es de 67% agua, 10% proteína, y 3% minerales (Bermudez *et al.*, 1999). Otros subproductos como las agallas, las escamas y los huesos no se convierten en un problema directo debido a que estos residuos acompañan al pescado hasta que éste es comercializado (Martines, 2003).

Las vísceras son uno de los subproductos que contienen estos nutrientes valiosos. Estas incluyen un conjunto de órganos, entre los que están intestinos, hígado, vejiga natatoria, estómago y gónadas, que comprenden aproximadamente entre el 12 al 20% del peso total del pescado (Bougatef, 2013). Se estima que actualmente más de 20 millones de toneladas de vísceras de pescado se producen a nivel mundial por año, sin embargo, la mayoría de las veces son descartadas, ocasionando problemas ambientales, o son subutilizadas para elaborar productos de bajo valor comercial, como alimentos para animales o fertilizantes (Arvanitoyannis, 2014).

#### **2.4.4.2 Colas y aletas**

Con respecto a la obtención de pegamentos y gelatinas a partir del pescado se realiza por el tratamiento de tejidos conjuntivos y pieles, es decir, de aquellas estructuras en cuya composición interviene la sustancia colágena (Álvarez, 2008, mencionado por Churacutipa Mamani, 2016).

#### **2.4.4.3 Cabezas y espinas**

La abundancia de calcio mineral se acumula inicialmente en los esqueletos o espinas de los peces, cuyo contenido varía según la especie. El contenido medio de calcio de los mariscos y pescados es del 30%. Las cabezas y los desechos de



camarón permiten fabricar una harina que contiene el 30% de proteínas, esto representa el 30% del peso vivo del animal (Maroto, 2010, mencionado por Churacutipa Mamani, 2016).

## **2.5. HIDRÓLISIS**

La propiedad fundamental de un hidrolizado, el grado de hidrólisis, determina sus demás características y su posible uso. Se define como el porcentaje de enlaces peptídicos rotos en relación a la proteína original (Benítez *et al.*, 2008). Sigue demostrando que el grado de hidrólisis final depende mucho de las condiciones utilizadas, que incluyen la temperatura y pH del sustrato, la relación entre enzima y sustrato, como también el tiempo de incubación con la concentración de sustrato. La naturaleza de la enzima, caracterizada por su actividad específica y tipo de actividad, es otro factor que también determinará el grado de hidrólisis. Por lo tanto, no solo el grado de hidrólisis afecta el tipo de enzima utilizada, sino también el tipo de péptidos producidos. Para su uso en la alimentación, los hidrolizados se pueden dividir en: hidrolizados con bajo grado de hidrólisis entre el 1% y el 10% para mejorar las propiedades funcionales; hidrolizados con diferentes grados de hidrólisis para su uso como saborizantes; e hidrolizados extensivos con grado de hidrólisis superior al 10% para su uso en alimentación especializada (Benítez *et al.*, 2008).

### **2.5.1. Hidrólisis proteica de subproductos acuícolas**

La propiedad fundamental de un hidrolizado, el grado de hidrólisis, determina sus demás características y su posible uso. El objetivo principal de la hidrólisis es aumentar la recuperación de proteínas y el rendimiento de componentes valiosos, con propiedades diferentes a la proteína original (Aspevik *et al.*, 2017).



El material utilizado para producir hidrolizados proteicos puede ser animal, vegetal o bacteriano. No obstante, es importante destacar que, en los países desarrollados, las proteínas de la leche, específicamente las caseínas y las proteínas del lactosuero, son el sustrato más utilizado. Esto se debe principalmente a su amplia disponibilidad como producto de su industria, su alto valor nutricional y su bajo costo de producción. Las proteínas de soja, trigo y arroz son los vegetales más utilizados. Además se utilizan como sustrato proteínas de pescado, provenientes de los subproductos de la industria pesquera, principalmente en países orientales, como Japón o Corea (Vioque & Millán, 2005).

La hidrólisis es un proceso de separación de la grasa y los nutrientes en la materia orgánica (Bossio, 2007 mencionado por Flores Jalixto, 2017). Sigue demostrando que las condiciones utilizadas, como la concentración de sustrato, la relación entre la enzima y el sustrato, el tiempo de incubación con las condiciones fisicoquímicas de la temperatura y el pH, determinan el grado de hidrólisis final, la procedencia, naturaleza de la enzima, es otro factor que también va a determinar el grado de hidrólisis. Por lo tanto, la naturaleza de la enzima empleada no solo afecta el grado de hidrólisis, sino también el tipo de péptidos producidos. El producto final es de mayor digestibilidad que la proteína no tratada (Bouchez y Azzi, 1991 mencionado por Flores Jalixto, 2017).

### **2.5.2. Tipos de hidrólisis**

El proceso de hidrólisis puede ser efectuada ya sea por métodos químicos (tratamiento ácido o alcalinos) o como también por métodos bioquímicos (utilizando enzimas proteolíticas), ya sea que se encuentren en los tejidos de los



subproductos (autólisis) o se agreguen enzimas comerciales para acelerar el proceso (Aspevik *et al.*, 2017).

La hidrólisis química: Es un método relativamente simple y económico para separar las proteínas de los subproductos de pescado, no obstante, el método químico es un proceso difícil de controlar y afecta la calidad nutricional de los elementos resultantes. Generalmente este tipo de hidrólisis de proteínas se realiza a condiciones de pH muy bajo o alto y a temperaturas que oscilan entre los 100 a 120 °C, ocasionando productos con cualidades nutricionales reducidas y con poca funcionalidad (H. G. Kristinsson, 2006). Hoy en día apenas se utiliza la hidrólisis química debido a sus efectos perjudiciales sobre la calidad nutricional del hidrolizado, ya que se destruyen L-aminoácidos, y se forman D-aminoácidos y compuestos tóxicos como Lisinoalanina, que al ser consumidos pueden causar daño al riñón (Vioque & Millán, 2005).

La hidrólisis biológica: Hidrolizado de proteínas de pescado (FPH) se produce hidrolizando enlaces peptídicos con enzimas. Esta acción puede ser realizada por enzimas proteolíticas presentes en los propios animales, como son las enzimas viscerales y el músculo del pescado (proteasas endógenas), o por la adición de enzimas de otras fuentes (proteasas exógenas) (Hordur G. Kristinsson & Rasco, 2000). La hidrólisis alcalina destruye los aminoácidos arginina y cisteína y la hidrólisis ácida elimina el triptófano y desamina los aminoácidos serina y treonina (Guadix, 2000). siendo la vía enzimática la más ventajosa y son los más comúnmente empleados en el aprovechamiento de subproductos acuícolas, debido a que en el proceso hay mayor testigo y selectividad, además éste es menos drástico y genera un producto de mayor valor nutricional, por que presentan



numerosas ventajas en comparación con la hidrólisis química, tales como las siguientes (Martínez-Medina *et al.*, 2018).

- Las condiciones de reacción más suaves se presentan a temperaturas inferiores a 100 °C y un pH cercano a la neutralidad.
- Alta especificidad de reacción porque las enzimas tienen una mayor especificidad por el sustrato y no producen degradación hidrolítica a través de reacciones de racemización.
- Se pueden controlar fácilmente mediante el ajuste de pH y la temperatura o concentración de enzima las velocidades de reacción.
- Una vez que se alcanza el grado deseado de transformación las enzimas se inactivan fácilmente.

Diversos estudios han evaluado la utilización de los subproductos acuícolas como fuente de proteínas para producir hidrolizados, como por (Opheim *et al.*, 2015), sobre la hidrólisis de las vísceras, esqueleto y cabeza de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), mostraron que los hidrolizados a partir de estos subproductos, contiene altos niveles de proteínas, con un alto valor nutricional y potenciales péptidos bioactivos, debido a un mayor porcentaje de aminoácidos como ácido glutámico, ácido aspártico y lisina. Es así como estudiaron la hidrólisis química y enzimática de vísceras de esturión persa (*Acipenser persicus*), encontrando que los hidrolizados enzimáticos proporcionan mayor extracción de proteína en comparación con los hidrolizados químicos. Por otra parte (Silva *et al.*, 2014), evaluaron las vísceras y carcasa de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) como fuente de hidrolizados de proteína, encontrando que su composición aminoacídica y el perfil lipídico, les permitía ser usados como fuente de proteínas en dietas para animales de granja. Los estudios realizados por

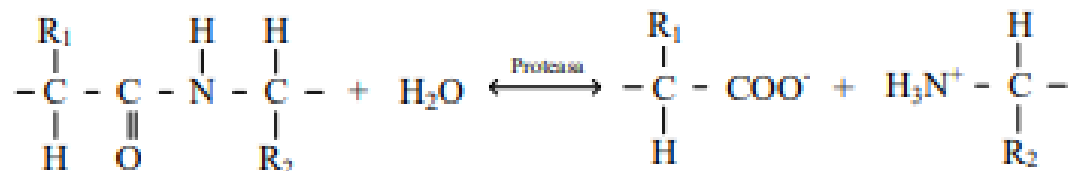
(Opheim *et al.*, 2015), sobre la hidrólisis de las vísceras, esqueleto y cabeza de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), mostraron que los hidrolizados a partir de estos subproductos, contiene altos niveles de proteínas, con un alto valor nutricional y potenciales péptidos bioactivos.

### 2.5.3. Hidrólisis enzimática de proteínas

El proceso de hidrólisis enzimática ha surgido recientemente como el proceso de elección debido a sus suaves condiciones de reacción, a la calidad superior del producto y a su funcionalidad, estos procesos enzimáticos se han demostrado a escala de laboratorio y a pequeñas escalas, pero no en pleno funcionamiento a escala industrial, debido probablemente a los altos costos de las enzimas (He *et al.*, 2013). Este proceso produce la ruptura de los enlaces peptídicos por medio de la acción catalítica de proteasas, consumiéndose una molécula de agua por cada enlace roto, liberando grupos carboxilo y amino, los cuales, pueden estar más o menos ionizados dependiendo del pH de la reacción (Adler-Nissen, 1986), como se muestra en la Figura 5 hidrólisis enzimática de un enlace peptídico.

**Figura 5**

*Hidrólisis enzimática de un enlace peptídico*



La hidrólisis enzimática disminuye el peso molecular de las proteínas, generando una serie de compuestos intermedios, encerrados en la secuencia





primaria de la proteína original, como proteasas y peptonas, liberando finalmente péptidos de menor peso molecular y con mayor cantidad de grupos ionizables, los cuales poseen propiedades nutricionales, como buena digestibilidad y absorción rápida, además de propiedades funcionales y actividades biológicas mejoradas en comparación a la proteína nativa (Adler-Nissen, 1979).

La hidrólisis enzimática presenta indudables ventajas frente a la tradicional hidrólisis química, ácida o alcalina, entre las que caben mencionar las siguientes (Guadix, 2000):

- Selectivo la aparición de productos de degradación es poco común porque las enzimas son específicas para un tipo de enlace específico. Por otro lado, los ataques ácidos y básicos tienen poca selectividad y son difíciles de controlar, lo que provoca productos que se degradan y estos pueden ser tóxicos. La hidrólisis enzimática transcurre generalmente en el intervalo de 40° a 60°C y pH comprendido entre 4-8.
- Los ácidos o bases fuertes que se utilizan en los procesos de hidrólisis química se neutralizan posteriormente, lo que aumenta significativamente el contenido de sales del producto.
- No se produce degradación de los componentes y se mantiene el valor nutritivo. Es así que la hidrólisis alcalina destruye los aminoácidos arginina y cisteína, y la hidrólisis ácida elimina el triptófano y desamina los aminoácidos serina y treonina (Guadix, 2000).

Enzimas proteasas como alcalasa, pepsina, tripsina, papaína, bromelina y pancreatina están en general son las más utilizadas. Por ejemplo la hidrólisis enzimática de residuos con alcalasas permite extraer el 74% de las proteínas



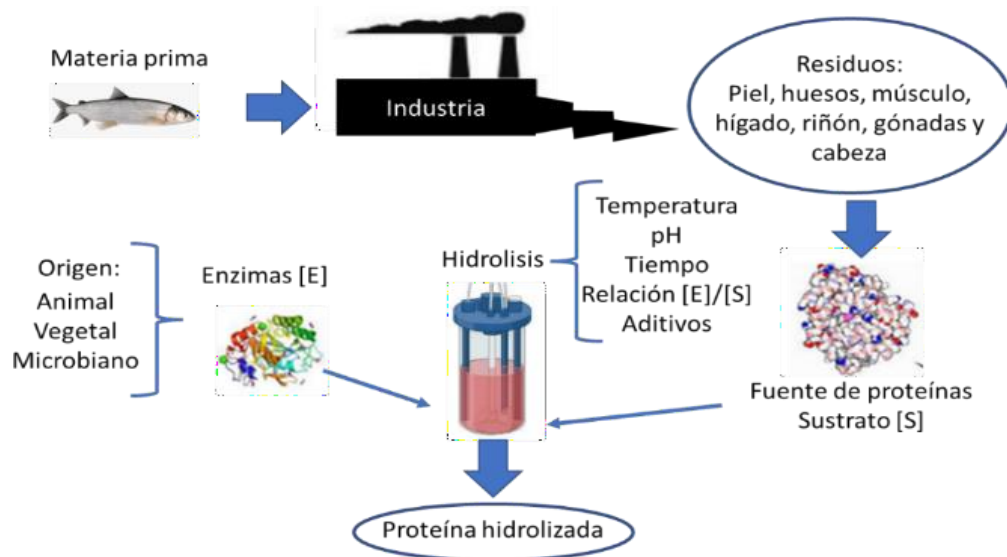
solubles en fase acuosa, la cual se puede separar con facilidad del contenido lipídico de los residuos (Chalamaiah *et al.*, 2012).

En los casos de hidrólisis enzimática, se debe agregar base diluida para mantener el pH en el óptimo de la enzima. Para completar la hidrólisis proteica, la enzima puede ser inactivada mediante el calor, la reducción del pH o ambos. O también puede extraerse del medio a través de la filtración, donde la proteína finalmente precipita (Chalamaiah *et al.*, 2012).

Se ha comprobado que a altos grados de hidrólisis los productos obtenidos con mezclas de proteasas presentaban la mejor composición en cuanto a mayor porcentaje de fracción de bajo peso molecular (Guadix, 2000), lo que permite una alta digestibilidad ya que los conocimientos del mecanismo de la absorción intestinal indican que los di- o tripéptidos se absorben con mayor facilidad (Grimble *et al.*, 1986). Es necesario separar o desnaturalizar la enzima y trabajar en condiciones asépticas para evitar separar contaminación microbiana de la mezcla reaccionante para evitar la contaminación microbiana de la mezcla reaccionante y las condiciones de temperatura y pH. La hidrólisis enzimática transcurre generalmente en el intervalo de 40 a 60°C y pH comprendido entre 4-8 (Guadix, 2000).

**Figura 6**

*Esquema general del aprovechamiento de residuos de pescado para obtención de hidrolizados enzimáticos*



Fuente: (D. Espinoza & Castillo, 2022)

#### **2.5.4. Las propiedades funcionales y nutricionales de los hidrolizados.**

Dado que estos desechos son una importante fuente de nutrientes, también se pueden utilizar para producir hidrolizados. Al ser hidrolizados estos desechos ocurre una disminución en el tamaño de péptidos modificando las características funcionales de la proteína, por lo que se consideran proteínas de alta calidad (Hordur G. Kristinsson & Rasco, 2000).

En general, la hidrólisis enzimática de las proteínas de los alimentos mejora la solubilidad de las proteínas, como también el proceso de hidrólisis aumenta la adsorción de humedad por parte de la proteína. Esto debido a que la absorción de agua está relacionada con el número de grupos iónicos presentes, los cuales aumentan como resultado de la rotura del enlace peptídico (Grimble *et al.*, 1986).



Desde el punto de vista nutricional, la hidrólisis enzimática mejora la digestibilidad de las proteínas y facilita su absorción intestinal sin perder su valor nutricional. Por lo tanto, uno de los usos más importantes de los hidrolizados de proteínas es como fuente de nitrógeno en la formulación de dietas (Grimble *et al.*, 1986).

Un hidrolizado de proteínas para formar parte de una dieta enteral debe cumplir lo siguiente:

- Que sean osmóticamente equilibrado.
- Que sea hipoalergénico.
- Presente valor nutritivo alto, comparable al de la proteína de partida.
- Tener un sabor agradable (Grimble *et al.*, 1986).

Por ello no es conveniente que estas dietas estén constituidas solo por aminoácidos libres, ya que esto las hace hiperosmóticas, provocando secreción intestinal y diarrea. Además, los conocimientos actuales del mecanismo de la absorción intestinal indican que lo di o tripéptidos de absorben con mayor facilidad que los aminoácidos libres (Grimble *et al.*, 1986).

Los hidrolizados de pescado se definen como proteínas de pescado que se descomponen en péptidos de diferentes tamaños hasta aminoácidos (He *et al.*, 2013). Una hidrólisis proteica es un proceso químico o enzimático que busca producir una serie de péptidos de menor tamaño a partir de una proteína. Cuando se rompe la mayor cantidad de enlaces peptídicos posibles, el proceso de hidrólisis es más efectivo. Esta propiedad se conoce como grado de hidrólisis (GH). Enzimas proteolíticas pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros



beneficios al producto final que bien pueden ser a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos (Hleap Zapata & Gutiérrez Castañeda, 2017).

Para que el hidrolizado se utilice con éxito en alimentos, debe tener buenas propiedades funcionales. El tamaño y las características químicas de las proteínas hidrolizadas afectan su funcionalidad, por lo que es necesario controlar la especificidad de la enzima y el grado de hidrólisis de la reacción si se quiere producir un hidrolizado con propiedades mejoradas. Un aumento en la solubilidad mejora muchas de las propiedades funcionales de las proteínas. La solubilidad de las proteínas miofibrilares se incrementa con la hidrólisis enzimática ya que conduce a péptidos más pequeños y grupos aminos y carboxilos expuestos permitiendo una mayor interacción con el agua, estos incrementos en solubilidad y su aplicación en un rango de pH, entre 4-8 permite la aplicación de los hidrolizados en una mayor variedad de alimentos (Suarez, 2010). La formación de péptidos hidrofóbicos juega un papel importante en el desarrollo de la sensación de amargura en estos, y existe una relación entre el grado de hidrólisis, los péptidos generados y el desarrollo de la amargura. Un equilibrio adecuado entre la actividad de la exopeptidasa y la endoproteasa es una forma de controlar el desarrollo del sabor amargo. La hidrólisis de las proteínas del pescado también puede mejorar el sabor del pescado, lo que lo convierte en otra aplicación importante.

#### **2.6.4.1 Propiedades nutricionales de los hidrolizados de residuos de pescado**

El contenido de aminoácidos indispensables de una proteína y su digestibilidad conocida son dos factores que deben tenerse en cuenta al evaluar su



calidad. El comportamiento del organismo se puede predecir utilizando el perfil de aminoácidos. Las propiedades nutricionales de la hidrólisis reflejan por ejemplo su digestibilidad aumentada y alergenicidad disminuida cuando se las compara con las proteínas parentales (Benítez *et al.*, 2008). La composición de aminoácidos de una proteína, sus proporciones y la cantidad de nitrógeno necesaria para el crecimiento, la síntesis y la reparación de los tejidos dependen de su valor nutricional. La digestibilidad es el otro factor que afecta la utilización de las proteínas alimenticias y las modifica de manera diferente. Cuando el nitrógeno consumido se absorbe por completo, la digestibilidad será igual a 100 (FAO, 1994 mencionado por Lavid, 2019).

#### **2.5.5. Calidad de proteínas obtenidas de residuos de pescado**

Actualmente, una parte de los desechos sólidos de la pesca se utiliza para producir productos proteicos como harina de pescado y ensilado de desechos, donde se extrae una gran cantidad de ácidos grasos. La calidad de la harina varía según con la variedad de pescado que se utiliza, el grado de frescura de la materia prima, como las condiciones del proceso de elaboración que afectan la digestibilidad de las proteínas ya que cuando las proteínas son expuestas a temperaturas muy elevadas, la digestibilidad de las proteínas se reduce evitando que las moléculas proteicas sean desdobladas por las enzimas digestivas (Romero *et al.*, 1994).

Se conoce que en cuanto la calidad de proteínas de algún alimento está determinada fundamentalmente por el tipo y calidad de aminoácidos que la forman y por su digestibilidad. La dieta es esencial para obtener los aminoácidos esenciales, ya que el cuerpo no puede producirlos por sí mismo. El análisis de



proteína cruda no indica la digestibilidad de un suplemento de proteína. Por supuesto, si una fuente de proteína ha sido procesada inadecuadamente y no puede ser bien digerida por el animal contribuirá muy poco a su crecimiento y a la producción (FAO, 1986). El producto final es de mayor digestibilidad que la proteína no tratada (Aurrekoetxea & Perera, 2002).

La digestibilidad es considerada uno de los componentes más cruciales en la evaluación efectiva de los ingredientes y un requisito para las formulaciones de dietas biológicas y económicamente óptimas. La composición química del ingrediente, las necesidades de la especie y la digestibilidad son parámetros para determinar el valor nutricional de los insumos y dietas utilizados en la alimentación acuícola ( Lavid, 2019).

La composición química de un alimento juega un papel importante en su valor nutricional y en la capacidad del cuerpo para digerir y absorber sus nutrientes y energía. La creación de dietas basadas en estos dos criterios es fundamental para lograr raciones nutricionalmente efectivas y con un menor impacto ambiental. Se creía que la combinación de conocimientos sobre la composición química y la digestibilidad de un ingrediente a utilizar en la formulación. una receta permite realizar cálculos precisos sobre su contribución en términos de nutrientes y energía, así como estimar la cantidad de material no digerible que se eliminará con las heces. Es de muy importancia conocer los coeficientes de digestibilidad ya que permite viabilizar la inclusión de una gran variedad de productos y subproductos de la agroindustria en raciones alimenticias dirigidas para peses (Dekkers *et al.*, 2011). La digestibilidad es afectada por dos de los principales factores de calidad que deben ser considerados en las harinas de pescado utilizadas en alimentos para acuicultura: el tipo de materia prima, en



particular pescado entero o subproductos, la temperatura y el tiempo de exposición al calor durante el procesamiento de secado (Pike & Hardy, 1997 mencionado por B. Rust, 2002).

Cuando el contenido de ceniza en las harinas de pescado aumenta, la digestibilidad de la proteína disminuye. El contenido de ceniza también variará según la especie de pescado y si se usa pescado entero o subproductos. El contenido de ceniza de las harinas de pescado entero generalmente oscila entre el 10 y el 20%. Los subproductos de pescado con huesos suelen tener un contenido de cenizas superior al 17%. Si el contenido de ceniza es superior del 23%, la calidad de aminoácidos de la proteína es probablemente disminuida (Romero *et al.*, 1994). Sin embargo, el principal problema con la calidad de la proteína se presenta con la aplicación de calor de manera excesiva durante el secado dado que la calidad de la proteína puede disminuir por efectos combinados de temperatura y del tiempo de exposición (Pike & Hardy, 1997 mencionado por B. Rust, 2002).

Sin embargo, el principal problema con la calidad de la proteína se presenta con la aplicación de calor de manera excesiva durante el secado, dado que la calidad de la proteína puede disminuir por efectos combinados de temperatura y del tiempo de exposición (Pike y Hardy, 1997).

## **2.6 DIGESTIBILIDAD**

### **2.6.1. Aspectos generales**

La determinación de la cantidad de un alimento supone la obtención de la digestibilidad, o un nutriente en particular, que no se degrada ni absorbe durante su paso por el aparato digestivo. Se trata de una fase importante de la utilización de los nutrientes (Bondi, 1989). Es uno de los parámetros utilizados para medir el





valor nutricional de los distintos ingredientes destinados a alimentación acuícola, debido a que no basta que la proteína u otro elemento se encuentre en altos porcentajes nutricional en el alimento o en sus ingredientes, sino que debe ser digerible para que pueda ser asimilado, en consecuencia, aprovechado por el organismo que lo ingiere (Manríquez ,1993). Según Guillaume et al. (2004) los tres objetivos de los estudios de digestibilidad los estudios en la acuicultura son mejorar nuestra comprensión de los usos potenciales de los nutrientes, mejorar la calidad de los alimentos para los peces y, por último, reducir la cantidad de residuos agrícolas para que la calidad del medio ambiente en general y del agua en particular puede ser preservado. La acuicultura tiene como objetivo mejorar nuestra comprensión de los usos potenciales de los nutrientes, mejorar la calidad de los alimentos para los peces y, por último, reducir la cantidad de residuos agrícolas para preservar la calidad del medio ambiente en general y del agua en particular.

La digestibilidad del alimento recientemente ha tomado gran interés para los acuicultores debido a la necesidad de disminuir los alimentos contaminantes (Cho *et al.*, 1993; 1994; Lee y Lawrence, 1997). La utilización de datos de digestibilidad de los ingredientes permitirá desarrollar alimentos más apropiados y menos contaminados permitirán desarrollar alimentos más apropiados y menos contaminados (Cho *et al.*, 1993; 1994; Lee y Lawrence, 1997).

Existen métodos de control químicos, biológicos y microbiológicos. Dentro de los químicos se encuentran los métodos de digestibilidad *in vitro* y en los biológicos los métodos de digestibilidad *in vivo*. (Carrillo, 1994), menciona que todas estas técnicas están dirigidas fundamentalmente, a conocer tres características de los ingredientes que son:



- Composición química
- Biodisponibilidad de nutrientes
- Digestibilidad

La determinación de la digestibilidad es esencial no solo para formular dietas a bajo costo, sino que además es muy útil para la investigación de requerimientos nutricionales, selección de ingredientes con valor nutritivo potencial (en relación con la calidad de la materia prima), y formulación de dietas que minimicen la contaminación del agua (Brown, 1989; Akiyama et al. 1991; Hagen et al 1993a; Mendoza, 1993; Romero y Manrique, 1993). El uso de los datos de digestibilidad de un ingrediente es esencial para la formulación de una dieta con un bajo índice de contaminación sin riesgo para el medioambiente (Lee y Lawrence, 1997). Hsu et al. (1977), indican que, al seleccionar el método más adecuado para la determinación de la digestibilidad *in vitro*, se debe de tener en cuenta las siguientes características: el método debe ser simple y rápido, arrojar resultados reproducibles, poseer una alta correlación con algún método *in vivo*, y ser lo suficientemente sensible para detectar los efectos debido al procesamiento.

### 2.6.2. Factores que influyen en la digestibilidad

Tres factores principales que influyen en la digestión: los alimentos consumidos y el grado de susceptibilidad a los efectos de las enzimas digestivas; la actividad de las enzimas; y la duración de la exposición a esas enzimas. A su vez, los factores principales son influidos por múltiples factores secundarios (Hepher, 1988 mencionado por Espinoza, 2017). Estos factores son explicados:

**a. Especie:** Un mismo alimento administrado a diferentes animales, no siempre será digerido a un mismo nivel, lo que muestra la importancia del efecto



del animal sobre la digestibilidad (McDonald *et al.*, 2006). Sin embargo, que en los peces se observan a menudo, valores muy similares en especies, incluso zoológicamente diferentes; es así un salmónido, un róbalo y un turbot digerían casi de la misma forma las proteínas de la harina de pescado (Au y Bidart, 1992).

**b. Edad del pez:** La edad de los peces también es un factor en el que se presenta diferencias de digestibilidad, lo cual se explica por la menor actividad enzimática de los peces jóvenes (Steffens, 1987). Sin embargo, Blanco (1995) señala que la digestibilidad de la proteína es mayor en los peces de menor edad, ya que sus necesidades de crecimiento son mayores y, por lo tanto, su capacidad de absorción también es mayor. El mismo autor menciona que, en términos digestivos, peces de mayor edad o talla utilizan mejor la grasa, por lo cual los más jóvenes no dietarían de la grasa.

**c. Composición y procesamiento del alimento:** (Hepher 1988 mencionado por Espinoza, 2017), menciona que los alimentos de origen vegetal son digeridos en menor grado que los de origen animal, ya que las células vegetales poseen una pared celular que les da gran resistencia y dificulta la penetración de las enzimas digestivas. Espinoza, (2017) demostró que la digestibilidad de los lípidos depende de la composición y el nivel de saturación de estos, disminuye al aumentar el número de átomos de carbono en la cadena de ácido graso y se incrementa con el número de dobles enlaces. Por otro lado, a mayor contenido de fibra bruta, disminuye la digestibilidad de los compuestos orgánicos (Buxade, 1994). Sin embargo, la digestibilidad también puede ser afectada por la forma del alimento y como se le procese. (Hepher, 1988 mencionado por Espinoza, 2017) demostró que la molienda, cocción, y el proceso



de extrusión mejoran la digestibilidad de la proteína y el almidón, pero no de las grasas.

**d. Condiciones medioambientales:** Según (Guillaume *et al.*, 2004), Se ha demostrado que elevar la temperatura del agua donde se encuentran los peces mejora el contenido mejora la digestibilidad del componente graso de la dieta del mismo modo, la digestibilidad del almidón depende de la temperatura del agua, siendo generalmente mayor en agua tibia que en agua fría. La temperatura del agua también puede influir sobre la digestibilidad de la proteína (Steffens, 1987), por ejemplo, en trucha arco iris se observó mejor digestibilidad aparente de la proteína cruda a 15 ° C mientras que, para la carpa común y la tilapia del Nilo, a 25 ° C (Watanabe *et al.*; mencionado por Augusto *et al.*, 2006).

### 2.6.3 Digestibilidad *in vitro*

Anderson *et al.* (1993) Sugieren que los mejores métodos para medir la calidad el mejor de un ingrediente son las evaluaciones biológicas, ya que las determinaciones *in vitro* llevan a cabo reacciones más dramáticas que las que ocurren durante la digestión natural de los organismos, liberando nutrientes que de otro modo no estarían disponibles y, por lo tanto, normalmente no describe con precisión la calidad de un ingrediente.

Las diferencias encontradas entre los resultados de los métodos de digestibilidad *in vitro* e *in vivo* pueden ser debidas a que *in vivo* se presentan una serie de factores que son muy difíciles de simular en los métodos *in vitro*, por ejemplo: el pH exacto al que ocurre la digestión, la actividad microbiana existente en el tracto intestinal del organismo, los movimientos mecánicos del estómago e intestino, factores medioambientales que contribuyen al estrés, estado fisiológico



y edad del organismo en el cual se efectúa el estudio, la presencia de factores antinutricionales que no pueden ser determinados por los métodos de digestibilidad *in vitro* (Nieto, 2003) incluso los métodos utilizados para la colecta de las heces, el tipo de marcador utilizado, la pérdida de nutrientes de las heces o del alimento, etc. (Leavitt, 1981) Además, hay que tener en cuenta que en algunos de los métodos *in vitro*, se utilizan enzimas heterologas (Flores Jalixto, 2017) y en algunos casos se emplean sistemas uni-enzimáticos (A.O.A.C., 1990) y no multi-enzimáticos como ocurre *in vivo*, por lo que los métodos *in vivo* resultan más sensibles para diferenciar entre dos digestibilidades muy parecidas.

Nieto, (2003) menciona que Los métodos que determinan la digestibilidad proteica son los más utilizados entre los que miden la digestibilidad *in vitro*, ya que las proteasas son las enzimas más activas y que existen análogas comerciales de vertebrados. Las enzimas proteolíticas empleadas, las condiciones de digestión (pH, temperatura, tiempo de hidrólisis) y las maneras de evaluar la digestión de las proteínas son los únicos diferenciales de todos estos métodos. En 1994 Carrillo realizó un resumen de los métodos comúnmente empleadas con el fin de determinar la digestibilidad *in vitro* (Tabla 4). Sin embargo, en su resumen, lo hacen no ninguna mención de la modificación de la técnica de digestibilidad con pepsina que sugiere la modificación a la técnica de digestibilidad con pepsina que sugiere la "Estación de Investigaciones Torry" la cual es una modificación a la metodología propuesta por la A.O.A.C. en 1990. Los estudios de las enzimas digestivas de la hepatopáncreas de algunos crustáceos (Nieto, 2003) indican que las principales enzimas digestivas son:

- Leucina-aminopeptidasa
- Colagenasa



- di y tri-peptidasas
- Tripsina
- Quimiotripsina
- Carboxipeptidasa A y B
- Proteasa alcalina de bajo peso molecular
- Enzimas bacteriolíticas

De lo antes visto, hay que resaltar la ausencia de pepsina y considerar que los camarones a diferencia de Los vertebrados, no tienen estómago verdadero, además de no poseer células secretoras de ácido, por lo que su digestión se lleva a cabo en un pH básico o neutro (con pH's óptimos que fluctúan desde 0 hasta 11). La ausencia de sistema ácido de digestión es compensando por la gran capacidad de reducción mecánica de los ingredientes por medio del molino gástrico (Nieto, 2003). Otro punto importante de mencionar es que la tripsina es la principal proteasa digestiva, constituyendo hasta 6.1% de las proteínas solubles de la hepatopáncreas, y lleva a cabo del 40 al 50% de la proteólisis digestiva total y también la diferencia de la tripsina de los vertebrados, la tripsina de los crustáceos tiene la capacidad de atacar a proteínas desnaturalizadas, pero, al igual que la de estos, es sensible al inhibidor trípico de la soya, además esta enzima presenta varias iso-enzimas (Nieto, 2003).

#### **Tabla 4**

*Comparación de algunos métodos para determinar la digestibilidad in vitro de proteínas*

<b>Enzimas</b>	<b>Duración de la hidrolisis</b>	<b>Control de la Hidrolisis</b>	<b>Referencia</b>
----------------	----------------------------------	---------------------------------	-------------------

---

Erepsina			
Pepsina	9-27 horas	Aminoácidos	Akeson y Stahmann, 1964.
Pepsina			
Contenido intestinal de cerdo	4-8 horas	Nitrógeno	Furuya, Sakamoto y Takahashi, 1979.
Tripsina			
Quimiotripsina	10 minutos	Disminución del pH	Hsu et al. 1977.
Peptidasas			
Pancreatina	2-48 horas	Nitrógeno alfa-amino	Schroeder, Jacobellis y Smith, 1961.
Tripsina	2 horas	Proteína soluble	Deshpande y Nielsen, 1987.
Pepsina			
Polvo de páncreas y duodeno	3-72 horas	Nitrógeno alfa-amino	Denton y Elvehjem, 1953.
Contenido intestinal de salmón	11,5 horas	Aminoácidos y péptidos	Grabner, 1985.
Homogenado de hepatopaneas de camarón.	4 horas	Proteína soluble	Lan y Pan, 1993.

---

Fuente: Carrillo, 1994

### 2.6.3.1 Estudios de digestibilidad *in vitro*

Numerosos métodos *in vitro* fundamentados en la digestibilidad de las proteínas han sido desarrollados empleando proteínas. Sin embargo, la mayoría han sido establecidos para peces u otras especies, y en algunos de los que se desarrollaron para camarón no se ha establecido su correlación con la digestibilidad *in vivo* ni la sensibilidad de las técnicas para detectar diferencias de calidad.



(Eid & Matty, 1989) evalúan la digestibilidad *in vitro*, con el método de pH drop (estimación indirecta de digestibilidad midiendo la disminución de pH), en diferentes proteínas utilizando extractos intestinales de carpa, y obtienen una alta correlación entre métodos *in vivo* e *in vitro* por lo que este método tiene la desventaja de que si la muestra contiene mucha grasa la liberación de ácidos grasos durante la digestión interfiere con la caída del pH, además de que la caída del pH hace a las enzimas menos eficientes lo cual va en detrimento de la sensibilidad.

Anderson et al. (1993), evalúan harinas de pescado de diferente calidad para el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y utilizan el método de digestibilidad *in vitro* con pepsina corregida por la solubilidad de la proteína en ácido descrita por el A.O.A.C., utilizando una solución de 0.2% de pepsina y la modificación de este método descrita por el laboratorio de Tony utilizando una solución de pepsina al 0.0002%, así mismo utilizan el método multi-enzimático de pH-Stat (estimación indirecta de la digestibilidad midiendo la cantidad de NaOH necesaria para mantener el pH constante) descrito por Pedersen y Eggum (1983) y encuentran que el método del AOAC no es sensible a las diferencias de calidad de las harinas y que no se correlaciona con los métodos *in vivo*, el método Torry modificado y el pH-Stat se correlacionan bien con la digestibilidad *in vivo* y son sensibles a las diferencias de calidad de la proteína. Es por ello que estos métodos se podrían utilizar en camarón, sin embargo, como se mencionó anteriormente este organismo carece de pepsina y de digestión ácida.





## 2.7. SUSTRATOS

La elección de una fuente proteínica para el proceso de hidrólisis generalmente se basa en el uso final del hidrolizado y el valor obtenido agregado con respecto al sustrato de partida.

El interés por las proteínas de pescado comenzó en los años 60 y ha persistido desde entonces. El desarrollo de sabores extraños es el principal obstáculo en la preparación de productos funcionales a partir de proteínas de pescado. Sin embargo, mediante modificación enzimática se obtiene productos interesantes tanto funcional como organolépticamente (Groninger, 1973; Spinelli *et al.*, 197, mencionado por Antonio María, 2001).

La calidad de una proteína puede ser determinada por una variedad de parámetros, incluida la eficiencia proteica (PER: relación entre ganancia en peso corporal y peso de proteína consumida), el valor biológico (BV: proporción de proteínas absorbidas para mantenimiento y/o crecimiento), la digestibilidad (D: porcentaje de proteínas retenidas) y la utilización neta de proteínas (NPU: proporción de proteína ingerida que es retenida). Una proteína que carece de uno o más aminoácidos esenciales tendría un NPU de cero, mientras que la proteína ideal tendría un NPU de 100 (Groninger, 1973; Spinelli *et al.*, 197, mencionado por Antonio María, 2001).

Generalmente, el sustrato se selecciona de acuerdo con el uso final que se le quiere proporcionar al hidrolizado y al valor agregado que se le dará a aquella proteína de partida (Guadix, 2000). Por ejemplo, el colágeno y la gelatina se utilizan con frecuencia para crear geles transparentes si se desea obtener hidrolizados con características gelificantes y emulsificantes. Así mismo, cuando se busca un hidrolizado como fuente de nitrógeno para alimentación animal, se usan proteínas microbianas o provenientes de pescado, o



como también si su finalidad es utilizarse para la preparación de alimentos infantiles o dietas enterales, se usa las proteínas de lactosuero, las cuales son ricas en cisteína (Benítez *et al.*, 2008). Los preparados enzimáticos normalmente se venden en estado líquido o como polvos (Benítez *et al.*, 2008).

## 2.8. ENZIMAS

Las enzimas son proteínas que se encuentran una variedad en la naturaleza y han sido utilizadas a lo largo del tiempo. El uso de este método para extraer compuestos bioactivos es una alternativa a los métodos de extracción tradicionales que utilizan solventes y es más ecológico también tienen ventajas sobre los tratamientos químicos porque son catalizadores altamente específicos, funcionan en condiciones de reacción moderadas, lo que significa menos desperdicio de los subproductos y menos consumo de energía. Por lo tanto, las enzimas pueden utilizarse en el pre tratamiento de los residuos, la extracción de compuestos e incluso en la modificación y síntesis de nuevas moléculas a partir de los compuestos bioactivos (Puri *et al.*, 2012).

Las enzimas comerciales de grado alimentario se suministran generalmente en forma líquida o en pellets secos, lo que facilita y protege su manejo. La presentación de varias enzimas individuales en un preparado también es útil en muchos casos. En algunos casos, solo se utiliza el componente principal; Sin embargo, si los demás componentes no provocan reacciones no deseadas, esto no es un problema.

Para aumentar el valor y la disponibilidad de las proteínas, se utilizan enzimas para aumentar la recuperación de proteínas hidrolizadas de huesos o pescado. En el pescado, la mayor parte del aceite está asociado con proteínas, de forma que la adición de proteasa incrementa en el rendimiento de aceite y de grasas (Wiseman, 1991 mencionado por Flores Jalixto, 2017).



El uso de enzimas específicas y la selección de condiciones de hidrólisis, como tiempo, temperatura y pH, pueden mejorar las propiedades funcionales de los FPH. La hidrólisis parcial se puede lograr de esta manera. Existe un número de diferentes enzimas proteolíticas (comerciales) que pueden ser usadas para la producción de hidrolizados (Liceaga-Gesualdo & Li-Chan, 1999).

### **2.8.1 Enzimas endógenas**

Las enzimas digestivas de los mismos pescados son responsables de un proceso autolítico. Es simple y no tiene costos, el producto final de la hidrólisis autolítica es un líquido viscoso rico en aminoácidos libres y péptidos pequeños. Dado que los peces son generalmente de aguas más bien heladas y estas enzimas trabajan normalmente a bajas temperaturas, se producen estas hidrólisis autolíticas. La condición fisiológica del pescado y la forma en que se procesan los subproductos determinan la actividad de las enzimas endógenas en los subproductos. La desventaja es que es un proceso menos reproducible que el proceso que se produce con la adición de enzimas comerciales, debido a que la actividad de estas enzimas es variable de pez a pez y también depende de cómo se aislaron estas enzimas (Aspmo *et al.*, 2005).

### **2.8.2 Enzimas exógenas**

La hidrólisis se vuelve más reproducible y controlable si se agregan enzimas exógenas. Por lo tanto, se han probado varias enzimas proteolíticas comerciales sobre una variedad de sustratos de pescados. La acción enzimática sobre la proteína de pescado es inicialmente superficial. Actualmente las enzimas comerciales preferidas para las principales investigaciones son proteasas de preparación bacteriana, tales como Alcalasa, Neutrasa, y Protamex (nombres de



proteasas bacterianas comerciales), pero también las proteasas de plantas, como la papaína (comercialmente llamada Corolase L-10), tienen buenos rendimientos en los resultados (Aspmo *et al.*, 2005).

Las proteasas se pueden clasificar en proteasas alcalinas, neutras y ácidas según su rango de pH ideal. Las proteasas ácidas son más activas entre pH 2 y 6, con una composición típica de 380 a 420 aminoácidos y una variedad de restos de aminoácidos que sirven como sitio activo. Las proteasas aspárticas, algunas cisteínas proteasas y metaloproteasas son los principales miembros de este grupo. Como su nombre lo indica, las proteasas neutras funcionan mejor a valores de pH cercanos a la neutralidad. Las proteasas neutras incluyen la cisteína proteasas, metaloproteasas y algunas serinas proteasas. Finalmente, las proteasas alcalinas tienen una alta actividad entre pH 8 a 13 y contienen aproximadamente de 420 a 480 residuos de aminoácidos su cadena, siendo las serina proteasa las más representativas de este grupo (Martínez-Medina *et al.*, 2018).

Las proteasas pueden clasificarse según (Guadix, 2000).

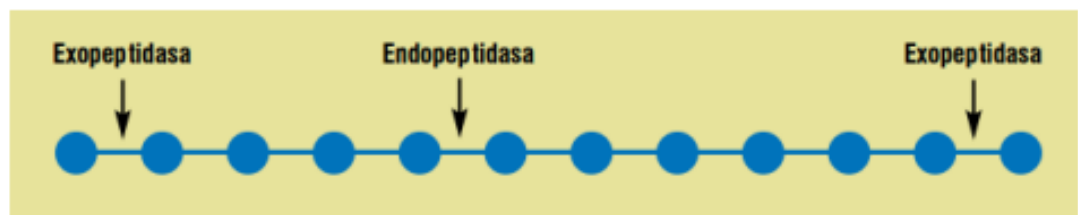
- Origen: Animal, vegetal, bacteriano o fúngico
- Acción catalítica: Endo proteasas, si rompen en el interior de las cadenas peptídicas, y exoproteasas, si separan aminoácidos de los extremos de las cadenas peptídicas.
- Naturaleza del sitio catalítico: Las endoproteasas pueden ser serinoproteasas, cisteinoproteasas, metaloproteasas, aminoproteasas, carboxiproteasas o dipeptidasas (Guadix, 2000).

Las proteasas usadas en la hidrólisis enzimática permiten la recuperación de proteínas de la sangre, vísceras y huesos provenientes mataderos, en la

decoloración de la hemoglobina y el procesado de los desechos de pescados (Ward, 1983, mencionado por Flores Jalixto, 2017) se clasifican en endoproteasas o exoproteasas, según corten los enlaces peptídicos del interior de la cadena aminoacídica o los enlaces de los extremos amino y carboxilo terminal (Vioque & Millán, 2005). Las endopeptidasas rompen los enlaces peptídicos al interior de la proteína generando péptidos pequeños, pero muy pocos aminoácidos libres (Suarez, 2010). En la Figura 7, cuya fuente es de (Vioque & Millán, 2005) se detalla esta clasificación.

### Figura 7

*Clasificación de proteasas según el enlace que cortan*



Las exopeptidasas cortan los aminoácidos del final de la molécula de proteína, creando una combinación de aminoácidos y péptidos grandes y pequeños. Por otro lado, las endopeptidasas escinden dentro de la molécula de proteína, creando péptidos relativamente grandes (Madueño, 2014 mencionado por Flores Jalixto, 2017).

Las enzimas que se utilizan para hidrolizar proteínas de pescado comparten al menos una característica: son de grado alimenticio, y si son de origen bacteriano, el organismo productor debe ser no patogénico. La elección de la enzima es usualmente determinada por una combinación de eficacia y economía (Hordur G. Kristinsson & Rasco, 2000). Un factor importante en la elección de la

o las enzimas es el uso que se le quiera dar al producto, ya que las características organolépticas y funcionales del producto son cruciales en aplicaciones alimenticias. Proteasas comerciales de grado alimentario disponibles en el mercado.

**Tabla 5**

*Características de las proteasas comerciales*

Fuentes	Enzima	Rango de pH	Temperatura (°C)	Especificidad
Aminales	Pepsina	1,5-2,5	35-50	Endo
	Tripsina	7-9	30-60	Endo
	Quimiotripsina	8-9	45-55	Endo
	Pancreatina	7,5-8,5	35-50	Endo/Exo
	Alcalasa 2.4 L	6,5-8,5	55-70	Endo
Microbianas	Flavourzyme 1000L	5,5-7,5	50-55	Endo/Exo
	Neutrasa,	5,5-7,5	45-55	Endo
	Corolasa 7089	5,5-7,5	<60	Endo
	Corolasa PN-L	5,0-8,0	<50	Endo/Exo
	Corolasa LAP	6,0-9,0	<70	Exo
	Umamizyme,	7,0*	45*	Endo/Exo
	Protamex	5,5-7,5	35-60	Endo
Vegetales	Papaína	5,0-7,0	65-80	Endo / Exo
	Bromelina	3,0-9,0	50-60	Endo / Exo

Fuente: (D. Espinoza & Castillo, 2022).



### 2.8.2.1 Corolasa 8000

Es una preparación de enzima proteasa alcalina fúngica, termotolerante, de calidad alimentaria, ideal para hidrolizar proteínas en condiciones ligeramente alcalinas. Específicamente, es una serina endoproteasa (termomicolina) y también puede describirse como una endopeptidasa. Corolasa 8000 y su enzima constituyente no están modificados genéticamente. El componente enzimático se produce mediante la fermentación de un microorganismo modificado genéticamente, que se elimina y no está presente en el producto final (Jesus & Almeida, 2011).

Corolasa 8000 se puede utilizar para muchos tipos de hidrólisis de contenedor IBC proteínas, independientemente de si son de origen vegetal o animal. Se puede utilizar para lograr un alto grado de hidrólisis. Puede hidrolizar una amplia gama de proteínas a un pH neutro y por encima de él también usarse solo o en combinación con otras proteasas o actividades enzimáticas. Las aplicaciones típicas incluyen la hidrólisis del gluten de trigo, la proteína de soja, la gelatina y las proteínas de la leche, el reciclaje de cortes de carne y la recuperación de proteína de pescado a partir de subproductos. El producto cumple con las especificaciones de pureza del Comité Conjunto FAO/ OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) y del Codex de Productos rango de pH: 6,0–10 y rango de temperatura: hasta 80°C (Jesus & Almeida, 2011).

## 2.9. HISTAMINA

La descomposición de la histidina libre produce la amina biógena histamina. La histamina en la harina proporciona un índice bastante correlacionado con la medida en que la materia prima está deteriorado por ello que el agua de cola se separa con la histidina



y la histamina después del pescado ser prensado, y también es un índice de frescura de los solubles incorporados. Estos componentes tienen una alta solubilidad en agua. Por esta razón, el contenido de histamina será menor en una harina en la que no se hayan adicionado los solubles de pescado que en una harina completa (Tanikawa, 1985, mencionado por Churacutipa Mamani, 2016).

### **2.9.1. Toxicidad de la histamina**

El desarrollo de reacciones alérgicas está relacionado con la intoxicación por histamina, y la gravedad de la intoxicación está relacionada con la cantidad de esta amina consumida, la sensibilidad del consumidor y se cree que también podría influir en la presencia de otros compuestos producidos por acción bacteriana, que actúa como "potenciadores de toxicidad". Entre los posibles potenciadores están la trimetilamina, el óxido de trimetilamina y otras aminas biógenas (Alberecht Ruiz y Salas Maldonado, 2013, mencionado por Silva Ortiz, 2003). Todavía no se ha establecido la dosis tóxica mínima de histamina para humanos, pero en la mayoría de los casos el nivel encontrado en pescados asociados a esta intoxicación es por encima de las 200 ppm y más comúnmente por encima de 500 ppm (Yeannes, 1995; Alberecht Ruiz y Salas Maldonado, 2013 mencionado por Silva Ortiz, 2003) Respecto a la harina de pescado, los valores de histamina superan las 1000 o 1500 ppm, en una harina común, mientras que una harina de alta calidad contiene menos de 500 ppm de histamina (Zaldívar, 1992; Díaz, 1996). Al evaluar el contenido de histamina en una harina, es importante tener en cuenta su contribución a la masa total de alimentos a consumir; por lo tanto, la harina de pescado que se suministra un 10% a la preparación de un alimento balanceado solo aportará un décimo a la dieta del animal que lo consume. Es decir que, si la harina contiene 250 ppm de histamina,





el alimento tendrá sólo 0.25% (Alberecht Ruiz y Salas Maldonado, 2013 mencionado por Silva Ortiz, 2003). Por otro lado, si bien hay una relación directa entre la aparición de la intoxicación y la presencia de altas concentraciones de histamina, aún no se conoce con precisión el agente causal en sí de esta intoxicación y considerar la histamina como único indicador de toxicidad no resulta arbitrario, ya que existen otras aminas biógenas y aún más tóxicas que la histamina e incluso una determinada amina biógena puede tener distinta acción sobre una especie y otra, por ejemplo, la histamina puede ser más tóxica en la alimentación de peces que en la de cerdos (Zaldívar, 1992).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

Esta investigación se efectuó en el Departamento de Puno, ubicado en las coordenadas: Latitud sur de 13°66'00" y 17°17'30" y una longitud oeste de 71°06'57" y 68°48'46" del meridiano de Greenwich, y a una altitud de 3810 metros sobre el nivel del mar.

Se utilizaron los siguientes laboratorios:

- Laboratorio de postcosecha de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano Puno donde se realizó la hidrólisis enzimática de las vísceras de trucha arco iris, evaluando el pH y controlando la temperatura.
- Laboratorio nutricional de la Escuela Profesional de Nutrición Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno donde se realizó el análisis proximal analizando la proteína, grasa, humedad y cenizas.
- Laboratorio microbiológico de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno donde se realizó la determinación de histamina y la digestibilidad *in vitro* de la proteína hidrolizada.

#### 3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

##### 3.2.1. Materia prima

Los subproductos utilizados fueron derivados del eviscerado de trucha arco iris como, intestino, estómago, hígado, corazón y sangre, proceso realizado



en Piscifactoría de los Andes ubicado en Salcedo- Puno. Las vísceras en estado fresco fueron colocadas dentro de un envase PET en una cantidad de 3kg, las cuales fueron transportadas al laboratorio de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

### 3.2.2. Materiales

- Probetas de 250 mL, marca Pyrex
- Pipetas de 5.10 mL, marca Pyrex
- Pipetas volumétricas de 10 mL marca Pyrex
- Vasos precipitados de 1000 mL marca Pyrex
- Baldes de plástico de 1 L
- Papel aluminio
- Papel filtro Whatman N° 02
- Pinzas
- Crisoles de porcelana
- Tubos de ensayo de vidrio borosilicato 3.3 con tapa rosca
- Gradillas de acero inoxidable
- Jarras de plástico graduadas “DURAPLAST”
- Balanza milgranero electrónica. Capacidad de 0.0001g a 3kg
- Cocinilla
- Baño maría
- Bureta de 25 mL
- cronómetros
- Cuchara inoxidable
- Guantes quirúrgicos



- Barbijo descartable
- Botellas pet de 1.5 L
- Mortero
- Espectrofluorómetro de 2-5 mg/kg
- Envases de PET 500 mL, 1000 mL
- Probeta graduada capacidad 50 mL y 100 mL
- Pipeta automática 100-1000  $\mu$ L

### 3.2.2. Equipos

- Equipo de extracción SOXHLET
- Equipo de destilación micro-KJEDAHN
- Balanza electrónica, precisión 0,01 g, modelo CAMRY EHA701
- Baño termostático con agitación, marca Memmert
- Termómetros digital marca Checker HANNA, rango de -10 a 150°C
- Refrigeradora Marca LG y COLDEX capacidad 265 L
- pH metro electrodo Blueline 21PH, marca Schott
- Cocina semi industrial Fadicc Diva de 2 hornillas
- Lector de ELISA Stat Fax 2100, marca AWARENESS Technologyinc

### 3.3.2. Reactivos

- Enzima proteasa comercial Corolase 8000, marca Dresden
- Ácido fosfórico 85% de pureza, marca Innophos
- Hidróxido de sodio 98.0% de pureza, marca CHR HANSEN
- (EDTA) ácido etilendiaminotetraacético 0.5M, marca Diproquim
- Éter dietílico, marca Merck



- Ácido clorhídrico al 0.02N
- Glicerina p.a. 99,85% de pureza, marca J. T. Bake
- Indicador azul de bromofenol, marca Merck
- Metanol p.a. 99,8% de pureza, marca Sigma
- Ácido acético glacial p.a. 99,9% de pureza, marca J. T. Bake
- Etanol absoluto 99,8% de pureza, marca Merck
- Sulfato de cobre (II) pentahidratado p.a. 99,0% de pureza, marca Merck
- Solución patrón pH 4
- ELISA Microwells manobind Inc.

### 3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.3.1. Elaboración del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris

Las vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) fueron sometidos a un pretratamiento para evitar que la grasa presente pueda ocasionar una rancidez oxidativa en los hidrolizados según lo recomendado por (Benjakul *et al.*, 2014). Se tomó 1 kg de víscera por muestra para el proceso de desengrasado por calentamiento buscando además inactivar las enzimas endógenas (pepsina, tripsina, quimotripsina, colagenasa, elastasa) (Bougatef, 2013). Posteriormente, se realizó un enfriamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para separar la grasa sobrenadante en forma sólida de la fase acuosa, así como se observa en la Figura 8.

### Figura 8

*Proceso de extracción de grasa de las vísceras de trucha arco iris.*

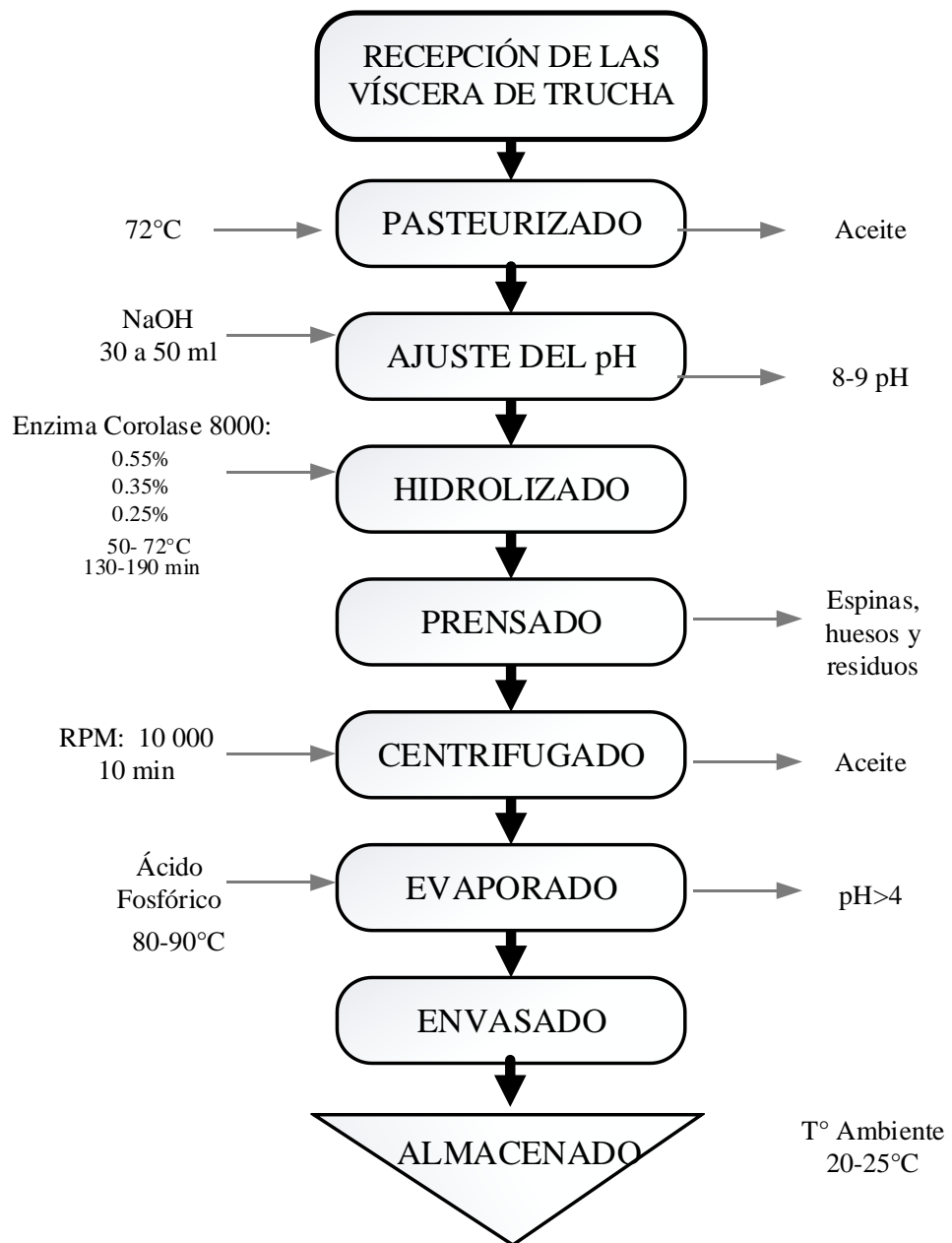


### 3.3.2. Diagrama de flujo experimental del hidrolizado enzimático

El flujo experimental para la elaboración de hidrolizado enzimático de vísceras de trucha arco iris se muestra en la Figura 9

**Figura 9**

*Diagrama de flujo del experimento: Hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*



Fuente: Empresa Lago Verde E.I.R.L (2020).

### 3.3.2. Descripción del proceso

Recepción de las vísceras de trucha: Se utilizaron vísceras de trucha arco iris en una cantidad de 1 kg por muestra, residuos que provinieron del fileteado de



trucha con piel. Se consideró el estado fresco para conservar su calidad y obtener baja cantidad de aminos biogénicos para que no afecta la calidad del producto terminado.

**Pasteurizado:** Se realizó en un vaso precipitado de marca Pyrex de una capacidad de 1 lt en la pre cocción, llegando a la temperatura de 72°C para obtener una letalidad del 90% de los microorganismos.

**Ajuste del pH:** A una temperatura de 60°C se añadió 30 a 50 mL hidróxido de sodio 1M para obtener un pH no mayor a 8.5 y que en la etapa de hidrolizado ayude a actuar mejor la enzima.

**Hidrolizado:** A la muestra se le adicionó la enzima Corolase 8000 al 0.25%, 0.35% y 0.55%, para favorecer la hidrólisis de proteínas de acuerdo a las dosis propuestas en las formulaciones, este proceso se efectuó con agitación constante durante el tiempo establecido para cada tratamiento a una temperatura constante de 50 a 70°C.

**Prensado:** El producto ya hidrolizado se pasó a prensado mecánico para separar los sólidos y líquido. El líquido hidrolizado con contenido de proteínas de bajo peso molecular se pasó a la centrífuga.

**Centrifugado:** El líquido se llevó a la centrífuga a 10 000 rpm durante 10 minutos, que mediante fuerza mecánica separó el aceite y los sólidos gruesos obtenidos por la prensa.

**Evaporado:** El líquido sin aceite ni sólidos gruesos se pasó nuevamente a los vasos precipitados para su concentración utilizando una temperatura de 80 a 90° C, al término de esa etapa se enfrió hasta 20°C, posterior a ellos se adicionó





ácido fosfórico 10 a 15 ml hasta obtener un pH menor a 4 para así evitar la descomposición del hidrolizado.

**Envasado:** El producto se envasó en tachos de polietileno debidamente lavados para evitar la proliferación de microorganismos. Posteriormente se analizó el porcentaje de histamina, digestibilidad y análisis proximal para la presente investigación.

**Almacenamiento:** El producto terminado una vez obtenido el hidrolizado enzimático fue previamente envasado y almacenado a temperatura ambiente.

### **3.4. FACTOR DE ESTUDIO**

#### **3.4.1 Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

##### **Factor de estudio**

- Dosis de enzima (0.25%, 0.35%, 0.55%).
- Tiempo de hidrólisis (130 y 190 min).

#### **3.4.2. Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad *in vitro* de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

##### **Factor de estudio**

- Dosis de enzima (0.25%, 0.35%, 0.55%).
- Tiempo de hidrólisis (130 y 190 min).



### 3.5. VARIABLE DE RESPUESTA

**3.5.1. Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

Variable de respuesta

- Análisis proximal (Proteína, Grasa, Ceniza y Humedad)
- Histamina (mg/kg)

**3.5.2 Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad *in vitro* de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

Variable de respuesta

- % de digestibilidad *in vitro*

### 3.6. MÉTODO DE ANÁLISIS

#### 3.6.1. Formulación de tratamientos

La investigación consistió en seis tratamientos considerando los factores en estudio dosis de enzima Corolase 8000 y tiempo de hidrólisis, además se consideró un testigo, todos tuvieron tres repeticiones para cada tratamiento, esto produjo 21 unidades experimentales, como se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 6***Formulaciones de los tratamientos ejecutados*

TRATAMIENTOS	DOSIS (%)	TIEMPO (Min)	REPETICIONES		
			I	II	III
T-1	0.25	130			
T-2	0.25	190			
T-3	0.35	130			
T-4	0.35	190			
T-5	0.55	130			
T-6	0.55	190			
T-7	Testigo	Testigo			

Fuente: Elaboración propia.

### 3.6.2. Determinación del pH

Se utilizó un electrodo Blueline 21PH de marca Schott para muestras semisólidas, que se acopla a un potenciómetro Schott de Alemania. Se utilizaron soluciones buffer con una calibración de pH de 4.0 y 9.0. Se insertó el electrodo del potenciómetro en la muestra durante 1 min. El electrodo se retiró de la muestra y posteriormente se colocó en un vaso precipitado con agua destilada, luego se enjugó. (AOAC 981.12/90).

### 3.6.3. Determinación de análisis proximal

La composición proximal del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris fue determinada según los métodos analíticos según la AOAC, (1990). Se determinaron la proteína, grasa, ceniza y humedad.



### 3.6.3.1 Determinación de proteínas

La determinación de proteína total se realizó por el método Kjeldahl, para ello se pesa aproximadamente 0,5 gr de muestra , luego añadiendo 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, esto se llevó hasta una solución incolora, se dejó enfriar y luego se destila con la solución de hidróxido de sodio al 40% en un volumen de aproximadamente de 15 mL, el destilado se obtuvo en un matraz de 100 mL conteniendo 5 mL de indicador para proteínas, hasta llegar a un cambio de color rojo a verde, lo cual indica que termino el proceso de destilación. Finalizando se valoró con una solución de ácido clorhídrico de concentración 1N, hasta un cambio de color rojo. Se calculó el contenido de nitrógeno y se multiplica por el factor proteico 6,25 para expresar el porcentaje de proteína (AOAC, 960.52).

$$N = \frac{GastoHCl \times N \times meqN}{W} \times 100$$

$$\%Proteína = N \times f$$

Donde:

$GastoHCl$  = Volumen gastado de ácido clorhídrico

$N$  = Normalidad del  $H_2SO_4$

$meqN$  = Meq de Nitrógeno

$W$  = Peso de la muestra

$f$  = Factor de conversión



### 3.6.3.2 Determinación de Grasa

La determinación de grasa se efectuó por el método Soxhlet, está esta determinado por extracción directa con éter de petróleo como solvente: en un sobre de papel filtro se coloca 3 gr de muestra, este se introduce en tubo Soxhlet. Luego en un balón de 250 mL se añadió 160 mL de solvente hexano, se ensambló el equipo junto con el refrigerante sobre una cocinilla eléctrica, se extrae los lípidos por un tiempo de 2 a 4 h, al cabo de ese tiempo se retiró el sobre y se recupera solvente hasta que solo quede los lípidos extraídos en el balón, luego se llevó a una estufa a 60°C para la evaporación completa del solvente, se pesa el balón que contiene la grasa y se determinó el contenido por diferencia de peso (AOAC, 1920.039).

$$\% Grasa = \frac{P_1 - P_2}{P} \times 100$$

Donde:

P1 = Es el peso del vaso con el residuo de grasa de la muestra

P2 = El peso del vaso vacío

P = El peso de la muestra empleada

### 3.6.3.3 Determinación de ceniza.

La determinación de grasa se realizó por el método de incineración de materia orgánica en una mufla: en un crisol de porcelana de 15 mL de peso conocido, se pesó 2 gr de muestra, luego se coloca en una mufla a 600 °C por un tiempo de 2 h, al término del tiempo se retiró y coló en un desecador hasta su



enfriamiento registrando su peso final, y por diferencia se calcula el contenido de cenizas (AOAC 942.05).

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \times 100$$

Donde:

$P_0$  = Es el peso del crisol vacío

$P_1$  = Es el peso del crisol con la muestra

$P_2$  = El peso del crisol con las cenizas

#### 3.6.3.4 Determinación de Humedad

La determinación del porcentaje de humedad se utilizó secado por estufa: En una balanza analítica se pesó aproximadamente 3 gr de muestra y se coló en una estufa a 72°C por 72 h, al término del tiempo se tapó el recipiente y se coló en un desecador por un tiempo de 5 min, luego se registró el peso final y el porcentaje de humedad se determinó por diferencia de pesos (AOAC 930.15).

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

$P_i$  = Es el peso inicial de la muestra

$P_f$  = Es el peso final de la muestra



### 3.6.4. Determinación de histamina

Para la determinación de la histamina se ejecutó el método de ELISA utilizando el Kit VERATOX con el equipo Espectro fluorómetro con un periodo de 1h y el límite de cuantificación de 2-5 mg/kg. Este método está específicamente diseñado para realizar un análisis cuantitativo de la histamina en especies y harinas de pescado. La extracción de histamina para su evaluación se llevó a cabo mediante una técnica sencilla utilizando agua. Todos los reactivos necesarios para su realización están incluidos en el kit. Al ser un test cuantitativo, aunque visualmente se pueda tener una idea del resultado, fue necesario el uso de un lector de ELISA para poder cuantificar correctamente. (Arciniega Alvarado, 2017).

### 3.6.5. Determinación de la digestibilidad de la hidrólisis enzimática.

#### 3.6.5.1 Método Torry Modificado

*Preparación de muestra por el método de predicción de digestibilidad in vitro:*

Se prepararon muestras entre 0,5 y 1 g del alimento a ser evaluado, estos deben estar finamente molidas con partículas de un diámetro menor a 1 mm, se depositaron en un matraz Erlenmeyer de 50 mL, en cada serie de muestras se incluyó un blanco (Hervera *et al.*, 2007).

#### **a. Primera etapa: simulación de la digestión gástrica:**

Se adicionaron 25 mL de fosfato buffer (0,1 M, pH 6) a cada matraz que contenía la muestra. Se mezcló mediante agitación magnética suave con el fin de facilitar la dilución de las proteínas (Hervera *et al.*, 2007); se adicionaron 10 mL de ácido clorhídrico 0,2 M y se ajustó hasta un pH de 2 por medio de soluciones



de ácido clorhídrico 1 M y de hidróxido de sodio 1 M; posteriormente se adiciona 1 mL de solución de pepsina preparada recientemente, que contiene 10 mg de pepsina y 1 mL de solución de cloranfenicol (0,5 g en 100 mL de etanol). Con el fin de evitar crecimiento bacteriano durante la incubación los matraces fueron cerrados con un tapón de caucho y las muestras se incubaron en una cámara de temperatura controlada termostáticamente a 39 °C durante 2 h con agitación magnética suave y constante (Boisen & Fernandez, 1995).

**b. Segunda etapa: simulación de la digestión postgástrica:**

Después de la incubación los matraces fueron enfriados a temperatura ambiente, se adicionaron 10 mL de fosfato buffer (0,2 M, pH 6,8) y 5 mL de hidróxido de sodio 0,6 M; se ajustó el pH a 6,8 por medio de soluciones 1 M de ácido clorhídrico y 1 M de NaOH, se adicionó 1 mL de solución de pancreatina recientemente preparada que tuvo 100 mg de pancreatina en polvo, se cerró el matraz y se incubó de nuevo a 39°C durante 4 h con agitación constante (Hervera *et al.*, 2007).

**c. Filtración:**

Después de completar la segunda etapa de incubación, se enfriaron los matraces y se agregaron 5 mL de ácido sulfosalicílico al 20%. Las proteínas, que se han solubilizado, pero no digerido, se dejaron precipitar durante 30 min a temperatura ambiente. El residuo que queda de este proceso, se recolectó en una unidad filtradora usando crisoles de filtro de vidrio y se transfirió a un crisol con agua; después se realizaron dos lavados consecutivos de 3 min de duración cada uno con 10 mL de etanol al 96% y dos veces con 10 mL de acetona al 99% durante





3 min, con el fin de remover la grasa de la fibra, por último, al residuo indigerido se le determinaron los nutrientes que se desean evaluar (Hervera *et al.*, 2007).

$$\% \text{ Dig. corregida por el ácido} = \frac{N. \text{ residual Insol. en ácido} - N. \text{ residual Insol. en solución con pepsina}}{N. \text{ residual Insol. en ácido}} \times 100$$

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

**3.7.1. Para el primer objetivo: Determinar la dosis óptima de enzima y el tiempo de hidrólisis para la digestibilidad de proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

#### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los datos generados en la investigación se utilizó el programa InfoStat-Statistical software versión 2020I y se realizaron las siguientes pruebas:

Para el análisis proximal (proteína, grasa, ceniza, humedad), se realizó la validación estadística con una desviación estándar.

Para la histamina se consideró un DCA con arreglo factorial de AxB+1 (enzima: 0.25, 0.35 y 0.55%, tiempo: 130 y 190 más el testigo) y 3 repeticiones para cada tratamiento dando un total de 21 unidades experimentales, con un 95% de intervalo de confianza para determinar si existe diferencias significativas y para seleccionar el mejor tratamiento, se aplicó la comparación múltiple prueba de Tukey. El nivel de significancia fue de  $P \leq 0.05\%$  de probabilidad de error. Cada tratamiento se detalla en la Tabla 7.



**Tabla 7**

*Diseño experimental de la presente investigación*

<b>PARAMETROS PARA LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICO</b>		
<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>ENZIMA (%)</b>	<b>TIEMPO (min)</b>
T-1	0.25	130
T-2	0.25	190
T-1	0.25	130
T-2	0.25	190
T-1	0.25	130
T-2	0.25	190
T-3	0.35	130
T-4	0.35	190
T-3	0.35	130
T-4	0.35	190
T-3	0.35	130
T-4	0.35	190
T-5	0.55	130
T-6	0.55	190
T-5	0.55	130
T-6	0.55	190
T-5	0.55	130
T-6	0.55	190
T-7	-	-
T-7	-	-
T-7	-	-



**3.7.2. Para el segundo objetivo: Medir la digestibilidad *in vitro* de los hidrolizados a partir de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).**

**Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los datos generados en la investigación se utilizó el programa InfoStat-Statistical software versión 2020I y se realizaron la siguiente prueba.

Para la digestibilidad se consideró un DCA con arreglo factorial de  $A \times B + 1$  (enzima: 0.25, 0.35 y 0.55%, tiempo: 130 y 190 y el testigo) y 3 repeticiones cada tratamiento dando un total de 21 unidades experimentales, con un 95% de intervalo de confianza para determinar si existe diferencias significativas y para seleccionar el mejor tratamiento, se aplicó la comparación múltiple se aplicó la prueba de Tukey. El nivel de significancia fue de  $P \leq 0.05\%$  de probabilidad de error. Los tratamientos son los mismos de la Tabla 7.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el procedimiento de hidrolizado se requiere controlar el pH, por lo que en el experimento se control el pH cuyos resultados se observan en la Tabla 10 del Anexo.

#### 4.2. ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS VÍSCERAS DE TRUCHA ARCOÍRIS

##### *(Oncorhynchus mykiss)* Y SUS HIDROLIZADOS ENZIMÁTICOS.

Se realizó el análisis proximal, los resultados obtenidos de proteína, grasa, ceniza y humedad se muestran en la Tabla 8, observándose que el porcentaje nutricional de los tratamientos de hidrolizado enzimático y el patrón a partir de vísceras de trucha arco iris varía según el porcentaje de enzima y el tiempo de hidrolizado enzimático, cuyos cambios se deben también por el desengrasado que realizó.

**Tabla 8**

*Resultados promedios y desviación estándar del análisis proximal de la víscera de trucha y el hidrolizado enzimático.*

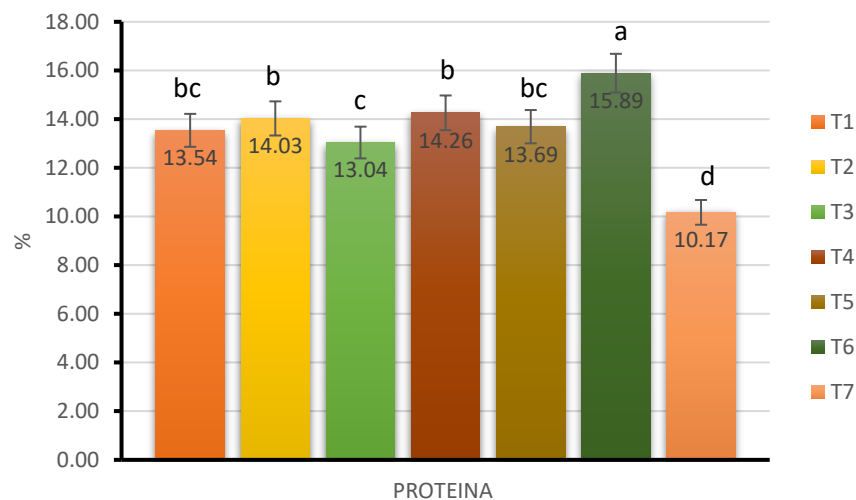
ANÁLISIS PROXIMAL (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
PROTEINA	13.54±0.30	14.03±0.24	13.04±0.40	14.26±0.49	13.69±0.28	15.89±0.11	10.17±0.12
GRASAS	8.36±0.29	8.72±0.30	9.28±0.25	8.46±0.27	9.59±0.29	9.76±0.37	24.03±0.68
CENIZAS	5.3±0.31	5.26±0.28	6.44±0.19	5.13±0.22	5.38±0.27	4.69±0.26	3.15±0.03
HUMEDAD	71.32±0.20	69.01±0.37	70.56±0.28	68.33±0.14	69.71±0.14	67.34±0.07	64.50±0.20

#### 4.2.1 Determinación de la proteína

En la Figura 10, se muestra el porcentaje de proteína de la víscera de truchas arco iris y los hidrolizados enzimáticos, mostrándose una diferencia significativa entre el T7 (testigo), con respecto a los hidrolizados enzimáticos del T1 al T6.

**Figura 10**

*Determinación de la proteína de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos*



Realizando la prueba comparativa con Tukey en el la Tabla 12 del Anexo, se observa que los tratamientos en concentrado de proteína, pasó de un 10,17% en las vísceras sin tratamiento (testigo) a 13,54% T1, 14,03% T2, 13,04% T3, 14,26% T4, 13,69% T5 y 15,89% T6, este último tratamiento obtuvo mayor porcentaje de proteína en cuanto a las vísceras con tratamiento de hidrolizado enzimático. Sin embargo, el contenido de proteína de las vísceras frescas fue inferior al reportado por (Taheri *et al.*, 2013) para la misma materia prima el cual fue del 15%, mientras que (Vásquez Mazo, 2020) determinó el porcentaje de proteína de vísceras de trucha arco iris obteniendo 8,13% y (Bermudez *et al.*,

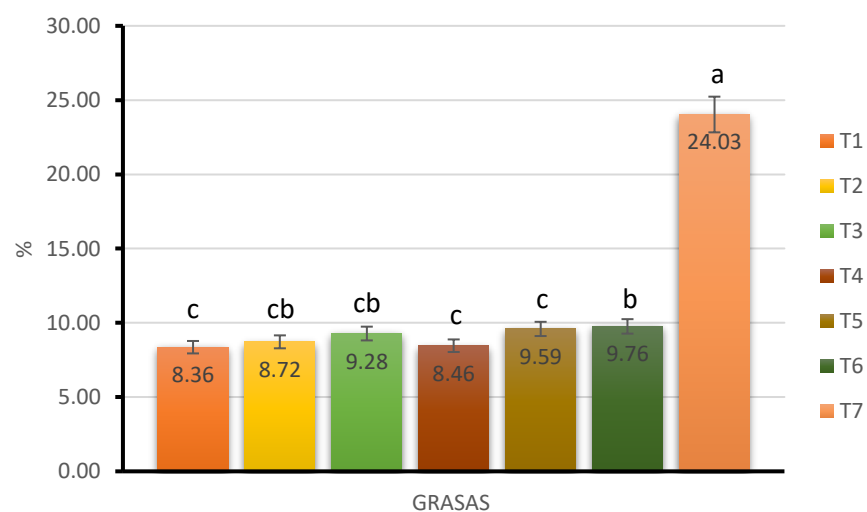
1999) determino el porcentaje de proteína de 10%. Esto puede deberse a que el análisis proximal de los órganos animales varía con respecto al tamaño, madurez sexual del pescado, condiciones nutricionales, temperatura de crecimiento y temporada de pesca (Souza *et al.*, 2020). No obstante, la variación de análisis proximal del hidrolizado va depender de la materia prima, las características de la enzima, las condiciones de concentración y de proceso utilizadas (Opheim *et al.*, 2015). La hidrolisis desde el punto de vista nutricional mejora la digestibilidad de las proteínas y facilita la absorción intestinal según (Grimble *et al.*, 1986).

#### 4.2.2 Determinación de la grasa

En la Figura 11, se muestra el porcentaje de grasa de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos, mostrándose una diferencia significativa entre el T7 (testigo), con respecto a los hidrolizados enzimáticos del T1 al T6.

#### Figura 11

*Determinación de la grasa de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos*





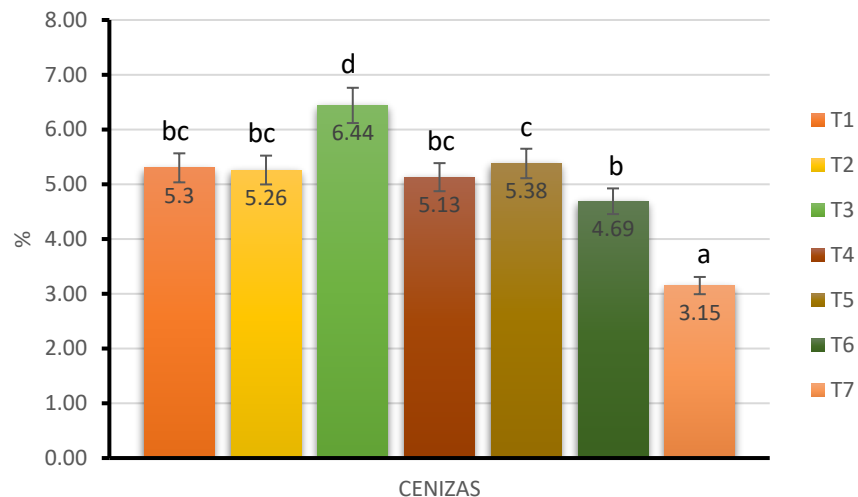
Realizando la prueba comparativa con Tukey en el la Tabla 14 del Anexo, se observa que los tratamientos en el proceso de desengrasada y centrifuga logro disminuir el porcentaje de lípidos, al pasar de un 24.03% de las vísceras de trucha arcoíris sin tratamiento (testigo) a un 8.36% T1, 8.72% T2, 9.28% T3, 8.46% T4, 9.59% T5 y 9.76% T6, considerando el mínimo valor que corresponde al T1, T4 y T5 alcanzándose una disminución aproximada del 65%, lo cual es menor al porcentaje de disminución encontrado por (Hleap Zapata & Gutiérrez Castañeda, 2017), en el proceso de desengrasado de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). Encontrando también inferior al reportado por (Taheeri *et al.*, 2013) para la misma materia prima el cual fue del 13% de lípidos, mientras que (Vásquez Mazo, 2020) determinó el porcentaje de lípidos de vísceras de trucha arco iris obteniendo 25.40%. Sin embargo, el contenido de lípidos analizados se encuentran dentro de los rangos reportados para otros hidrolizados de vísceras de pescados (Villamil *et al.*, 2017).

#### **4.2.3 Determinación de la ceniza**

En la Figura 12, se muestra el porcentaje de ceniza de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos, mostrándose una diferencia significativa entre el tratamiento 7 (testigo), con respecto a los hidrolizados enzimáticos del T1 al T6.

**Figura 12**

*Determinación de la ceniza de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos*



Realizando la prueba comparativa con Tukey en el la Tabla 16 del Anexo, se observa que los tratamientos para la determinación de cenizas, pasó de un 3.16% en la víscera sin tratamiento (testigo) a un 5.3% T1, 5.26% T2, 6.44% T3, 5.13% T4, 5.38% T5 y 4.69% T6, considerando el máximo valor que corresponde al T3, alcanzándose un aumento aproximado del 85.59%. Sin embargo, el contenido de ceniza de las vísceras frescas fue mayor al reportado por (Taheri *et al.*, 2013) para la misma materia prima el cual fue del 2.73%, mientras que (Vásquez Mazo, 2020) determinó el porcentaje de ceniza de vísceras de trucha arco iris obteniendo 1.92%. El alto contenido de cenizas se debe a que tenían mucha residuos y espinas. También esto puede deberse principalmente a la cantidad de hidróxido de sodio adicionado para mantener constante el pH en el proceso de hidrólisis. Sin embargo, el contenido de ceniza se encuentran dentro de los rangos reportados para otros hidrolizados de vísceras de pescados (Villamil



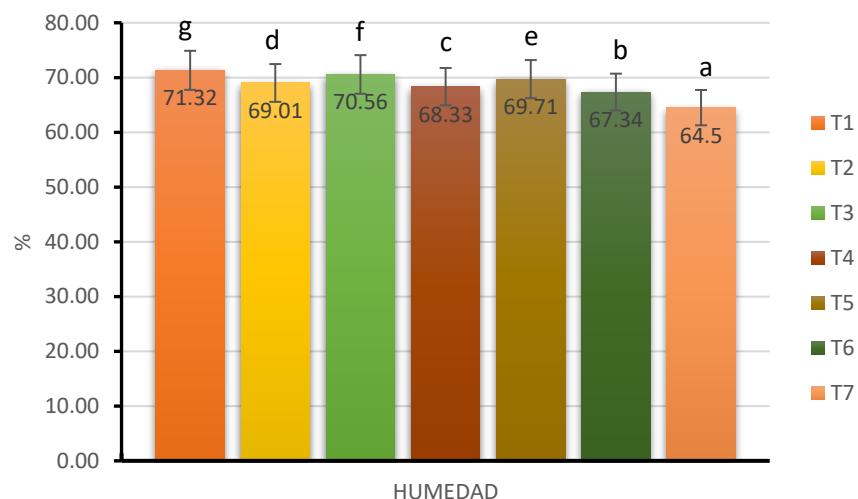
*et al.*, 2017). Si el contenido de cenizas es superior al 23% la calidad de aminoácidos de proteína es probable que disminuya según (Romero *et al.*, 1994).

#### 4.2.4 Determinación de la Humedad

En la Figura 13, se muestra el porcentaje de ceniza de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos, mostrándose una diferencia significativa entre el T7 (testigo), con respecto a los hidrolizados enzimáticos del T1 al T6.

#### Figura 13

*Determinación de la humedad de la víscera de trucha arco iris y los hidrolizados enzimáticos*



Realizando la prueba comparativa con Tukey en el la Tabla 18 del Anexo, se observa que los tratamientos en porcentaje de humedad, pasó de un 64.5% en la víscera sin tratamiento (testigo) a un 71.32% T1, 69.01% T2, 70.56% T3, 68.33% T4, 69.71% T5 y 67.34% T6, el cual se encuentran dentro del rango de humedad (60 – 72%) reportado para algunas vísceras de especies acuícolas, como salmón (*Salmo salar*) (Opheim *et al.*, 2015) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Taheri *et al.*, 2013) para la misma materia prima el cual fue del 71.65%,

mientras que (Vásquez Mazo, 2020) determinó el porcentaje de Humedad de vísceras de trucha arco iris obteniendo 62.42%. Sin embargo, esto puede deberse a que la composición proximal de los órganos animales varía con respecto al tamaño, el sexo del pescado, condiciones nutricionales, temperatura de crecimiento, temporada de pesca y otros factores (Souza *et al.*, 2020) y (Huss, 1988).

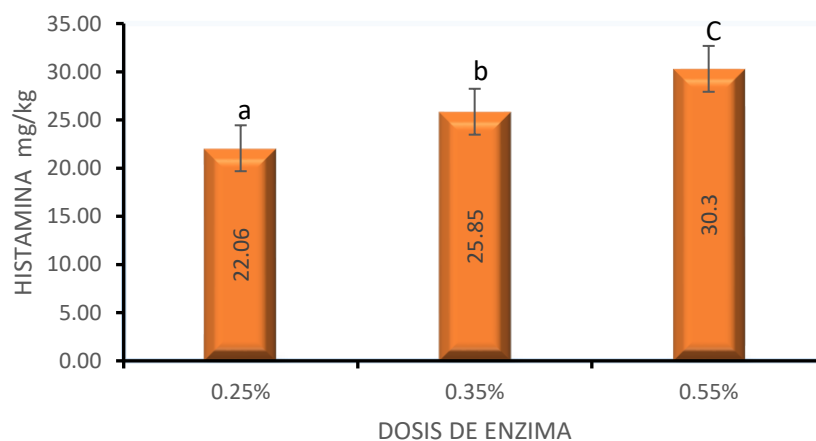
#### 4.4. HISTAMINA

De acuerdo al ANVA de Tabla 19 del Anexo los factores tiempo y dosis de enzima, además de su interacción presentan significancia.

Realizando la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 20 del Anexo, el factor dosis de enzima en la hidrólisis para la variable histamina fue significativa, según la Figura 14 el factor dosis de enzima de 0.35 y 0.55% de los tratamientos T3, T4, T5 y T6 tienen mayor cantidad de histamina, pero el factor con dosis de enzima de 0.25% de los tratamientos T1 y T2 tiene el mejor desempeño en cuanto al contenido de histamina por ser menores.

#### Figura 14

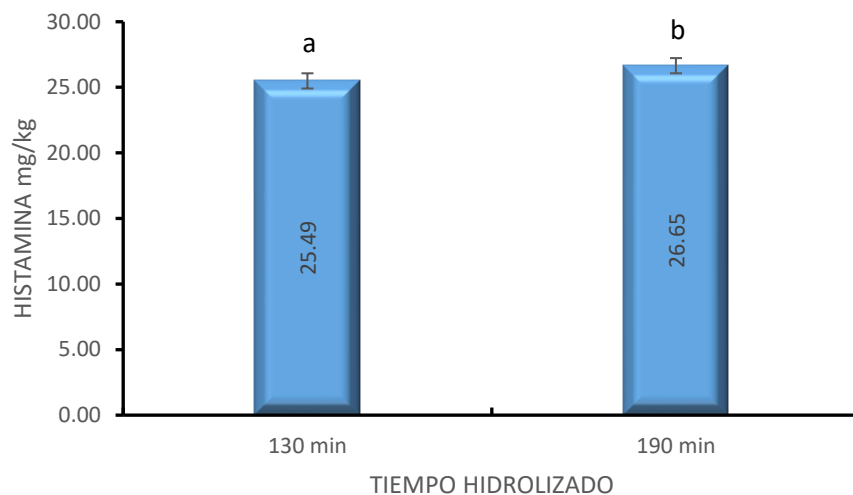
*Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función de la dosis de enzima*



Realizando la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 21 del Anexo, el factor tiempo de hidrólisis fue significativo. En la Figura 15 el factor tiempo de hidrólisis de 190 min tienen mayor cantidad de histamina, pero el factor tiempo de hidrólisis de 130 min tiene el mejor desempeño en cuanto a la cantidad de histamina por ser menor.

### Figura 15

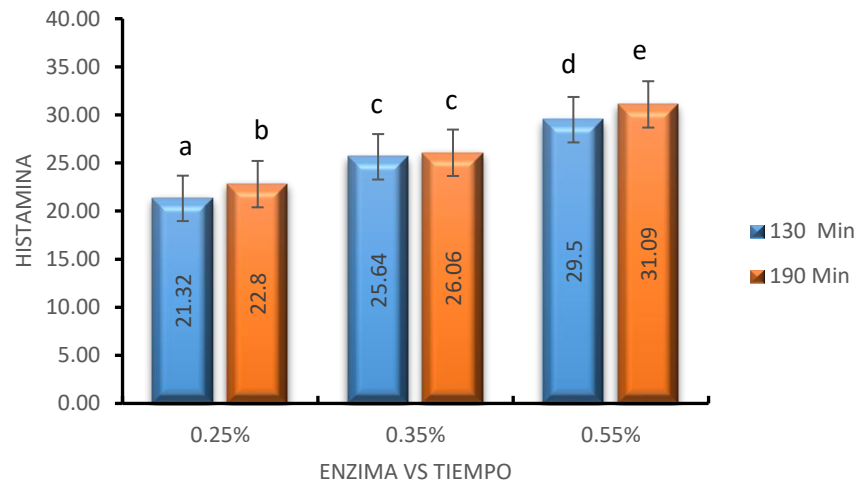
*Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función del tiempo de hidrolizado*



De acuerdo al ANVA de Tabla 19 del Anexo, con el nivel de significancia del 5%, se puede afirmar que la interacción entre los factores dosis de enzima y tiempo de hidrólisis afecta de forma diferenciada la histamina en el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris. En la Figura 16, respecto a la interacción de los factores muestra que el T1 (enzima 0.25% y tiempo 130 min) tuvo un mejor comportamiento sobre la histamina ya que sus valores son menores comparados con los demás tratamientos, realizando la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 22 del Anexo.

**Figura 16**

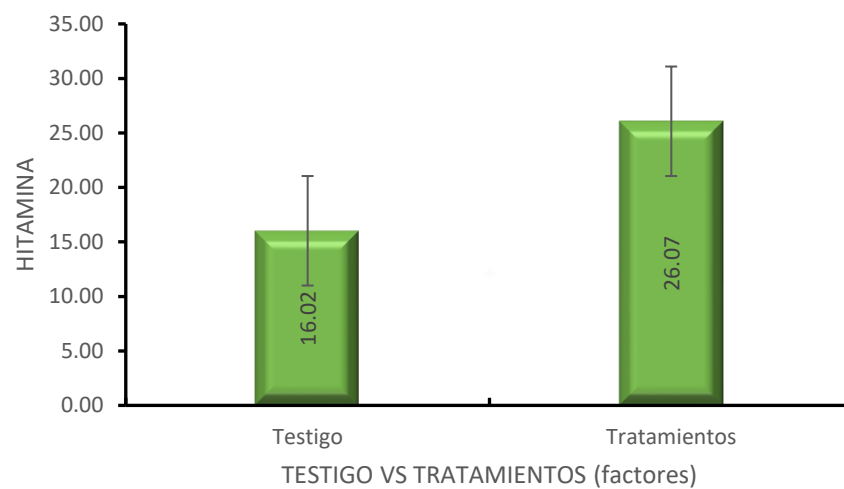
*Prueba de significancia de Tukey para la Histamina en función de la interacción*



De acuerdo al ANVA de la Tabla 19 del Anexo, el contraste tratamientos vs él testigo fue significativo. Respecto al contraste, en la Figura 17 se muestra que los factores dosis y tiempo tuvieron influencia en los tratamientos, por lo que el valor de los tratamientos fue mayor que el testigo.

**Figura 17**

*Comparación del testigo (T7) vs tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6)*





Respecto a la histamina (Tabla 9 del Anexo) se obtuvo 26.07 mg/kg promedio para los tratamientos y 16.02 mg/kg para el testigo; encontrándose muy por debajo de los límites permisibles, ya que para este tipo de hidrolizados se utilizan materias primas en óptimas condiciones, el consumo humano de pescado fresco no puede superar los 100 mg/kg (SANIPES, 2016). La baja cantidad de histamina en el hidrolizado de proteína de anchoveta en polvo fue atribuida a la materia prima utilizada de manera adecuada, así como a las buenas condiciones de proceso durante el proceso de elaboración. Hleap Zapata & Gutiérrez Castañeda, (2017) indican que los usos y aplicaciones de una proteína hidrolizada con una composición final de ciertos péptidos dependerán del material de partida del que se origina la proteína, la enzima o enzimas utilizadas, los parámetros de la reacción de hidrólisis y el grado de hidrólisis alcanzado.

Según (Ricque-Marie *et al.*, 1998) demostraron que la frescura de la materia prima indicada en términos de vísceras no tratadas en la materia prima debe ser menor de 300 mg/kg o por la suma del contenido de las aminas en el producto final menor de 2000 mg/kg es un parámetro de calidad que debe ser considerado cuando se seleccionan harinas de pescado para alimentos de camarón. Huss, (1988), indica que se encontró histamina en los ensilados preparados con residuos crudos de trucha, eso indicaría la presencia del aminoácido histidina.

En el presente estudio, todos los tratamientos tuvieron niveles de histamina inferiores a los límites máximos permitidos para el consumo humano (menor de 200 mg de histamina por kilogramo de pescado). Los valores de histamina obtenidos en esta investigación fueron inferiores a los reportados por (Albrecht y Salas, 2013 mencionado por Silva Ortiz, 2003) de 549 mg histamina/kg (15 días de almacenamiento del ensilado al ambiente) y 708 mg histamina/kg (90 días de almacenamiento al ambiente). También SANIPES (2010) indica que en los productos de la pesca procedentes de especies de



pescados asociados a un alto contenido de histidina considera 200mg/kg como valor límite. El límite máximo para el consumo humano de productos de pesca que han sido sometidos a un tratamiento de maduración enzimática en salmuera producidos a partir de especies de pescados con un alto contenido de histidina es de 400 mg/kg. La Comunidad Europea indica un límite máximo de histamina de 100mg/kg, mientras que la FDA (Food Drug Administration) indica que, para el consumo humano, los niveles no deben superar los 50mg/kg para el pescado y los 200mg/kg para el pescado enlatado. En harina de pescado se establecen niveles promedios máximos de histamina según el tipo de harina: súper prime (250mg/kg), prime (600mg/kg) y estándar (por encima de 600mg/kg) (Fernández, 2002). En Chile en un principio se consideraron 1500 mg/kg como valor límite, para una harina de pescado de buena calidad, luego este valor se rebajó hasta 1000 mg/kg, sin embargo, algunos países plantean un máximo de 300 mg/kg, cifra que se estima baja y difícil de lograr en forma regular en el producto chileno (Zaldívar, 1992).

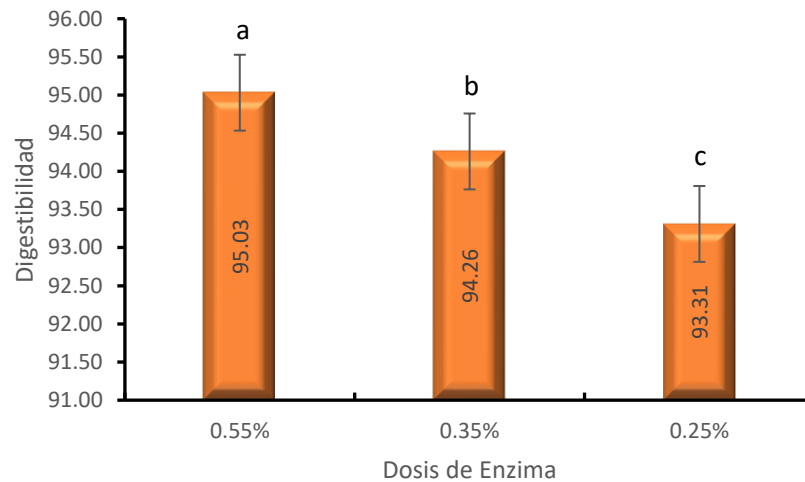
#### **4.5. DIGESTIBILIDAD**

De acuerdo al ANVA de la Tabla 24 del Anexo, los factores tiempo y dosis de enzima, además de su interacción presentan significancia.

Realizado la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 25 del Anexo, el factor dosis de enzima en la hidrólisis para la variable digestibilidad fue significativa, según la Figura 18 el factor dosis de enzima del T6 con 0.55% tuvo mayor porcentaje de digestibilidad, sin embargo, el factor dosis de enzima del T1 con 0.25% tuvo el menor desempeño en cuanto al porcentaje de digestibilidad por ser menor.

**Figura 18**

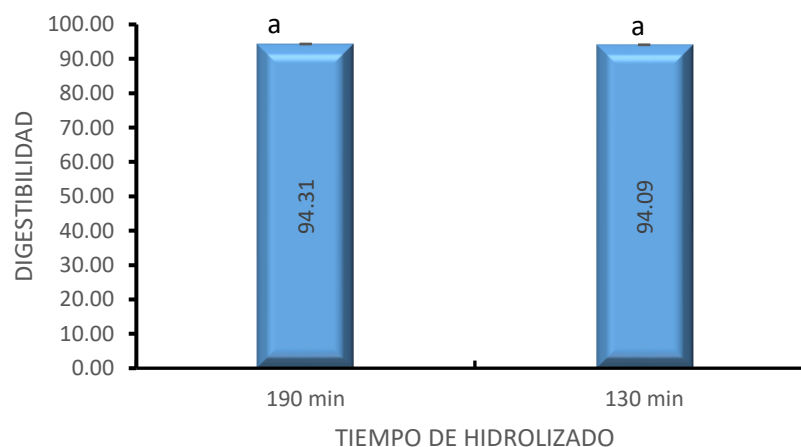
*Prueba de significancia de Tukey para las diferentes dosis de enzima.*



Realizando la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 26 del Anexo, el factor tiempo de hidrólisis no fue significativo entre los tiempos de hidrólisis, es decir son iguales a un nivel de significancia de 5% como se muestra en la Figura 19, a pesar de que en el ANVA demostró significancia (Tabla 23 del Anexo), por lo que consideramos que ambos tiempos son adecuado, se eligió el tiempo de 130 min.

**Figura 19**

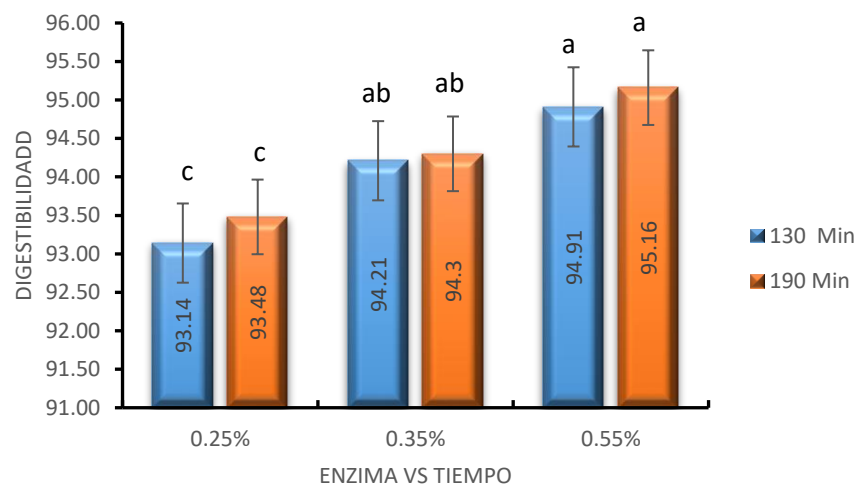
*Prueba de significancia de Tukey para el tiempo del hidrolizado*



De acuerdo al ANVA de Tabla 24 del Anexo, con el nivel de significancia del 5%, se puede afirmar que la interacción entre los factores dosis de enzima y tiempo de hidrólisis afecta de forma diferenciada la digestibilidad en el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris. En la Figura 20, respecto a la interacción de los factores muestra que el tratamiento T5 (enzima 0.55% y tiempo 130 min) y el T6 (enzima 0.55% y tiempo 190 min) tuvieron un mejor comportamiento sobre la digestibilidad ya que sus valores son mayores comparados con los demás tratamientos, realizando la prueba comparativa con Tukey de la Tabla 27 del Anexo, tomando como mejor tratamiento al T6 por su mayor porcentaje de digestibilidad de un 95.16%.

### Figura 20

*Prueba de significancia de Tukey para la digestibilidad en función de la interacción*

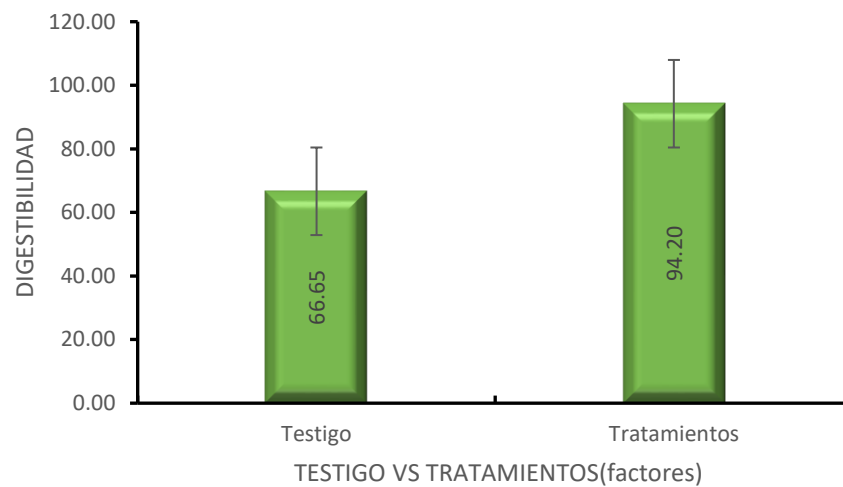


De acuerdo al ANVA de la Tabla 24 del Anexo, el contraste tratamientos vs el testigo fue significativo. Respecto al contraste, en la Figura 21 se muestra que los factores dosis y tiempo tuvieron influencia en los tratamientos, por lo que el valor de los tratamientos fue mayor que el testigo.



**Figura 21**

*Comparación del testigo (T7) vs tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5, T6)*



Respecto a la digestibilidad (Tabla 9 del Anexo), se consideró como mejor tratamiento al T6 (enzima 0.55% y tiempo 190 min) mostrando un mejor comportamiento, se obtuvo un promedio de digestibilidad de 66.65% para el testigo y un promedio de 94,2% para los 6 tratamientos, siendo T5 (enzima 0.55% y 130 min) con 94,91% y T6 (enzima 0.55% y 180 min) con 95,16% los tratamientos con mayor digestibilidad. Los tratamientos con menos dosis de enzima como es el tratamiento T1 (enzima 0.25 y 130min) y T2 (0.25% y 130 min) presentaron menor porcentaje de digestibilidad, estos resultados son respaldados por el estudio realizado por (Andrea *et al.*, 2016), donde evidenció en la hidrólisis enzimática de vísceras de tilapia roja que a mayor tiempo de reacción se obtiene mayor grado de hidrólisis y que la mayor velocidad de reacción se alcanza durante las tres primeras horas de hidrólisis. Al respecto, (Bourgeois y Le Roux 1986), la velocidad de hidrólisis está relacionada con la concentración de la enzima, como lo hacen todas las reacciones enzimáticas; Sin embargo, solo a partir de una cierta concentración es posible la autodigestión de la proteasa, lo que provoca un efecto antagonista. (Rebeca *et al.*, 1991) lograron la hidrólisis



de *Mugil cephalus* mediante el uso de tres enzimas proteolíticas bacterianas con concentraciones que oscilaban entre el 0 y el 1%.

Según Lavid, (2019) encontraron una digestibilidad de 96.92% en 3 h siendo esta la dosis más alta de proteasa, no obstante Peña (2008) y Omote (2012) hicieron hidrólisis enzimática de Pota (*Dosidicus gigas*) y encontraron más péptidos solubles a concentraciones de proteasa de 0,5% (p/v) y 0,7% (p/v). Según Bourgeois y Le Roux (1986), existe una proporción entre la reacción enzimática y la concentración de enzimas. Esto se encuentra en línea con los hallazgos ya que los tratamientos T4 (enzima 0.35% y 190 min) y T6 (enzima 0.55% y 190 min) obtuvieron una mayor dosis de enzima a un mayor tiempo de hidrólisis presentan mayor digestibilidad. Por otro lado, Vasquez Mazo, (2020) encontraron que las partes del pescadopartes de Rodaballode Rodaballo (*Scophthalmus maximus*) sometidas a hidrólisis con alcalasa tuvieron una alta tasa de digestión (>83%), contenido de proteína soluble (>62 g/L), grado de hidrólisis (30-37%) y digestibilidad. En (*Scophthalmus maximus*) sometido a hidrólisis con alcalasa tuvo una alta tasa de digestión (>83%), contenido de proteína soluble (>62 g/L), grado de hidrólisis (30-37%), digestibilidad en casi completo (superior al 92%), un gran perfil de aminoácidos, perfil de aminoácidos y una elevada actividad antihipertensiva y antioxidante. La utilización de diferentes técnicas y materias primas utilizadas en la elaboración de los hidrolizados biológicos, muestran mucha divergencia en su composición (Padilla-Pérez, 2006). Por esta razón existen controversias entre autores sobre la eficiencia alimenticia; ya que hay quienes aseguran que la digestibilidad del hidrolizado es cerca del 100% y de la harina de pescado fluctúa entre 75 y 80% (Padilla-Pérez, 2006). Por otro lado, Baca et al. (1991), obtuvieron concentraciones de proteína entre 70 y 85% al hidrolizar salmón eviscerado con enzimas bacterianas. Sin embargo, durante los procesos normales de producción los residuos se someten a temperaturas



elevadas que generan reacciones químicas que reducen la digestibilidad de las proteínas, la biodisponibilidad de aminoácidos, ácidos grasos esenciales y además se pueden formar compuestos tóxicos que perjudican la calidad de los productos terminados (Chalamaiah *et al.*, 2012).

Villarreal-Cavazos *et al.*, (2008) reportó para harinas de pescado un promedio de digestibilidad *in vitro* del 74% datos que concuerda con el reportado por (Nieto, 2003) a pesar de que las harinas de pescado eran diferentes, la harina de menhaden registró una digestibilidad *in vitro* del 81,7% siendo superior. El conocimiento de los coeficientes de digestibilidad viabiliza la inclusión de una gran variedad de productos y subproductos de la agroindustria en raciones para peces (Meurer *et al.*, 2003). Al respecto, Badui (2006) Menciona que la temperatura aumenta la energía cinética de las moléculas, eso que provoca un incremento en la velocidad de las reacciones enzimáticas; Sin embargo, esto solo sucede en el intervalo donde la enzima se establece. La exposición de la enzima a una temperatura equivalente al límite superior de su rango operativo resultó en su desensibilización y, en consecuencia, en la pérdida de su capacidad catalítica.

Fagbenro & Jauncey, (1995) reportó que el Corolase 8000 presenta ventajas por su menor precio y mejor resultados para el rompimiento de cadenas proteicas. Además, proporciona capacidad ligante, lo que mejora la estabilidad y las características sensoriales del hidrolizado y los alimentos que lo contienen. La enzima Corolase 8000 presenta una actividad bastante inespecífica, pero con cierta preferencia por los aminoácidos hidrofóbicos alanina, tirosina y fenilalanina cuando están presentes en sustratos de moléculas pequeñas (BRENDA, 2016). No obstante, la hidrólisis obtenida tiene una digestibilidad mejorada, lo que demuestra sus propiedades nutricionales y reportado por el porcentaje de digestibilidad.



## V. CONCLUSIONES

- La dosis óptima para el contenido de enzima y tiempo en el hidrolizado enzimático fue el tratamiento 6 con 0.55% de Corolase 8000 y tiempo de 190 min, no obstante, considerando la relevancia, el tratamiento 1 con 0.25% de Corolase 8000 y tiempo de 130 min influye significativamente sobre la histamina.
- La digestibilidad *in vitro* del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris dio como mejor resultado el tratamiento 6 con 0.55% de Corolase 8000 y tiempo de 190 min, obteniendo un sobresaliente porcentaje del 95.16% de digestibilidad, mientras que el tratamiento 1 con 0.25% de Corolase 8000 y tiempo de 130 min obtuvo solamente el 93.14% de digestibilidad.



## VI. RECOMENDACIONES

- Usar residuos de pescado fresco o congelados para evitar que las aminas biogénicas afecten la calidad del producto final.
- Se sugiere utilizar la tecnología de elaboración de hidrolizado para producir dos subproductos de alta calidad nutricional: aceite y proteína soluble.
- Realizar el estudio de hidrólisis a partir de cabeza, cola y frescos de trucha arco iris.
- Realizar el estudio del uso alternativo de los subproductos para ensilados como fuente complementaria en alimentación animal.
- En la hidrólisis enzimática, utilizar hidróxido de potasio KOH en lugar de KOH porque el NaOH aumenta el contenido de sales y el KOH aumenta el contenido de K en el hidrolizado proteico.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson J., S. Lall, D. Anderson and M. Meniven, (1993). "Evaluation of protein quality in fish meal by chemical and biological assays". *Aquaculture*, 115: 305-325.
- A.O.A.C. (1990). Official Methods Analysis. *Association of Official Analytical Chemists*, 1 (Volume 1), 73–80. <https://doi.org/10.7591/cornell/9781501766534.003.0007>
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(6), 1256–1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>
- Andrea, J. B. S., Nelly, O. D. B., & José, E. Z. M. (2016). Efecto de Temperatura, pH, Concentración de Sustrato y Tipo de Enzima en la Hidrólisis Enzimática de Vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*). *Informacion Tecnologica*, 27(6), 63–76. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000600007>
- Antonio María, G. E. (2001). *UNIVERSIDAD DE GRANADA TESIS DOCTORAL Antonio María Guadix Escobar.*
- Arciniega Alvarado, G. A. (2017). *Determinación de histamina por el método de elisa en pescado fresco comercializado en el mercado municipal "el arenal" de la ciudad de cuenca.* 1160–1170.
- Arvanitoyannis, I. (2014). *Chapter 11 . Fish Waste Management . In : " Seafood Processing : Technology , Quality and Safety " (Issue April).*
- Aspevik, T., Oterhals, Å., Rønning, S. B., Altintzoglou, T., Wubshet, S. G., Gildberg, A., Afseth, N. K., Whitaker, R. D., & Lindberg, D. (2017). Valorization of Proteins from Co- and By-Products from the Fish and Meat Industry. *Topics in Current Chemistry*,



375(3), 123–124. <https://doi.org/10.1007/s41061-017-0143-6>

- Aspmo, S. I., Horn, S. J., & Eijsink, V. G. H. (2005). Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40(5), 1957–1966. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.07.011>
- Augusto, L., Pascoal, F., Carvalho, E., Miranda, D., & Filho, S. (2006). *Revista Eletrônica Nutritime* 287. 287–298.
- Aurrekoetxea, G., & Perera, M. N. (2002). Aprovechamiento de recursos pesqueros infrautilizados para la obtención de alimentos mejorados para el cultivo de peces. *Boletín - Instituto Español de Oceanografía*, 18(1–4), 87–93.
- B. Rust, M. (2002). Nutrient Physiology. In *Fish Nutrition*.
- Behnke, R. J. (1992). Native Trout of Western North America. In *American Fisheries Society* (Vol. 6). <https://doi.org/10.5962/bhl.title.149991>
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones Protein hydrolysates: processes and applications R esumen. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 227–237.
- Benjakul, S., Yarnpakdee, S., Senphan, T., Halldorsdottir, S. M., & Kristinsson, H. G. (2014). Fish protein hydrolysates: Production, bioactivities, and applications. *Antioxidants and Functional Components in Aquatic Foods*. <https://doi.org/10.1002/9781118855102.ch9>
- Bermudez, J. E., Rodriguez, J. H., Ocampo, A., & Peñuela, L. (1999). Ensilaje de vísceras de pescado Cachama blanca (*Piaractus brachyponum*) como fuente de proteína para la alimentación de cerdos de engorde en una dieta con aceite crudo de palma (*Elaeis*



- guineensis - *Elaeis oleifera*). *Livestock Research for Rural Development*, 11(2), 79–89.
- Boisen, S., & Fernández, J. A. (1995). Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. *Animal Feed Science and Technology*, 51(1–2), 29–43. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00686-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00686-4)
- Bougatef, A. (2013). Trypsins from fish processing waste: Characteristics and biotechnological applications - Comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 57, 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.06.005>
- Cavieres, C. L. (2010). Determinación de la pérdida de calidad funcional, química, sensorial y microbiológica del belly de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) durante su conservación en refrigeración. *Universidad de Chile*. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/115625>
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>
- Churacutipa Mamani, M. (2016). Obtención de un ensilado biológico a partir de residuos de trucha (*Oncorhynchus mykiss*). *Universidad Nacional Del Altiplano*, 103.
- de Souza, A. F. L., Petenuci, M. E., Camparim, R., Visentainer, J. V., & da Silva, A. J. I. (2020). Effect of seasonal variations on fatty acid composition and nutritional profiles of siluriformes fish species from the amazon basin. *Food Research International*, 132, 109051. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109051>





- Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H. G., & Marshall, M. R. (2011). Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. *Food Chemistry*, *124*(0), 640–645.
- Eid, A. E., & Matty, A. J. (1989). A simple *in vitro* method for measuring protein digestibility. *Aquaculture*, *79*(1–4), 111–119. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90451-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90451-1)
- Espinoza, A. (2017). “Digestibilidad De Nutrientes Y Energía Digestible De Torta De Soya (*Glycine Max*) En Juveniles De Sábalo Cola Roja (*Brycon Erythropterum*).” *Universidad Nacional Agraria*, 10–12.
- Espinoza, D., & Castillo, A. (2022). Technological advances in obtaining, identifying and producing protein hydrolysates from fish residues by enzymatic action: bioactive and techno-functional properties, application in food, market and regulation. *Scientia Agropecuaria*, *13*(2), 135–148. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.012>
- Fagbenro, O., & Jauncey, K. (1995). *Growth and protein utilization by juvenile catfish (Clarias gariepinus) fed dry diets containing co-dried lactic-acid-fermented fish-silage and protein feedstuffs*. *Bioresource Technology*, *51*(1), 29–35. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)00064-8](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)00064-8)
- FAO. (1986). *Food and Nutrition Papers* (14/7). Manuals of Food Quality Control.
- FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. In *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014*. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- FAO. (2018). Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y Alimentación. In *American Society of Mechanical Engineers, Pressure Vessels and Piping Division*



(Publication) PVP (Vol. 2). <https://doi.org/10.1115/PVP2013-97440>.

- Flores Jalixto, M. A. (2017). *Elaboracion de biofertilizante liquido utilizando subproductos del procesamiento de trucha (Oncorhynchus mykiss)*. 108. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3271/florez-jalixto-marco-antonio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- FONDEPES. (2014). *Trucha Trucha*. 6–70. [https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/MANUAL\\_TRUCHA.pdf](https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/MANUAL_TRUCHA.pdf)
- Grimble, G. K., Keohane, P. P., Higgins, B. E., Kaminski, M. V., & Silk, D. B. (1986). Effect of peptide chain length on amino acid and nitrogen absorption from two lactalbumin hydrolysates in the normal human jejunum. *Clinical Science*, *71*(1), 65–69. <https://doi.org/10.1042/cs0710065>
- Guadix, A. (2000). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, *41*(1), 79–89.
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, *50*(1), 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
- Hervera, M., Baucells, M. D., Blanch, F., & Castrillo, C. (2007). Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *91*(5–6), 205–209. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00693.x>
- Hleap Zapata, J. I., & Gutiérrez Castañeda, C. A. (2017). Hidrolizados de pescado-producción, beneficios y nuevos avances en la industria. - Una revisión. *Acta Agronomica*, *66*(3), 311–322. <https://doi.org/10.15446/acag.v66n3.52595>



- Huss, H. H. (1988). El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Jesus, R. de, & Almeida, J. C. de. (2011). Concentrado Proteico de Pescado. *Tecnologia Do Pescado*, 381–384.
- Kim, S. B., Shin, H. S., & Lim, J. W. (2004). Separation of calcium-binding protein derived from enzymatic hydrolysates of cheese whey protein. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(5), 712–718. <https://doi.org/10.5713/ajas.2004.712>
- Kotzamanis, Y., Alexis, M., Andriopoulou, A., Castritsi-Cathariou, I., & Fotis, G. (2001). *Utilization of waste material resulting from trout processing in gilthead bream (Sparus aurata L.) diets*. *Aquaculture Research*, 32(Suppl. 1), 288–295. [c:%5CUsers%5CRich%5CDocuments%5CWork%5CAquaculture waste%5CRecycling waste%5CMorts and processing%5CRecycling and processing solutions%5CFish meal%5CTrout processing wastes in seabream diets.pdf](https://doi.org/10.1055/s-0011-1000000)
- Kristinsson, H. G. (2006). *Aquatic food protein hydrolysates*. In *Maximising the Value of Marine By-Products*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845692087.2.229>
- Kristinsson, Hordur G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 40, Issue 1). <https://doi.org/10.1080/10408690091189266>
- Lavid, E. (2019). Determinación de dosis de enzimas y tiempos óptimos de hidrólisis para mejorar la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado. *Escuela*



- Superior Politecnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López "Espammfl"*, 1–74. <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1055/1/TTMAI5.pdf>
- Liceaga-Gesualdo, A. M., & Li-Chan, E. C. Y. (1999). Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 64(6), 1000–1004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb12268.x>
- Macebo, P. (2015). *Nivel de energía y proteína en la dieta sobre la formación de residuos en cultivos de truchas arco iris*. 81. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2632>
- Martines, R. (2003). PRODUCCION DE UN ENSILADO BIOLOGICO A PARTIR DE VISCERAS DE PESCADO DE LAS ESPECIES *Prochilodus mariae* (coporo), *Pseudoplatystoma fasciatum* (bagre rayado) y *Phractocephalus hemiliopterus* (cajaro). *Zitteliana*, 19(8), 159–170. *bisnis ritel - ekonomi*
- Martínez-Medina, G. A., Barragán, A. P., Ruiz, H. A., Ilyina, A., Hernández, J. L. M., Rodríguez-Jasso, R. M., Hoyos-Concha, J. L., & Aguilar-González, C. N. (2018). Fungal proteases and production of bioactive peptides for the food industry. In *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00014-1>
- Martínez, G. (2017). ARCO IRIS Manual de capacitación para la participación comunitaria Sanas y Modos de Vida. *Manual, November*, 1–26.
- Meurer, F., Hayashi, C., & Boscolo, W. R. (2003). Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(6 suppl 2), 1801–1809. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982003000800001>



- Nieto, M. (2003). Desarrollo de una tecnica de digestibilidad *in vitro* para el control de harinas de pescado y alimentos para camaron. *Técnica de Digestibilidad in vitro*.
- Opheim, M., Šližyte, R., Sterten, H., Provan, F., Larssen, E., & Kjos, N. P. (2015). Hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) rest raw materials - Effect of raw material and processing on composition, nutritional value, and potential bioactive peptides in the hydrolysates. *Process Biochemistry*, 50(8), 1247–1257.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.017>
- Osorio, V., & Llerena, A. (2018). Produccion y caracterizacion bioquimica de hidrolizado Enzimático Elaborado a Partir De Los Residuos De La Pesca. *Alternativas*, 29 (2)(1390–1915), 97–106.  
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7028376>
- Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A., & Shabanpour, B. (2012). Chemical and Biochemical Hydrolysis of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Visceral Protein. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 460–465.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-009-0284-x>
- PADILLA-PÉREZ, P. P. (2006). Técnica Del Ensilado Biológico De Residuos De Pescado Para Ración Animal. *Folia Amazónica*, 8(2), 147.  
<https://doi.org/10.24841/fa.v8i2.328>
- PRODUCE. (2016). Estadístico Pesquero y Acuícola 2016. *Ministerio de La Producción*.
- PRODUCE. (2017). Estudio De La Situación Actual De Las Empresas Peruanas. *Ministerio de La Produccion Del Perú*, 182.  
[http://demi.produce.gob.pe/images/publicaciones/publi81171136fe74561a7\\_79.pdf](http://demi.produce.gob.pe/images/publicaciones/publi81171136fe74561a7_79.pdf)
- PRODUCE. (2021). *Anuario Estadistico Pesquero y Acuicola*. 1–113.



- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., & Tiwary, A. K. (2012). Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, *132*(3), 1113–1120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.063>
- QUISPE, S., & GUTIERREZ, L. D. (2019). “Extracción Del Colágeno a Partir De Los Residuos De La Trucha Y Determinación Del Rendimiento Y Su Aplicación Como Gelatina.” *Journal of Chemical Information and Modeling*, *53*(9), 1689–1699.
- Ramírez, J., Sandoval, N., & Vicente, K. (2018). Sistema Nacional De Innovación en Pesca Y Acuicultura, fundamentos y propuestas 2017-2022. In *Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura*.
- REBECA, B. D., PEÑA-VERA, M. T., & DÍAZ-CASTAÑEDA, M. (1991). Production of Fish Protein Hydrolysates with Bacterial Proteases; Yield and Nutritional Value. *Journal of Food Science*, *56*(2), 309–314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb05268.x>
- Ricque-Marie, D., Abdo-de La Parra, M. I., Cruz-Suarez, L. E., Cuzon, G., Cousin, M., & Pike, I. H. (1998). Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture*, *165*(1–2), 95–109. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00229-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00229-4)
- Roldán A., D., Omote-Sibina, J., & Molleda O., A. (2021). ELABORACIÓN DE UN HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) EN POLVO. *Anales Científicos*, *82*(2), 251–261. <https://doi.org/10.21704/ac.v82i2.1787>
- Romero, J. J., Castro, E., Díaz, A. M., Reveco, M., & Zaldívar, J. (1994). Evaluation of methods to certify the “premium” quality of Chilean fish meals. *Aquaculture*, *124*(1–



- 4), 351–358. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90408-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90408-1)
- SANIPES. (2016). *15\_R\_DE\_N\_057\_2016\_A1.pdf*.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Novel functional food ingredients from marine sources. *Current Opinion in Food Science*, 2, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.12.009>
- Silva, J. F. X., Ribeiro, K., Silva, J. F., Cahú, T. B., & Bezerra, R. S. (2014). Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. *Animal Feed Science and Technology*, 196, 96–106. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.010>
- Silva Ortiz, D. (2003). Elaboración de harina de pescado. *AquaDocs*, 132.
- Suarez, D. C. (2010). *Obtención de un hidrolizado de proteína de pescado a partir de tilapia roja (Oreochromis sp.)* (pp. 1–49). <http://www.bdigital.unal.edu.co/2786/1/107411.2010.pdf>
- Taheri, A., Anvar, S. A. A., Ahari, H., & Fogliano, V. (2013). Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 154–169.
- Taylor, P., Kristinsson, H. G., Rasco, B. A., Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2010). *Fish Protein Hydrolysates : Production , Biochemical , and Functional Properties* *Fish Protein Hydrolysates : Production , Biochemical , and Functional* (Issue August 2015).
- Torres, J. A., Rodrigo-García, J., Jaczynski, J., & Chen, Y. C. (2006). Recovery of by-



- products from seafood processing streams. *Maximising the Value of Marine By-Products*, 65–90. <https://doi.org/10.1533/9781845692087.1.65>
- Valerio, J. R., Pandia, S. E., Gallo, M. E., & Pizardi, C. A. (2023). Optimización de la hidrólisis enzimática de anchoveta (*Engraulis ringens*) para minimizar el amargor. *Información Tecnológica*, 34(1), 31–46. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642023000100031>
- Vasquez Mazo, P. (2020). PROTEÍNAS DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) CON PROPIEDADES BIOACTIVAS Y / O FUNCIONALES. *Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 1–242.
- Villamil, O., Váquiro, H., & Solanilla, J. F. (2017). Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. *Food Chemistry*, 224, 160–171. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.057>
- Villarreal-cavazos, D. A., Ricque-marie, D., Tapia-salazar, M., Nieto-lópez, M., Guajardo-barbosa, C., Lemme, A., & Cruz-suárez, E. (2008). Digestibilidad Aparente de Aminoácidos de 10 Harinas d Pescado Utilizadas en Alimentos Comerciales Para Camarón Blanco (*L. vannamei*) en México. *Avances En Nutrición Acuícola Volumen IX*, 382–409.
- Vioque, J., & Millán, F. (2005). Los hidrolizados proteicos en alimentación: Suplementos alimenticios de gran calidad funcional y nutricional. *Agrocsic*, 2–8. <http://hdl.handle.net/10261/5750>
- Windsor, M., & Barlow, S. (1984). *Introducción a los subproductos de pesquería*.
- Yin, S. W., Tang, C. H., Cao, J. S., Hu, E. K., Wen, Q. B., & Yang, X. Q. (2008). Effects





of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (Cannabis sativa L.) protein isolate. *Food Chemistry*, 106(3), 1004–1013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.030>

Zapata, J. E., Moya, M., & Figueroa, O. A. (2019). Hidrólisis Enzimática de la Proteína de Vísceras de Trucha Arco Íris (*Oncorhynchus mykiss*): Efecto del tipo de Enzima, Temperatura, pH y Velocidad de Agitación. *Información Tecnológica*, 30(6), 63–72. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000600063>



## ANEXOS

### A. RESUMEN DE LOS RESULTADOS PARA LA DIGESTIBILIDAD, PH E

#### HISTAMINA

**Tabla 9**

*Resumen de promedios de las características de hidrolizados de vísceras de trucha*

	<b>DIGESTIBILIDAD</b> %	<b>pH</b>	<b>HISTAMINA</b> mg/100g
<b>Dosis de enzima (ppm)</b>			
25	93.31	3.71	22.06
35	94.25	3.69	25.85
55	95.03	3.82	30.03
<b>Tiempo de hidrólisis (min)</b>			
130	94.08	3.71	25.49
190	94.31	3.77	26.65
<b>Tratamientos</b>			
0.25% y 130 min	93.14	3.69	21.32
0.25% y 190 min	93.48	3.74	22.80
0.35% y 130 min	94.21	3.70	25.64
0.35% y 190 min	94.30	3.69	26.06
0.55% y 130 min	94.91	3.76	29.50
0.55% y 190 min	95.16	3.89	31.09
Promedio	94.2	3.75	26.07
testigo	66.65	6.33	16.02

## B. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE PH DEL HIDROLIZADO DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS.

**Tabla 10**

*Resultado de la evaluación del pH del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*

TRATAMIENTOS	Resultados de pH (min)										
	0	30	50	70	90	110	130	150	170	190	
T1	T1R1	6.38	6.48	8.41	8.4	8.11	8.15	3.3			
	T1R2	6.6	6.64	8.55	8.3	8.43	8.41	4.03			
	T1R3	6.64	6.54	8.75	8.48	8.54	8.4	3.75			
T2	T1R1	6.05	6.15	8.43	8.76	8.71	8.55	8.79	8.85	8.94	3.76
	T2R2	6.01	6.15	8.31	8.48	8.42	8.44	8.61	8.58	8.7	3.89
	T2R3	6.38	6.4	8.31	8.35	8.48	8.55	8.65	8.71	8.69	3.56
T3	T3R1	6.77	6.56	8.11	8.32	8.3	8.31	3.83			
	T3R2	6.81	6.42	8.12	8.35	8.82	8.88	3.64			
	T3R3	6.74	6.39	8.45	8.55	8.61	8.7	3.64			
T4	T4R1	7.12	6.56	7.58	8.15	8.35	8.3	8.37	8.51	8.56	3.98
	T4R2	6.95	6.8	7.45	8.25	8.36	8.33	8.34	8.37	8.45	3.29
	T4R3	6.15	6.03	7.48	7.95	8.13	8.24	8.29	8.35	8.31	3.8
T5	T5R1	5.14	5.11	7.28	7.94	8.13	8.28	4.12			
	T5R2	6.51	7.37	8.55	8.34	8.37	8.39	3.9			
	T5R3	6.43	6.47	7.48	7.89	8.11	8.25	3.27			
T6	T6R1	6.15	6.1	7.78	7.95	7.94	7.91	7.88	7.94	7.45	4.1
	T6R2	6.25	6.2	6.97	7.95	8.12	7.92	7.9	7.71	7.85	3.71
	T6R3	6.21	6.18	6.79	7.84	8.25	7.95	7.87	7.76	7.94	3.85
T7	T7R1	6.14									
	T7R2	6.15									
	T7R3	6.69									

## C. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ANÁLISIS PROXIMAL DE LA VISCERAS HE HIDROLIZADO DEL TRUCHA

**Tabla 11**

*Resultados del análisis proximal (proteína, grasa, humedad) de los 6  
tratamientos del hidrolizado enzimática y el testigo de vísceras de trucha*

ANALSIS PROXIMAL							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	13.38	14.15	12.59	14.8	13.89	15.77	10.05
PROTEINA	13.89	13.76	13.35	14.13	13.35	15.91	10.16
	13.35	14.19	13.19	13.85	13.73	15.98	10.29
	8.68	9.06	9.28	8.68	8.68	9.41	23.75
GRASAS	8.28	8.52	9.53	8.53	8.28	9.72	24.81
	8.11	8.58	9.03	8.16	8.11	10.15	23.54
	4.95	4.95	6.24	4.89	5.33	4.95	3.15
CENIZAS	5.39	5.33	6.46	5.33	5.14	4.68	3.18
	5.56	5.5	6.62	5.17	5.68	4.44	3.12
	71.29	69.42	70.43	68.49	69.57	67.41	64.73
HUMEDAD	71.14	68.89	70.37	68.3	69.73	67.28	64.36
	71.53	68.72	70.88	68.21	69.84	67.33	64.42

**Tabla 12**

*ANVA para las proteínas del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	53.71	6	8.95	96.38	0.0001
Error	1.3	14	0.09		
Total	55.01	20			

**Tabla 13**

*Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la proteína*

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.84968

Error: 0.0929 gl: 14

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
T6	15.89	3	0.18	a	
T4	14.26	3	0.18	b	
T2	14.03	3	0.18	b	
T5	13.66	3	0.18	b	c
T1	13.54	3	0.18	b	c
T3	13.04	3	0.18		c
T7	10.17	3	0.18		d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 14**

*ANVA para la grasa del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	600.01	6	100	703.87	0.0001
Error	1.99	14	0.14		
Total	602	20			

**Tabla 15**

*Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la grasa*

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.03166

Error: 0.1249 gl: 13

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
T7	24.28	2	0.25	a	
T6	9.76	3	0.2		b
T3	9.28	3	0.2	b	c
T2	8.72	3	0.2		c
T4	8.46	3	0.2		c
T1	8.36	3	0.2		c
T5	8.36	3	0.2		c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 16**

*ANVA para las cenizas del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	17.69	6	2.95	50.9	0.0001
Error	0.81	14	0.06		
Total	18.5	20			



**Tabla 17**

*Resultado de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para las cenizas*

Test: Tukey Alfa=0.05  
DMS=0.67097

Error: 0.0579 gl: 14

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
T7	3.15	3	0.14	a	
T6	4.69	3	0.14	b	
T4	5.13	3	0.14	b	c
T2	5.26	3	0.14	b	c
T1	5.3	3	0.14	b	c
T5	5.38	3	0.14		c
T3	6.44	3	0.14		d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 18**

*ANVA para la humedad del testigo y el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	93.12	6	15.52	326.94	0.0001
Error	0.66	14	0.05		
Total	93.79	20			



**Tabla 19**

*Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la humedad*

Test: Tukey            Alfa=0.05  
DMS=0.60745

Error: 0.0475 gl: 14

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
T7	64.5	3	0.13	a	
T6	67.34	3	0.13	b	
T4	68.33	3	0.13	c	
T2	69.01	3	0.13	d	
T5	69.71	3	0.13	e	
T3	70.56	3	0.13	f	
T1	71.32	3	0.13	g	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



**D. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA HISTAMINA****Tabla 20**

*Resultados del análisis de varianza (ANVA) de la histamina del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
ENZIMA	204.03	2	102.02	637.63	0.0000	**
TIEMPO	6.1	1	6.1	38.13	0.0001	**
ENZIMA*TIEMPO	1.24	2	0.62	3.88	0.0458	*
Factores vs Testigo	259.61	1	259.61	1653.39	0.0001	**
Error	2.2	14	0.16			
Total	473.18	20				

**Tabla 21**

*Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la histamina en función a la dosis de enzim*

Test: Tukey Alfa=0.05  
DMS=0.60444

Error: 0.1600 gl: 14

ENZIMA	Medias	n	E.E.	
0.55%	30.3	6	0.1	a
0.35%	25.85	6	0.1	b
0.25%	22.06	6	0.1	c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 22**

Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la histamina en función al tiempo de hidrolizado

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.40442

Error: 0.1600 gl: 14

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
130 min	25.49	9	0.08	a
190 min	26.65	9	0.08	b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 23**

Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la interacción de tiempo vs tiempo en función a la histamina

Test:Tukey Alfa=0.05  
DMS=1.07122

Error: 0.1600 gl: 14

ENZIMA	TIEMPO	Medias	n	E.E.	
0.55%	190 min	31.09	3	0.14	a
0.55%	130 min	29.5	3	0.14	b
0.35%	190 min	26.06	3	0.14	c
0.35%	130 min	25.64	3	0.14	c
0.25%	190 min	22.8	3	0.14	d
0.25%	130 min	21.32	3	0.14	e

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## E. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA DIGESTIBILIDAD

**Tabla 24**

*Resultados del análisis de varianza (ANVA) de digestibilidad del hidrolizado de vísceras de trucha arco iris.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
ENZIMA	8.97	2	4.49	29.93	0.0000	**
TIEMPO	0.23	1	0.23	1.53	0.0001	**
ENZIMA*TIEMPO	0.05	2	0.02	0.13	0.0001	**
Factores vs Testigo	1951.09	1	1951.09	12680.4	0.0001	**
Error	2.15	14	0.15			
Total	1962.5	20				

**Tabla 25**

*Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la digestibilidad en función a la dosis de enzima*

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.58524

Error: 0.1500 gl: 14

ENZIMA	Medias	n	E.E.	
0.55%	95.03	6	0.01	a
0.35%	94.26	6	0.01	b
0.25%	93.31	6	0.01	c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 26**

*Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una*



*significancia de ( $p < 0.05$ ), para la digestibilidad en función al tiempo de hidrolizado*

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.39158

Error: 0.1500 gl: 14

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
190 min	94.31	9	0.01	a
130 min	94.09	9	0.01	a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Tabla 27

*Resultados de la prueba de comparación de Tukey con un 95% con una significancia de ( $p < 0.05$ ), para la interacción de tiempo vs tiempo en función a la histamina*

Test: Tukey Alfa=0.05  
DMS=1.03721

Error: 0.1500 gl: 14

ENZIMA	TIEMPO	Medias	n	E.E.		
0.55%	190 min	95.16	3	0.02	a	
0.55%	130 min	94.91	3	0.02	a	
0.35%	190 min	94.3	3	0.02	a	b
0.35%	130 min	94.21	3	0.02	a	b
0.25%	190 min	93.48	3	0.02		b c
0.25%	130 min	93.14	3	0.02		c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



## F. RESULTADOS DEL ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS VÍSCERAS E HIDROLIZADO DE TRUCHA ARCO IRIS.



Universidad Nacional del Altiplano – Puno  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN HUMANA  
LABORATORIO DE ANÁLISIS Y CONTROL DE LOS  
ALIMENTOS



### INFORME DE LABORATORIO

ASUNTO : ANÁLISIS PROXIMAL DE HIDROLIZADO VICERAS DE TRUCHA

SOLICITANTE : ANADINE ZENAIDA MAMANI CATAORA  
DNI 71456146

TESIS : “EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD EN LA PROTEÍNAS OBTENIDAS A  
PARTIR DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)  
MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA”

MUESTRA : HIDROLIZADO DE VICERAS DE TRUCHA

PROCEDENCIA : PUNO

MOTIVO : EJECUCIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

FECHA DE RECEPCIÓN : 13/01/2023

EXAMEN	UNIDADES	T P	T1	T2	T3	T4	T5	T6
PROTEINA	%	10.17	13.54	14.93	13.04	14.26	13.69	15.89
GRASA	%	24.03	8.36	8.72	9.28	8.46	9.59	9.76
HUMEDAD	%	64.50	75.62	75.01	75.56	68.33	74.71	67.34
CENIZA	%	3.15	5.30	5.26	6.44	5.13	5.38	4.69

Consta por el presente informe de laboratorio que el Bach. ANADINE ZENAIDA MAMANI CATAORA, ha efectuado el análisis proximal de alimentos; para determinación de proteína mediante el método Kjeldahl y para determinación de grasa por el método Soxhlet, para de terminación de humedad secado por estufa al vacío y para de determinación de ceniza mediante el método AOAC 942.05 gravimetría de la tesis titulada “EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD EN LA PROTEÍNAS OBTENIDAS A PARTIR DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA”.


Lic. Anadine C. Flores Coosti  
G.N.P. 1887  
SECRETARÍA E.P.N.H. UNA PUNO

Puno, 06 de marzo del 2023.


Herbert Barwin Flores Rodríguez  
LABORATORISTA CLÍNICO



## G. RESULTADO DEL ANÁLISIS DE HISTAMINA Y LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO DEL HIDROLIZADO DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA




**INFORME DE LABORATORIO**

<b>SOLICITANTE:</b>	Bach. ANADINE ZENaida MAMANI CATAcorA
<b>PRODUCTO:</b>	HIDROLIZADO DE VISCERAS DE TRUCHA
<b>IDENTIFICACION:</b>	HISTAMINA Y DIGESTIBILIDAD
<b>CANTIDAD:</b>	21 MUESTRAS
<b>PRESENTACION:</b>	FRASCO PET
<b>PROCEDENCIA:</b>	MUESTRA PROPORCIONADA POR EL TESISISTA:
<b>FECHA DE RECEPCION EN EL LAB.:</b>	16 DE ENERO DEL 2023
<b>FECHA DE INICIO DE ANALISIS:</b>	16 DE ENERO DEL 2023
<b>FECHA DE TERMINO DE ANALISIS:</b>	27 DE ENERO DEL 2023

ÍTEMS	TRATAMIENTO	MUESTRA	HISTAMINA (mg/kg)	DIGESTIBILIDAD (%)
01	T1	R1	21.63	93.12
		R2	21.59	93.17
		R3	20.73	93.12
	<b>PROMEDIO</b>			<b>21.32</b>
02	T2	R1	22.89	93.51
		R2	22.79	93.48
		R3	22.71	93.44
	<b>PROMEDIO</b>			<b>22.80</b>
03	T3	R1	25.87	94.20
		R2	25.63	94.21
		R3	25.42	94.23
	<b>PROMEDIO</b>			<b>25.64</b>
04	T4	R1	26.12	94.25
		R2	26.09	94.30
		R3	25.98	94.35
	<b>PROMEDIO</b>			<b>26.06</b>
05	T5	R1	29.35	94.89
		R2	29.48	94.91
		R3	29.67	94.93
	<b>PROMEDIO</b>			<b>29.50</b>
06	T6	R1	31.18	95.16
		R2	30.94	95.17
		R3	31.15	95.14
	<b>PROMEDIO</b>			<b>31.09</b>
07	T7 CONTROL	R1	16.81	67.70
		R2	15.11	66.63
		R3	16.14	65.63
	<b>PROMEDIO</b>			<b>16.02</b>

El presente informe de laboratorio se efectuó la determinación de la histamina por el método de "ELISA" y digestibilidad por el método de "Torry Modificado" del producto hidrolizado de vísceras de trucha presentado por la Bach. Anadine Zenaida Mamani Catacora por la ejecución de la tesis titulada "Evaluación de la Digestibilidad en las Proteínas Obtenida a Partir de Visceras de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus Mykiss*) Mediante la Hidrólisis Enzimática".



Lic. Balduino Lorgio Palacios Frisancho  
DNI: 01225964  
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FMH-UNA PUNO

## H. PANEL FOTOGRÁFICO DEL PROCESO DE HIDROLIZADO DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCO IRIS.

### Fotografía 1

*Materia prima de 1kg en pretratamiento*



### Fotografía 3

*Separación de grasa*



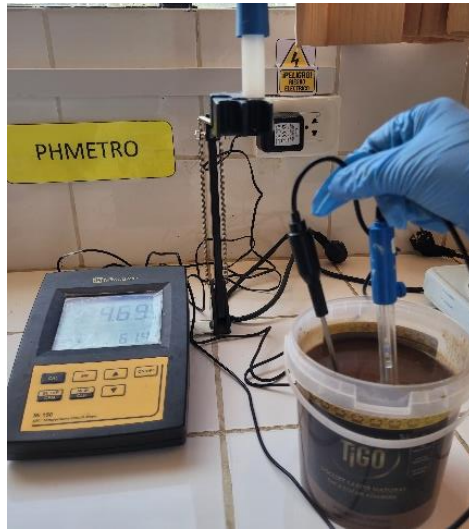
### Fotografía 2

*Proceso de hidrolizado.*



### Fotografía 5

*Control de pH y temperatura*



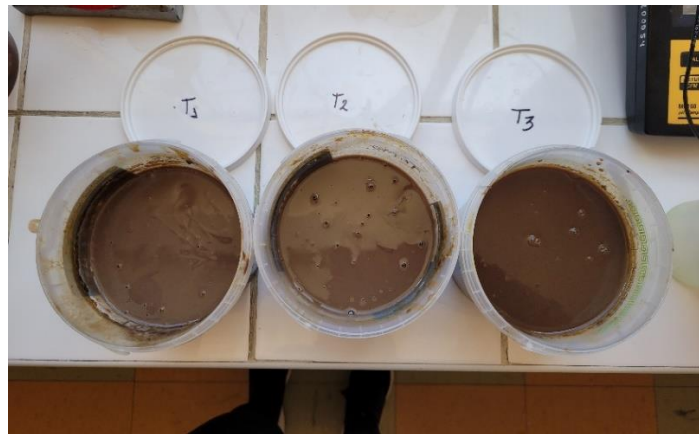
### Fotografía 4

*Proceso de secado de hidrolizado*



### Fotografía 6

*Tratamientos (T1, T2, T3) respecto a los hidrolizados enzimáticos*





### Fotografía 7

*Tratamiento (T4, T5, T6) respecto a los hidrolizados enzimáticos*



### Fotografía 9

*Muestras para la determinación de grasa y proteína*



### Fotografía 8

*Determinación de la grasa del hidrolizado enzimático*



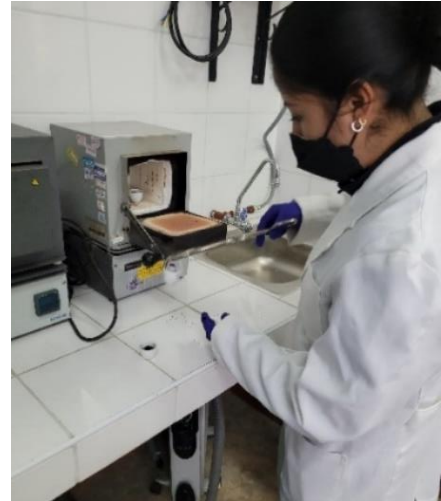
### Fotografía 11

*Determinación de la Proteína del hidrolizado*



### Fotografía 10

*Determinación de cenizas del hidrolizado*



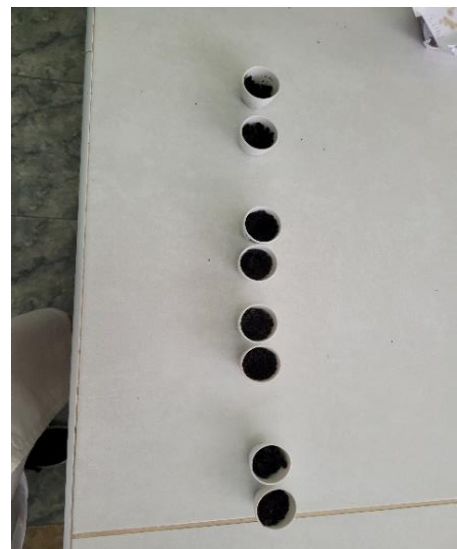
### Fotografía 13

*Los 21 tratamientos para la determinación de digestibilidad in vitro*



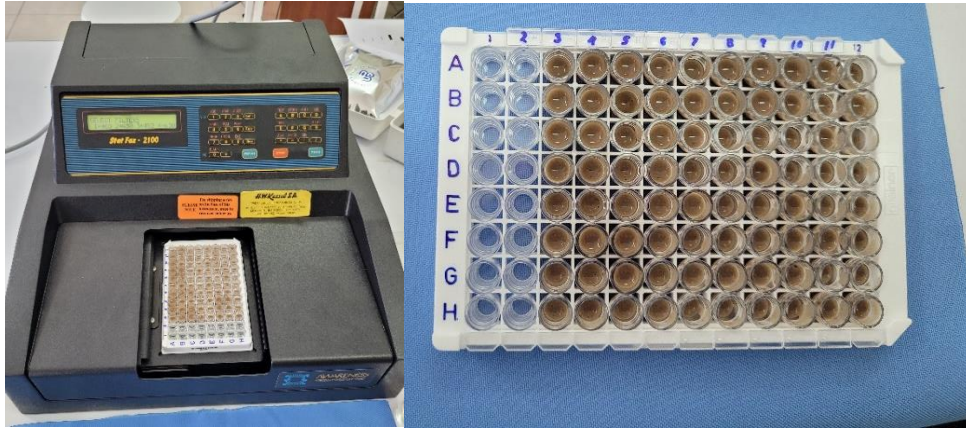
### Fotografía 12

*Determinación de ceniza*



### Fotografía 14

*Determinación de la histamina para el hidrolizado de vísceras de trucha arco iris mediante ELISA*



### Fotografía 15

*Muestras para la determinación de histamina y la digestibilidad in vitro del hidrolizado enzimático de vísceras de trucha arco iris*





### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Anadine Zenaida Mamani Catacora,  
identificado con DNI 71456146 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Ingeniería Agroindustrial,

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ Evaluación de la digestibilidad en las proteínas obtenidas a partir de  
vísceros de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) mediante la  
hidrólisis enzimática ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 26 de Abril del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella



## AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Anadine Zenaida Mamani Catacora,  
identificado con DNI 71456146 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Ingeniería Agroindustrial,  
informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ Evaluación de la digestibilidad en las proteínas obtenidas a partir de vísceras de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) mediante la hidrólisis enzimática ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 26 de Abril del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella