

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA



**“OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO A PARTIR DE
MÚSCULO DE BAGRE CON FAJA (*Galeichthys peruvianus*)”**

Presentado por:

NORMA SOLEDAD NAVARRO HUAMANGUILLAS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO PESQUERO

Lima-Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA

“OBTENCIÓN DE UN AISLADO PROTEICO A PARTIR DE
MÚSCULO DE BAGRE CON FAJA (*Galeichthys peruvianus*)”

Tesis para optar el título de Ingeniero Pesquero

Presentado por:

NORMA SOLEDAD NAVARRO HUAMANGUILLAS

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

M. Sc. Tito Llerena Daza
Presidente

Ing. Domingo Sánchez Amado
Miembro

Ing. Nancy Martínez Ordinola
Miembro

M. Sc. David Roldán Acero
Asesor

M. Sc. Raúl Porturas Olaechea
Co-asesor

Lima-Perú

2018

DEDICATORIA

A Dios por darme el mejor regalo: mi familia.

*A mis padres, Valentín y Cipriana por su infinito amor, apoyo y consejos
que me han brindado.*

*A mis hermanas, Vanessa y Margarita por mostrarme su amor
incondicional en todos los momentos compartidos.*

AGRADECIMIENTO

A Dios por todas las bendiciones que me ha dado y ser mi fuerza y esperanza durante los momentos difíciles que me ha tocado afrontar.

A mis asesores Mg. Sc. David Roldán y Mg. Sc. Raúl Porturas por sus orientaciones y apoyo en la ejecución del presente trabajo de investigación.

Al Blgo. Juan Juscamaita por las facilidades y tiempo brindado durante la realización de esta investigación.

Al Mg. Sc. Tito Llerena, Ing. Nancy Martínez e Ing. Domingo Sánchez por sus aportes durante la corrección del presente trabajo de investigación.

A la PhD. Ana Kitazono por su orientación y apoyo en los reactivos.

A los técnicos de los laboratorios de la Facultad de Pesquería: Ernesto Apestegui, Maritza Ramírez y de la Facultad de Industrias Alimentarias: Zahara Prudencio.

A mis profesores de la Facultad de Pesquería que contribuyeron en mi formación profesional y al personal administrativo por el apoyo brindado.

A Fiorela Peña por sus recomendaciones y apoyo durante esta investigación y por su amistad.

A mis amigas y amigos que de alguna manera me acompañaron durante este periodo, en especial a Karina Palomino y Marco Florez.

A mi familia por su amor incondicional y ser mi motivo e inspiración en cumplir mis metas.

Un especial agradecimiento a la Universidad Nacional Agraria La Molina por el financiamiento de esta investigación.

INDICE GENERAL

RESUMEN SUMMARY

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. CARACTERÍSTICAS DEL BAGRE CON FAJA (<i>Galeichthys peruvianus</i>)...	3
2.1.1. Morfología.....	4
2.1.2. Distribución geográfica.....	4
2.1.3. Aspectos bioecológicos.....	6
2.1.4. Alimentación	6
2.1.5. Abundancia y desembarques	6
2.1.6. Características químicas y rendimientos.....	8
2.1.7. Alternativas tecnológicas	8
2.2. COMPOSICIÓN DEL MÚSCULO DE PESCADO	9
2.2.1. Proteínas	10
2.2.2. Lípidos	11
2.2.3. Componentes nitrogenados no proteicos	12
2.2.4. Vitaminas y minerales.....	13
2.3. SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS DEL PESCADO	13
2.3.1. Efecto del pH.....	13
2.3.2. Efecto de la fuerza iónica.....	15
2.3.3. Efecto de la temperatura	15
2.3.4. Efecto de la relación músculo/agua y el tiempo de extracción	16
2.4. AISLADOS PROTEICOS	17
2.5. PROCESO DE AISLAMIENTO DE PROTEÍNAS DE PESCADO.....	18
2.5.1. Método de cambio de pH ácido y alcalino.....	18
2.5.2. Calidad nutricional de los aislados proteicos de pescado	23
2.5.3. Uso y aplicaciones de los aislados proteicos de pescado.....	26
2.5.4. Propiedades funcionales de los aislados proteicos de pescado	27

2.6.	DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS	30
2.6.1.	Método espectrofotométrico de biuret	30
2.6.2.	Método de Kjeldahl.....	31
2.7.	SECADO POR LIOFILIZACIÓN	31
2.7.1.	Etapas principales de la liofilización.....	32
2.7.2.	Características de la liofilización.....	35
2.7.3.	Ventajas y desventajas de la liofilización	35
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	37
3.2.	MATERIA PRIMA	37
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	37
3.3.1.	Materiales	37
3.3.2.	Equipos	38
3.3.3.	Reactivos	39
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	39
3.4.1.	Análisis realizados a la materia prima.....	39
3.4.2.	Análisis realizados durante la extracción alcalina y precipitación isoelectrica de las proteínas	40
3.4.3.	Análisis realizados al producto final	41
3.4.4.	Análisis Estadístico	42
3.5.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	42
3.5.1.	Diagrama de flujo de proceso	42
3.5.2.	Parte experimental.....	45
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1.	MATERIA PRIMA	48
4.1.1.	Análisis físico y sensorial.....	48
4.1.2.	Análisis de composición proximal	50
4.2.	PARTE EXPERIMENTAL	51
4.2.1.	Etapa I: Extracción alcalina.....	51
4.2.2.	Etapa II: Precipitación isoelectrica	60
4.2.3.	Etapa III: Secado.....	63
4.3.	PRODUCTO FINAL	65
4.3.1.	Análisis de composición proximal	65
4.3.2.	Análisis físico y sensorial	68

4.3.3. Análisis microbiológico.....	69
4.3.4. Rendimiento de proteínas	70
4.3.5. Rendimiento del aislado proteico de bagre con faja	73
V. CONCLUSIONES	74
VI. RECOMENDACIONES	75
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
VIII. ANEXOS	87

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Biomasa hidroacústica del bagre con faja (2006-2016)	7
Tabla 2: Composición química proximal del músculo del bagre con faja	8
Tabla 3: Rendimientos de proceso, según corte comerciales	8
Tabla 4: Niveles de proteína de diversos productos elaborados a partir de pescado	18
Tabla 5: Contenido de aminoácidos esenciales (mg/g) en el aislado proteico recuperado de subproductos de procesamiento de pescado por solubilización y precipitación isoelectrica.....	25
Tabla 6: Interacción de las proteínas en sistemas alimentarios y su impacto en la funcionalidad.	27
Tabla 7: Esquema experimental.....	45
Tabla 8: Composición proximal del músculo de bagre con faja	50
Tabla 9: Efecto de la relación músculo/agua en la extracción alcalina de proteínas	52
Tabla 10: Efecto del pH en la extracción alcalina de proteínas	54
Tabla 11: Efecto del tiempo de extracción en la extracción alcalina de proteínas	58
Tabla 12: Efecto del pH en la precipitación de las proteínas	60
Tabla 13: Composición proximal del aislado proteico de bagre con faja	65
Tabla 14: Resultados de análisis microbiológicos en el aislado proteico de bagre con faja.....	69
Tabla 15: Rendimiento del aislado proteico obtenido de músculo de bagre con faja	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Bagre con faja (<i>Galeichthys peruvianus</i>)	3
Figura 2: Distribución del bagre.	5
Figura 3: Efecto del pH sobre la solubilidad de las proteínas del músculo de la carpa de hierba.....	14
Figura 4: Método de cambio de pH para la producción de aislados proteicos de pescado.	19
Figura 5: Etapas del secado por liofilización	32
Figura 6: Diagrama de flujo para la obtención de un aislado proteico de músculo de bagre con faja.....	43
Figura 7: Bagre con faja utilizado en la elaboración del aislado proteico	48
Figura 8: Filetes de bagre con faja.....	49
Figura 9: Efecto de la relación músculo/agua en la extracción alcalina de proteínas	52
Figura 10: Efecto del pH en la extracción alcalina de proteínas	55
Figura 11: Muestra ajustada a pH alcalino	56
Figura 12: Efecto del tiempo de extracción en la extracción alcalina de proteínas.....	58
Figura 13: Fase soluble e insolubles luego de la primera centrifugación.	60
Figura 14: Efecto del pH en la precipitación de las proteínas	61
Figura 15: Muestra ajustada a pH ácido o punto isoeléctrico.	62
Figura 16: Proteínas precipitadas luego de la segunda centrifugación.	63
Figura 17: Aislado proteico de bagre con faja secado por liofilización.....	64
Figura 18: Balance de proteína en la obtención de aislado proteico de músculo de bagre con faja.....	72

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Curva estándar para la determinación de la concentración de proteína (Método de biuret)	87
Anexo 2: Evaluación sensorial para pescado fresco (Tabla de Wittfogel)	88
Anexo 3: ANOVA y LSD para determinar la relación músculo/agua de mayor solubilidad proteica	90
Anexo 4: ANOVA y LSD para determinar el pH de mayor solubilidad proteica	91
Anexo 5: ANOVA y LSD para determinar el tiempo de extracción de mayor solubilidad proteica	92
Anexo 6: ANOVA y LSD para determinar el pH de menor solubilidad proteica	93

RESUMEN

Las proteínas de pescado aisladas a partir de subproductos o especies poco comerciales que usan el método de cambio de pH, el cual consiste en una solubilización ácida o alcalina seguida de una precipitación isoelectrica de las proteínas, son una nueva fuente de proteínas que pueden usarse como ingredientes para producir alimentos de mayor valor agregado. El objetivo de la investigación fue obtener un aislado proteico a partir de músculo de bagre con faja (*Galeichthys peruvianus*). El flujo del proceso obtenido fue el siguiente: recepción de bagre con faja - fileteado - molido - extracción alcalina – centrifugado 1 – precipitación isoelectrica - centrifugado 2 – secado – envasado y almacenado. Los factores evaluados para la extracción alcalina fueron: relación músculo/agua, pH y tiempo de extracción, los valores con los cuales se obtuvieron la mayor solubilización proteica fueron: 1/12, 13 y 20 minutos, respectivamente. La menor solubilidad proteica se obtuvo a pH 5,5, siendo este el punto isoelectrico (pI) de la proteína del bagre con faja. El precipitado fue neutralizado a pH 7 y secado por liofilización. El aislado proteico así obtenido presentó un contenido de proteína de 94,48 %, humedad de 2,85 %, grasa de 0,83 %, ceniza de 1,65 % y carbohidratos de 0,19 %. El bajo contenido de mohos, levaduras, enterobacteriaceae y ausencia de *Salmonella* confirmó la adecuada limpieza e higiene en el procesamiento del aislado proteico.

Palabras clave: Aislado proteico de pescado, extracción alcalina, precipitación isoelectrica, solubilización proteica, liofilizado, método de cambio de pH.

SUMMARY

Fish proteins isolated from by-products or non-commercial species that use the pH change method, which consists of an acid or alkaline solubilization followed by an isoelectric precipitation of the proteins, are a new source of proteins that can be used as ingredients to produce higher value-added foods. The objective of the research was to obtain a protein isolate from catfish muscle with sash (*Galeichthys peruvianus*). The process flow was as follows: reception of catfish with sash – filleting - ground - alkaline extraction - centrifugation 1 - isoelectric precipitation - centrifugation 2 - drying - packaging and storage. The factors evaluated for the alkaline extraction were: muscle / water ratio, pH and time of extraction, the values with which the highest protein solubilization were obtained were: 1/12, 13 and 20 minutes, respectively. The lowest protein solubility was obtained at pH 5.5, this being the isoelectric point (pI) of the catfish protein with sash. The precipitate was neutralized to pH 7 and dried by lyophilization. The protein isolate thus obtained had a protein content of 94.48%, moisture of 2.85%, fat of 0.83%, ash of 1.65% and carbohydrates of 0.19%. The low content of molds, yeasts, enterobacteriaceae and absence of Salmonella confirmed the adequate cleaning and hygiene in the processing of the protein isolate.

Key words: Fish protein isolate, alkaline extraction, isoelectric precipitation, protein solubilization, lyophilized, pH-Shift method.

I. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria se encuentra en la búsqueda de proteínas alternativas que puedan competir con las que actualmente dominan el mercado y que posean características nutritivas, funcionales y sensoriales adecuadas para utilizarse en el desarrollo de nuevos productos alimenticios (Badui, 2006). Asimismo el ITP (1999) indica que se tiene la necesidad de focalizar la atención en el desarrollo de productos de mayor valor agregado, tratando en lo posible de buscar aplicaciones tecnológicas que satisfagan los requerimientos del mercado nacional y del mundo.

Kristinsson *et al.* (2005) mencionan que se han desarrollado procesos para producir aislados proteicos funcionales a partir de pescados de bajo valor con el fin de desarrollar alimentos para consumo humano. Según Kristinsson e Ingadottir (2006) en este proceso las proteínas del músculo se solubilizan a pH bajo o alto, luego las proteínas solubilizadas son separadas del material insoluble y son recuperadas por precipitación isoeléctrica. Este proceso es conocido como método de cambio de pH o método pH-Shift (Tian *et al.*, 2017).

Según Cortés y Pacheco (2009), los procesos que se basan en la modificación del pH no implican etapas continuas de lavado, por lo cual se reducen significativamente el consumo de agua y la generación de desechos. Además con este nuevo enfoque de proceso se han registrado mayores rendimientos de recuperación de proteínas y de eliminación de lípidos. Tian *et al.* (2017) señalan que las proteínas recuperadas tienen un buen color y excelentes propiedades funcionales.

Por otro lado, Castañeda *et al.* (2007) mencionan que ante la disminución de los recursos comerciales y tradicionalmente importantes, la actividad pesquera artesanal, cada vez está más ligada a la búsqueda de especies potenciales. En el Perú, existe una variable disponibilidad de especies que no son objetivo tradicional de la pesca artesanal, ya sea por la falta de demanda o de medios como artes de pesca, tecnologías de captura,

conservación y procesamiento (Castillo, 2007). Según Salazar *et al.* (2014) el bagre con faja (*Galeichthys peruvianus*) es un pez bento-pelágico, considerado como una especie no comercial o de bajo valor comercial.

Castañeda *et al.* (2007) menciona que el bagre con faja es un alimento proteínico, su carne contiene calcio, hierro y otros minerales importantes para la buena salud. Además, esta especie es de bajo contenido graso, lo que constituye una característica importante para su adaptación en el procesamiento de productos secos y/o salados en general (ITP, 1999).

El trabajo de investigación tuvo como objetivo general obtener un aislado proteico a partir de músculo de bagre con faja por medio de extracción alcalina, precipitación isoelectrica y secado de las proteínas. De esta manera, se busca aportar información científica para que pueda ser utilizado como ingrediente o suplemento nutricional en la elaboración o enriquecimiento de diversos productos alimenticios con el fin de satisfacer las necesidades de proteínas en las poblaciones, así como también diversificar el uso del bagre con faja.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar la relación músculo/agua, pH y tiempo de extracción de mayor solubilidad proteica.
- Determinar el pH de menor solubilidad proteica.
- Evaluar fisicoquímica y microbiológicamente el aislado proteico.
- Determinar el rendimiento de proteínas en el aislado proteico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CARACTERÍSTICAS DEL BAGRE CON FAJA (*Galeichthys peruvianus*)

El bagre con faja, se muestra en la Figura 1, es un Ariidae también conocido con los nombres de Bagre costero (Chile), Bagre chivo (Colombia), y en inglés como Peruvian sea catfish; es un recurso bento-pelágico que en el Perú se distribuye desde Tumbes hasta Ilo (ITP, 1999).



Figura 1: Bagre con faja (*Galeichthys peruvianus*)

FUENTE: Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (2015)

La clasificación taxonómica del bagre con faja según Castañeda *et al.* (2007), es la siguiente:

Reino:	Animal
Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Clase:	Osteichthyes
Orden:	Siluriformes
Familia:	Ariidae

Género:	<i>Galeichthys</i>
Especie:	<i>Galeichthys peruvianus</i>
Nombre común:	Bagre con faja

2.1.1. Morfología

El bagre con faja presenta un cuerpo desnudo, sin escamas; aletas dorsal y pectoral con una fuerte espina aserrada; maxilar con un barbo y el mentón con dos pares de barbos. Dientes puntiagudos en las mandíbulas vómer y palatinos. Aleta anal con 14 a 16 radios; 10 branquiespinas en la rama inferior del primer arco branquial; dientes del vómer bien separados en la línea media (Castañeda *et al.*, 2007). Parte superior del cuerpo azul negruzco a rojo café, estómago blanco, los lados del cuerpo con una banda blanca plateada que va desde el lomo a la parte media de la base de la cola y aletas oscuras (Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, 2015).

2.1.2. Distribución geográfica

El bagre con faja es una especie costera bento-pelágico que habita en aguas someras con fondos blandos, particularmente dentro de las 50 mn desde la costa. Sus mayores concentraciones se presentan entre Punta La Negra (6°S) y Chimbote (9°S), zona nortecentro del Perú (Castañeda *et al.*, 2007), sin embargo su distribución está limitada por las condiciones oceanográficas del mar peruano (Castillo, 2008).

Datos de retrodispersión acústica indicaron que la distribución y profundidad del bagre con faja, varían de acuerdo a las horas del día. Entre las 00 y 06 horas, se concentra entre 5 a 35 m de profundidad; entre las 6 y 18 h, se registra entre los 5 y 40 m. A partir de las 18 h, la especie se profundiza y de acuerdo a la oxiclina puede alcanzar profundidades de hasta 140 m (cuando la Extensión Sur de la Corriente de Cromwell se intensifica durante otoño – invierno) (Castañeda *et al.*, 2007).

La distribución del bagre con faja entre los años 1998-2007 fue variada, se encontró en diversas áreas comprendidas entre Talara (04° 37'S) y Morro Sama (18° 17'S), con mayor continuidad y extensión longitudinal entre la Punta La Negra (06° 00'S) y

Huarmey ($10^{\circ} 00'S$), zona en la cual la plataforma es más amplia. Esta especie presenta patrones de agregación bien definidos, durante el invierno se concentra especialmente en la zona costera generalmente hasta Chimbote ($09^{\circ}S$), y en los veranos se desplaza hacia al sur encontrándose hasta Pisco ($13^{\circ}S$), en algunos casos se encontraron pequeñas áreas de bagre con faja hacia el sur de Pisco en forma reducida, por lo que los eventos cálidos dispersan a la especie a lo largo de la costa (Castillo, 2008).

La distribución espacial del bagre es coincidente con el de la anchoveta, por lo que capturas relativamente importantes del bagre pueden ser registradas durante los desembarques de la anchoveta (Castañeda *et al.*, 2007). La distribución del bagre con faja en el litoral peruano, se muestra en la Figura 2.

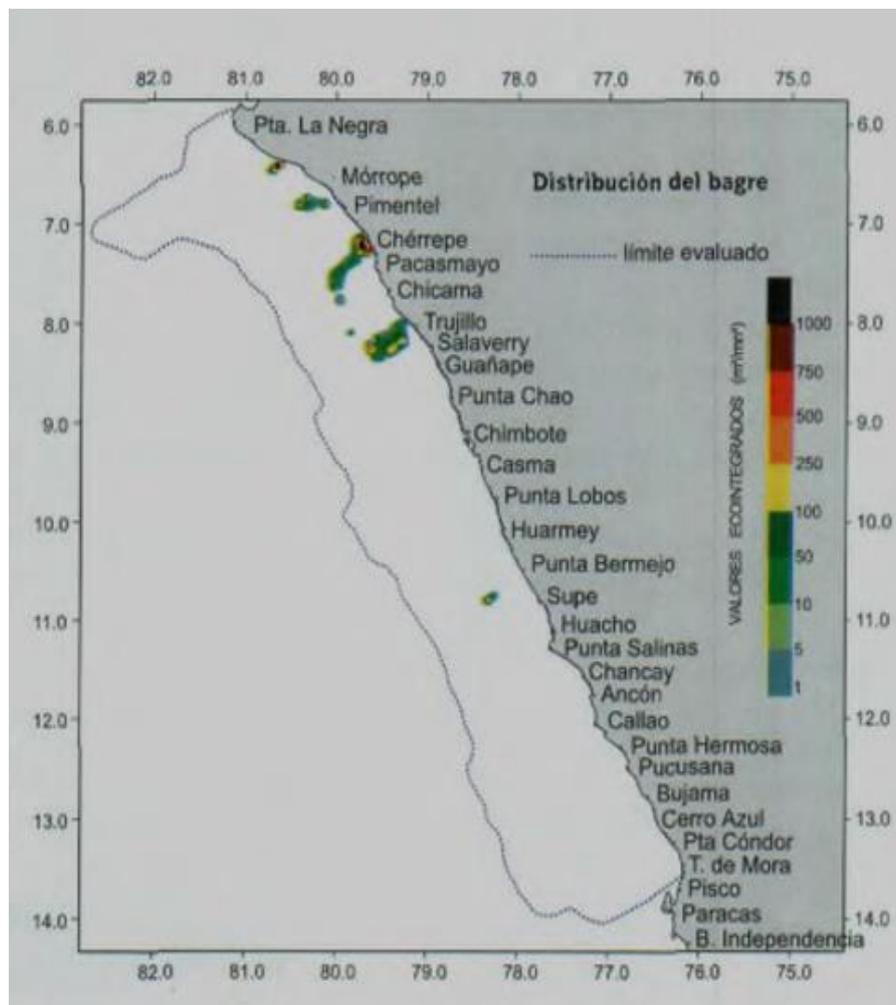


Figura 2: Distribución del bagre.

FUENTE: IMARPE (2001)

2.1.3. Aspectos bioecológicos

Esta especie alcanza hasta los 38 cm de longitud total, con algunas diferencias respecto a su sexo, las hembras por lo general son más grandes, esto se explicaría por el hecho de que los machos incuban los huevos en la boca, afectando su alimentación y, por tanto, su tasa de crecimiento. Tienen un crecimiento alométrico, es decir crece más rápidamente en longitud que en peso, alcanzan su primera madurez sexual a los 17 cm de longitud, con un mayor desove en la estación de verano. El desove lo realizan en áreas protegidas y de fondos fangosos, los machos toman, los huevos fecundados del sustrato para su incubación urofaringeal. Los alevinos tienden hacerse pelágicos y posteriormente los ejemplares juveniles se dirigen a zonas de mayor profundidad (Castillo, 2008).

2.1.4. Alimentación

Castañeda *et al.* (2007) realizaron el análisis del contenido estomacal de 1189 bagres con faja, encontrando que los principales componentes de la dieta son: anchoveta (37,89%) y poliquetos (25,7 %); en menor proporción, cangrejos, múnida y camarón brujo. Por la composición de la dieta se considera a esta especie bento-pelágico costera, totalmente carnívora. La alimentación del bagre con faja varía con la talla; ejemplares menores a 20 cm prefieren poliquetos y los de mayor longitud, prefieren principalmente la anchoveta, además de crustáceos, moluscos y otros peces.

2.1.5. Abundancia y desembarques

El bagre con faja, por su continuidad y abundancia en los lances de pesca fue considerada en los cruceros de evaluación hidroacústica de recursos pelágicos que realiza el IMARPE a partir del año 1998, con la finalidad de conocer cuantitativamente su nivel poblacional y aspectos biológicos en el ecosistema costero (Castillo, 2008).

En cuanto a su biomasa, tuvo una mayor abundancia en la primavera de 1998 (culminación del evento El Niño) con 2,13 millones de toneladas. Las capturas por la flota artesanal reflejaron abundancias mínimas, sin embargo en el 2002 en Puerto Malabrigo, los desembarques alcanzaron las 26 725 toneladas, con un máximo en

diciembre de 18 212 toneladas, cuyo destino fue para la producción de harina de pescado (Carbajal *et al.*, 2003, citados por Castillo, 2008).

Investigaciones acústicas del IMARPE mostraron que existió, entre 1998 y 2006, un stock de bagre a lo largo del litoral lambayecano y liberteño (06 -09°S) que fluctuaba estacionalmente entre 574000 y 24000 toneladas (promedio en 187000 toneladas) (Castillo, 2007).

En general los mayores desembarques de esta especie se encuentran localizados en el norte. En la Tabla 1 se presenta la biomasa del bagre con faja durante el periodo 2006 – 2016 a nivel de todo el litoral.

Tabla 1: Biomasa hidroacústica del bagre con faja (2006-2016)

Año	Total (ton)
2006	511649
2007	304788
2008	729079
2009	395726
2010	155064
2011	136812
2012	57776
2013	51485
2014	7724
2016	141506

FUENTE: IMARPE (2017)

Durante la evaluación de la población de merluza y otros demersales (Junio-Julio 2015) al área comprendida desde el extremo norte del Dominio Marítimo del Perú hasta Huarney, se capturaron un total de 46 713,68 kg, entre las principales especies que destacaron por su mayor captura fueron la merluza *Merluccius gayi peruanus* (32

934,54 kg) que representó el 70,5 %, seguido del bereche con barbo *Ctenosciaena peruviana* (4 310,18 kg) (9,2 %), el falso volador *Prionotus stephanophrys* (2 725,24 kg) (5,8 %), la jaiva paco *Platymera gaudichaudi* (867,11 kg) (1,9 %) y el bagre con faja *Galeichthys peruvianus* (783,32 kg) (1,7 %) (IMARPE, 2015).

2.1.6. Características químicas y rendimientos

La composición química proximal del músculo del bagre con faja y los rendimientos de proceso se muestran en la Tabla 2 y 3, respectivamente.

Tabla 2: Composición química proximal del músculo del bagre con faja

Componente	Rango (%)
Agua	79,57 – 82,49
Grasas	1,25 – 1,65
Proteínas	16,85 – 17,97
Cenizas	1,35 – 1,95

FUENTE: ITP (1999)

Tabla 3: Rendimientos de proceso, según corte comerciales

Corte / Proceso	Rango (%)
Sechurano	75 – 80
Eviscerado / descabezado (HG)	40 – 45,3
Pulpa	21,3 – 24

FUENTE: ITP (1999)

2.1.7. Alternativas tecnológicas

El bagre con faja es una especie de bajo contenido graso, lo que constituye una característica importante para su adaptación en el procesamiento de productos secos y/o

salados en general. Debido a su gran consistencia muscular, y grado de elasticidad similar a la lisa, el bagre con faja es un recurso que podría ser utilizado en la elaboración de embutidos y productos de imitación (ITP, 1999).

2.2. COMPOSICIÓN DEL MÚSCULO DE PESCADO

Venugopal y Shagidi (1996) mencionan que los componentes principales de la carne de pescado son: agua, proteínas y lípidos, los cuales representan aproximadamente el 98 % de la masa total del pescado. El resto de la masa corporal está representado por componentes menores, como carbohidratos (< 1 %), vitaminas y minerales que juegan un papel muy importante en las reacciones bioquímicas durante la vida de los peces e influyen en los cambios *postmortem*. Además, señalan que los componentes principales del músculo del pescado varían considerablemente entre los individuos de una misma especie, lo cual depende de la edad, el sexo, el medio ambiente y la estación del año.

Suzuki (1987) reporta que la composición química del músculo de pescado está conformada por 15 a 24 % de proteínas, 0,1 a 22 % de lípidos, 1 a 3 % de carbohidratos, 0,8 a 2 % de sustancias inorgánicas y 66 a 84 % de agua.

En los peces se pueden distinguir músculos con apariencia blanca y oscura, por ello se clasifican en músculos blancos y rojos. Existen diferencias notables en la composición química de los dos tipos de músculo, entre las principales están el alto contenido de lípidos y hemoglobina en el músculo oscuro (Huss, 1999). Cortés y Pacheco (2009) señala que el músculo de pescado se puede utilizar como alimento directo o como fuente de proteína tecnológicamente funcional para la elaboración de productos manufacturados.

Según Dávalos *et al.* (2005) el pescado se clasifica en tres categorías según su contenido de grasa en sus músculos: el pescado magro o llamado pescado blanco (menos del 2 % de grasa), el pescado graso o conocido como pescado azul (más del 5 % de grasa) y un grupo intermedio el pescado semi graso (2 a 5 % de grasa). En general, las especies magras almacenan lípidos sólo en el hígado, mientras que las especies grasas las

almacenan en células distribuidas en otros tejidos del cuerpo (Foegeding *et al.*, 2000, citados por Sayas *et al.* 2009).

2.2.1. Proteínas

Por su función biológica y su solubilidad, las proteínas se han clasificado en tres grandes grupos: proteínas contráctiles o miofibrilares, proteínas sarcoplasmáticas o solubles y proteínas del estroma o insolubles (Badui, 2006).

La proteína del músculo del pescado está compuesta de proteínas sarcoplasmáticas (20 a 30 %) que se localizan en el plasma muscular, proteínas miofibrilares (60 a 80 %) que forman las miofibrillas y las proteínas del tejido conectivo (3 a 10 %) que forman el estroma (Suzuki, 1987; Delabarre-Ladrat *et al.*, 2006).

Las proteínas sarcoplasmáticas están compuestas principalmente por mioglobina, albúminas y enzimas que participan en el metabolismo celular. Esta fracción sarcoplasmática se caracteriza por ser soluble en agua y diluirse en soluciones salinas (Sayas *et al.*, 2009). Al respecto Suzuki (1987) señala que las proteínas sarcoplasmáticas están formadas por muchos tipos de proteínas solubles en agua, llamadas en conjunto miógeno, que se puede obtener simplemente aplicando presión sobre el músculo de pescado o por extracción con soluciones salinas de baja fuerza iónica. El mismo autor señala que el contenido de proteínas sarcoplasmáticas del músculo de pescado varía con la especie pero por lo general es más alto en pescados pelágicos. Sayas *et al.* (2009) indican que las enzimas sarcoplasmáticas incluyen a las implicadas en actividades fisiológicas (respiración, digestión intracelular, división celular, etc.), como las oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, etc.

Las proteínas miofibrilares son aquellas que componen el aparato contráctil responsable de los movimientos musculares. El punto isoeléctrico está alrededor del pH 4,5 - 5,5 a estos valores de pH las proteínas presentan su menor solubilidad (Pérez *et al.*, 2004). Asimismo, estas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica (≥ 0.5 M) (Hultin *et al.*, 1995). La actina y la miosina son las proteínas miofibrilares que actúan directamente en el ciclo de contracción y relajación, ambas representan el 65 a 75% de la proteína total de los peces. Otras proteínas que participan

indirectamente en este ciclo son las reguladoras tales como la tropomiosina, troponina y actinina, y un tercer grupo está constituido por las llamadas proteínas de andamiaje o de filamento, que juegan un papel estructural en la miofibrilla y la célula muscular (Haard, 1999).

Las proteínas del tejido conectivo forman parte del estroma. No pueden extraerse con agua, soluciones salinas ácidas o alcalinas o soluciones salinas neutras de concentración 0,01 a 0,1 M (Suzuki, 1987). La proteína primaria en este grupo es el colágeno, la molécula de colágeno está compuesta por una proporción muy alta de aminoácidos no polares, hidrófobos que hacen del colágeno una proteína en gran parte no funcional en carnes procesadas (Xiong, 2007, citado por Park, 2009).

Según Sayas *et al.* (2009) las proteínas de pescado tienen elevado valor biológico (85 %) debido a su composición de aminoácidos. En particular, el pescado es una excelente fuente de lisina y aminoácidos azufrados (metionina y cisteína).

2.2.2. Lípidos

Los lípidos en los peces grasos son principalmente subcutáneos y se encuentran en dispersión globular, mientras que en los peces magros se depositan en su mayor parte en el hígado (Venugopal y Shahidi, 1996). Los lípidos más importantes de la masa muscular son los triglicéridos, una molécula de glicerol unida covalentemente a través de enlaces tipo éster a tres cadenas de ácidos grasos de diferente o igual longitud y nivel de saturación. Los triglicéridos del pescado no tienen cargas eléctricas y no forman enlaces de hidrógeno con el agua; por esta razón se llaman componentes apolares o hidrofóbicos (Jaczynski *et al.*, 2009).

Otro tipo de lípidos son los fosfolípidos, componentes integrales de las membranas celulares. Estos pueden formar enlaces hidrofóbicos con otros compuestos químicos y, al mismo tiempo, interactuar con agua y proteínas cargadas (Jaczynski *et al.*, 2009). Los lípidos polares de los sistemas de membrana en el músculo contienen un porcentaje más alto de ácidos grasos altamente poliinsaturados que los triglicéridos neutros. Mientras que el alto contenido de lípidos neutros de las especies grasas, y especialmente del músculo oscuro, está relacionado con la necesidad de estas especies para una fuente de

energía sostenible, la naturaleza altamente insaturada de los lípidos de la membrana es necesaria para los requerimientos metabólicos funcionales de la membrana (Bell *et al.*, 1986).

Hultin *et al.* (2005), citado por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) señalan que los fosfolípidos de membrana son más susceptibles a la oxidación que los triglicéridos y aunque su contenido en el músculo es menor que el de triglicéridos, tienen mayor injerencia en el desarrollo de la rancidez. Asimismo, Jaczynski *et al.* (2009) menciona que los fosfolípidos son difíciles de separar de los homogeneizados de pescado por sus características anfifílicas. A diferencia de los productos musculares de origen terrestre, las reacciones de oxidación son más frecuentes en los productos de pescado graso debido al alto nivel de saturación de sus lípidos. Aunque los ácidos grasos polinsaturados han sido correlacionados con una buena salud cardiovascular, son altamente susceptibles a la oxidación. La mayor parte de esos beneficios se han relacionado con los ácidos eicosapentanoico (EPA) y docosahexanoico (DHA), lo cual ha originado productos de alto valor agregado a suplementos alimenticios que contienen estos ácidos grasos.

2.2.3. Componentes nitrogenados no proteicos

Los componentes nitrogenados no proteicos (NNP) del músculo de pescado incluyen aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, óxido de trimetilamina (OTMA), creatina, amonio, bases púricas y, en el caso de los peces cartilagosos, urea. Cuantitativamente, el principal componente de la fracción NNP es la creatina; cuando el pez está en reposo, la mayor parte de la creatina es fosforilada y proporciona energía para la contracción muscular. El óxido trimetilamina (OTMA) es muy abundante en el músculo de peces marinos, pero escaso en los de agua dulce. Constituye una parte importante de la fracción nitrogenada no proteica en 1 a 5 %; la cantidad de OTMA depende de la especie, estación del año y área de pesca (Huss, 1999). Cuando el pez se altera, el OTMA se reduce a trimetilamina (TMA), que produce el olor típico a pescado descompuesto (Venugopal y Shahidi, 1996).

2.2.4. Vitaminas y minerales

La cantidad de vitaminas y minerales es específica de las especies y depende de la estación del año. El pescado es rico en vitaminas liposolubles A, D y E, a menudo en cantidades superiores a las encontradas en músculos de animales terrestres (Sayas *et al.*, 2009).

Con respecto a los minerales, la carne de pescado se considera como una fuente importante de calcio y fósforo, así como de hierro y cobre. Los peces del mar tienen alto contenido de yodo. Cabe destacar el alto contenido de sodio (122 mg/100 g), lo cual hace al pescado apropiado para ciertos regímenes alimentarios (Sayas *et al.*, 2009).

2.3. SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS DEL PESCADO

La solubilidad de las proteínas se define como el porcentaje de proteína contenida en un alimento, que es extraíble con agua o con solución salina en condiciones especificadas (Sikorski, 2001, citado por Cortés y Pacheco, 2009). También se define como la cantidad de proteína que se mantiene en solución después de aplicar al sistema una fuerza centrífuga por un tiempo determinado (Hultin *et al.*, 1995).

La solubilización de las proteínas les ayuda a mantener su estructura y a ser funcionalmente activas (Venugopal, 1997), depende de la proporción de grupos hidrófobos e hidrófilos que hay en la molécula proteica (Borderías y Montero, 1988).

La capacidad de solubilización de las proteínas del músculo de pescado es compleja debido a su interacción con otros componentes del tejido muscular (Shen, 1981; Hultin *et al.*, 1995). Por ejemplo es más difícil solubilizar proteínas de músculo rojo que de músculo blanco (Stanley *et al.*, 1994; Hultin *et al.*, 1995).

2.3.1. Efecto del pH

Las variaciones en el pH del medio afectan la solubilidad de las proteínas musculares, ya que se modifica su ionización y carga neta, alterando sus fuerzas atractivas y

repulsivas y la aptitud para asociarse con agua (Borderías y Montero, 1988; Kim *et al.*, 2003). A valores de pH superiores e inferiores al punto isoelectrico (pI), la proteína adquiere un incremento en su carga neta negativa o positiva, respectivamente. Estas cargas generan nuevos sitios de unión para el agua y resultan en la repulsión entre moléculas de proteína, incrementando su superficie de hidratación y en consecuencia, su solubilidad (Lin y Park, 1998; Choi y Park, 2002; Kristinsson e Ingadottir, 2006).

La solubilidad disminuye en el punto isoelectrico, ya que las cargas negativas y positivas en las moléculas de proteína se igualan y tienden a asociarse a través de enlaces iónicos e interacciones hidrofóbicas (Lin y Park, 1998). Si se representa la solubilidad de una determinada proteína en función del pH, suele obtenerse una curva en forma de U, cuyo mínimo corresponde con el punto isoelectrico (Choi y Park, 2002; Kim *et al.*, 2003). En la Figura 3 se muestra la solubilidad de las proteínas del pescado en función del pH.

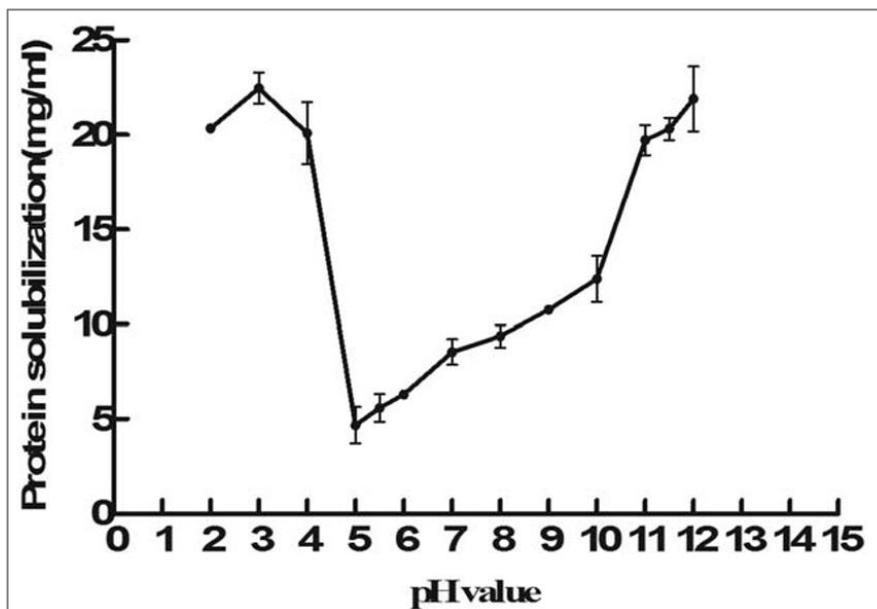


Figura 3: Efecto del pH sobre la solubilidad de las proteínas del músculo de la carpa de hierba.

FUENTE: Chen *et al.* (2016)

Badui (2006) señala que tanto las proteínas miofibrilares como las sarcoplasmáticas son altamente solubles a pH ácido y alcalino.

2.3.2. Efecto de la fuerza iónica

La solubilidad de las proteínas también es afectada por la fuerza iónica (μ) de la solución salina usada. Las proteínas miofibrilares muestran un aumento en su solubilidad “salting-in” con el incremento en las concentraciones de sal de 0,5 a 1M seguido de su disminución con posteriores adiciones de sal, mayores a 1M (Kim *et al.*, 2003). Las sales que incrementan la solubilidad de las proteínas también tienden a desnaturalizarlas. La acción desnaturalizante del NaCl, sobre las proteínas miofibrilares del pescado es intensa, de ahí la importancia de prevenir el espumado y mantener la temperatura por debajo de 5°C durante el proceso de extracción y evitar así una caída en su capacidad de solubilización (Hultin *et al.*, 1995).

Según Jaczynski *et al.* (2009) la fuerza iónica es un factor importante en la solubilidad de las proteínas, pues representa el estado de electrolitos o sales ionizadas presentes en un sistema. Generalmente cuanto mayor es la fuerza iónica, mayor es la concentración de sales en el sistema.

2.3.3. Efecto de la temperatura

En cuanto a la temperatura, las propiedades de hidratación de las proteínas disminuyen cuando ésta se incrementa, debido a la disminución en la capacidad de formar enlaces de hidrógeno. Las temperaturas elevadas tienden a desnaturalizar a las proteínas disminuyendo la capacidad de interacción de sus grupos polares con el agua (Borderías y Montero, 1988).

Al respecto, Bourgeois y Le Roux (1986) señalan que se emplean por lo general temperaturas bajas debido a los mejores rendimientos de extracción de proteínas obtenidos, además porque las temperaturas bajas impiden el desarrollo de microorganismos.

Según Meinke *et al.* (1972) los parámetros pH, fuerza iónica y temperatura están lejos de ser independientes unos de otros. Así en el caso de la extracción de proteínas de pescado, la solubilidad de las proteínas aumenta con la fuerza iónica si el pH está cercano al punto isoeléctrico y decrece, por el contrario, si el medio es completamente

ácido o alcalino. Igual a pH 3, el rendimiento de extracción es más alto a una temperatura de 22 °C que a 55°C, mientras que lo inverso se observa a un pH 11. Sin embargo, los mismos autores recomiendan que los estudios futuros deban incluir temperaturas inferiores a 22 °C, ya que se ha logrado extraer de 85 a 95 % de proteínas de pescado utilizando una temperatura de 5 °C.

Suzuki (1987) menciona que la solubilidad de la proteína miofibrilar varía en función de la temperatura y el pH del músculo, a un pH bajo y una temperatura alta originan desnaturalización de la proteína lo que conduce a una solubilidad baja.

2.3.4. Efecto de la relación músculo/agua y el tiempo de extracción

Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) señalan que la duración del tiempo de extracción y la relación entre la muestra y el medio de extracción influyen considerablemente en la cantidad de proteína solubilizada. La solubilidad de la proteína aumenta a medida que aumenta la relación músculo/agua y el tiempo de extracción.

Batista (1999) indica que el uso de una alta proporción de extractante durante el proceso de cambio de pH da como resultado un extracto muy diluido que es ineficiente para recuperarse. Por otro lado, una baja relación da más viscosidad, lo que hace que sea muy difícil centrifugar y separar partículas sólidas.

Hultin *et al.* (2005) citado por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) indican que la extracción de proteínas de un proceso de cambio de pH se puede lograr con 5 a 10 volúmenes de agua con álcali o ácido. Hultin y Kelleher (2001) mencionan que típicamente se usa la relación de peso/volumen de líquido mayor a 1/7 y de preferencia mayor a 1/9, ya que el tejido muscular de proteínas se debe mezclar con un líquido acuoso a una proporción de peso/volumen que permita formar una composición acuosa que no tenga una viscosidad alta.

Shaviklo (2006) señala que el tiempo de extracción debe ajustarse para tener una tasa máxima de extracción y que un tiempo de extracción de 20 minutos del músculo de la caballa, produjo algo menos de 80% de extracción de proteína soluble. Por otro lado,

Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) señalan que la mayor extracción de proteínas se observa a los 15 a 20 minutos.

2.4. AISLADOS PROTEICOS

Según Rivera (2006) existe la necesidad de desarrollar los procesos necesarios para aislar o extraer las proteínas de sus fuentes orgánicas originales. Se obtienen así los denominados aislados proteicos, que constituyen un purificado proteico a partir del alimento o fuente orgánica inicial. De esta manera, se llega a obtener un macronutriente purificado con papel nutricional y tecno-funcional en la elaboración tecnológica e industrial de alimentos.

Los aislados proteicos tienen diversas aplicaciones como ingredientes y aditivos alimentarios, cuyas propiedades dependen del número y tipo de proteínas presentes, así como de su pureza (Badui, 2006).

En términos generales, se pueden distinguir tres tipos de productos: harinas, concentrados y aislados. Estos tres productos no significan lo mismo, si son considerados desde un punto de vista tecnológico o comercial. En el plano tecnológico la noción de harinas, concentrados y aislados es confusa. Puede afirmarse que el término aislado se reserva para productos que proceden de una extracción “positiva” (aislamiento de proteínas por extracción sólido-líquido). Harinas y concentrados, proceden, por el contrario, de una extracción “negativa” por eliminación de compuestos no proteicos. Desde el punto de vista comercial se considera como harinas, a productos cuya concentración en proteínas es inferior a 70 %; como concentrados a aquellos cuya concentración en proteínas oscile de 70 a 85 % y como aislados a productos cuya concentración en proteínas exceda de 85 % (Bourgeois y Le Roux, 1986).

En la preparación de aislados proteicos, en lugar de eliminar los constituyentes no proteicos, el esfuerzo se dirige al aislamiento de la fracción proteínica del medio complejo constituido por materia prima. La mayor parte de los procesos realizan primero, la solubilización de las proteínas en un medio apropiado y después una precipitación de las proteínas del medio de extracción por diferentes métodos

(precipitación isoelectrica, modificación de la fuerza iónica, coagulación por calor, etc.) (Bourgeois y Le Roux, 1986). En la Tabla 4 se muestran los niveles de proteína de productos elaborados a partir de pescado.

Tabla 4: Niveles de proteína de diversos productos elaborados a partir de pescado

Producto	Nivel de proteína (%)
Harina de pescado	70
Concentrado proteico de pescado	65 – 80
Aislado proteico de pescado	95
Hidrolizado proteico de pescado	90
Hidrolizado de colágeno de pescado	90 – 93

FUENTE: Geirsdóttir (2005)

2.5. PROCESO DE AISLAMIENTO DE PROTEÍNAS DE PESCADO

Según Meinke *et al.* (1972) el enfoque básico para un aislado de proteína, implica cuatro pasos esenciales: a) una solución de la proteína en medio acuoso con pH apropiado y/o condiciones de sal, b) eliminación de los residuos insolubles (huesos, piel, escamas, etc.) de la solución de proteína; c) recuperación de las proteínas de la solución por ajustes del pH o diluciones apropiadas; y d) la purificación y secado de la fracción de proteína.

El proceso de aislamiento de proteínas, sigue generalmente tres pasos: extracción, precipitación y secado de la proteína precipitada (Kramer y Kwee, 1977, citados por Liadakis *et al.*, 1995).

2.5.1. Método de cambio de pH ácido y alcalino

El método de aislamiento de proteínas ácido y alcalino es un método relativamente nuevo utilizado para la extracción de proteínas. Hultin y Kelleher (2000) señalan que el proceso de aislamiento de proteínas de pescado que utiliza una solubilización ácida o

alcalina seguida de una precipitación isoelectrica proporciona rendimientos extremadamente altos con la inclusión de proteínas sarcoplasmáticas, además demuestra mejores propiedades funcionales. Asimismo, Theodore (2005) menciona que estos procesos se basan en una solubilización alcalina ($\text{pH} > 10$) o ácida ($\text{pH} < 3$), separación de constituyentes indeseables por centrifugación y finalmente precipitación isoelectrica de las proteínas. En la Figura 4, se muestra el proceso de cambio de pH para producir aislados proteicos de pescado.

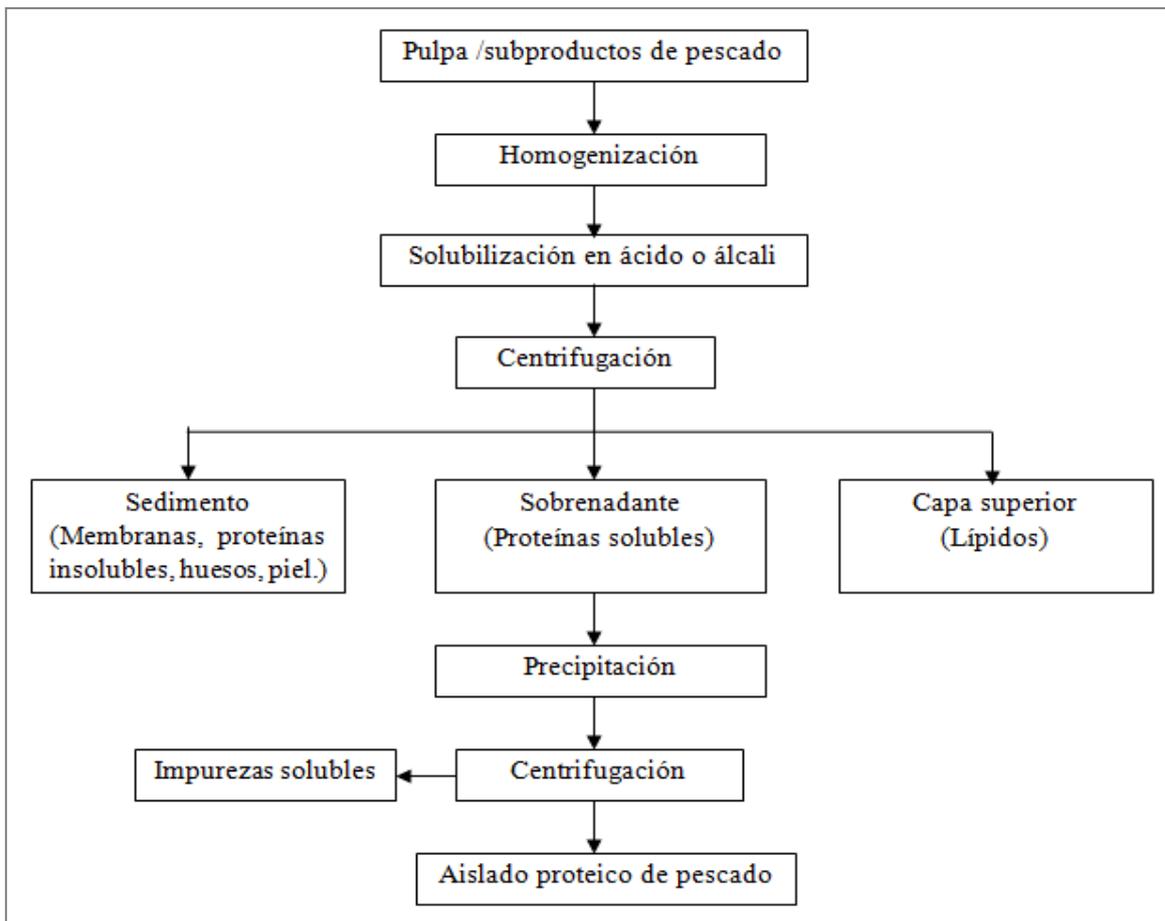


Figura 4: Método de cambio de pH para la producción de aislados proteicos de pescado.

FUENTE: Shaviklo (2015)

El punto isoelectrico (pI) de las proteínas es el pH al cual una proteína tiene carga electrostática cero. En el punto isoelectrico las proteínas no son solubles en agua debido a que la atracción hidrófoba proteína-proteína es mayor que la atracción electrostática proteína-agua resultando en una precipitación isoelectrica. Por otra parte, cuando el pH se desplaza alejándose del punto isoelectrico de una proteína, se favorece la atracción de

proteína-agua y la repulsión electrostática proteína-proteína, lo que da como resultado la solubilización de las proteínas (Matak *et al.*, 2015).

En los procesos ácidos o alcalinos, primero se tritura el músculo de los pescados y se homogeniza en agua para aumentar el área superficial, permitiendo así la máxima solubilidad de la proteína, además para prevenir los cambios funcionales no deseados en las proteínas es importante mantener la temperatura de homogeneización por debajo de 10 ° C. Asimismo, el diluir el músculo diez veces con agua durante la homogeneización y la fase de ajuste a pH alto o bajo, permite una gran relación de contacto entre la proteína y el agua, lo que permite un gran rendimiento final en la extracción de proteínas (Theodore, 2005).

Kristinsson e Ingadottir (2006) mencionan que es necesario que el homogeneizado tenga una viscosidad baja, para separar el material insoluble de las proteínas solubles vía centrifugación; particularmente los lípidos de membrana que pueden oxidar y generar problemas de rancidez y agregación de proteínas.

Las etapas de centrifugación tienen dos propósitos, la primera etapa de centrifugación separa materiales indeseables tales como hueso, tejido conectivo y lípidos de las proteínas solubles. Esta primera etapa de centrifugación es crítica porque elimina cantidades significativas de lípidos de membrana, que son los más susceptibles a la oxidación de lípidos, mientras que la segunda centrifugación actúa como un auxiliar de deshidratación (Theodore, 2005).

Asimismo, Kristinsson y Demir (2003) citados por Tian *et al.* (2017) informaron que a un pH de extracción elevado, las proteínas se solubilizan por completo y se separan de los lípidos de almacenamiento y los fosfolípidos de membrana. Nolsoe y Undeland (2009) sugirieron que la reducción de lípidos es de importancia para reducir la susceptibilidad de un aislado proteico a la oxidación de lípidos.

Kristinsson *et al.* (2005) menciona que a valores extremos de pH, se solubilizan las proteínas musculares causando una disminución en la viscosidad de la solución, permitiendo que las membranas celulares se separen mediante centrifugación, al igual que las grasas neutras y los sólidos sedimentables como huesos y escamas. Cortés y

Pacheco (2009) señalan que al centrifugar el homogeneizado con el pH modificado se generan cuatro fases: la primera fase superior que contiene lípidos neutros (la cual es mínima cuando se utiliza pescado magro), la segunda fase que es un sedimento el cual contiene piel, lípidos de membrana y huesos (cuando se parte de pescado entero), la tercera fase que es una solución de proteínas y la cuarta fase intermedia que está entre estas dos últimas denominada gel suave. En una siguiente etapa se ajusta el pH de la tercera fase (solución de proteínas) entre 5 a 5,5, utilizando NaOH 1 M o HCl 1 M, según el tratamiento usado. A este pH las proteínas son menos solubles y precipitan, pudiendo ser visualizadas como hebras blancas en suspensión. Thorkelsson *et al.* (2008) citados por Shaviklo *et al.* (2012) mencionan que el aislado de proteína de pescado obtenido de este proceso puede congelarse como surimi o puede ser secado para su posterior utilización.

Según Lansdowne *et al.* (2009) debido a que las proteínas se disuelven a valores muy altos de pH (10,5 a 13) o pH muy bajos (1,5 a 3), el proceso de solubilización y precipitación isoelectrica produce una reducción microbiana leve.

Hultin *et al.* (2005) citado por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) señalan que los procesos ácidos y alcalinos conducen a rendimientos significativamente más altos que el proceso de surimi convencional, este mayor rendimiento se atribuye en parte a las proteínas sarcoplásmicas solubles en agua que se recuperan en el proceso ácido y alcalino.

Park (2009) indica que el proceso de solubilización y precipitación isoelectrica induce la desnaturalización química ajustando el pH a una condición de ácido o álcali y neutralizando con NaOH o HCl. El mismo autor menciona que se han llevado a cabo numerosas investigaciones sobre aislados funcionales de proteínas de pescado de diversas especies (bacaladilla, arenque, bagre, sardina del Pacífico, corvina del Atlántico, tilapia, jurel, trucha, krill y Calamar gigante). Además se han evaluado sus propiedades físicas y químicas y se ha medido la desnaturalización inducida por productos químicos y el replegamiento inducido por productos químicos para determinar los cambios de conformación en la estructura proteica.

2.5.1.1. Comparación entre el método de cambio de pH ácido y alcalino

Hultin *et al.* (2005) citados por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) indican que aunque la solubilización a pH ácido da mayores porcentajes de recuperación, comparándola con los obtenidos a pH básico, la calidad de la textura de los geles de proteínas hechos con proteínas recuperadas a pH básico es mejor que la de los elaborados con proteínas recuperadas a pH ácido, los geles de proteínas recuperadas a pH básico son más firmes y con mayor blancura que los de proteínas recuperadas a pH ácido.

Por otro lado, Chen y Jaczynski (2007) señalaron que el proceso de cambio de pH ácido generalmente daba un mayor rendimiento pero una menor reducción total de lípidos del aislado proteico de los subproductos de trucha arco iris que el equivalente alcalino. Sin embargo, Tian *et al.* (2017) reportó que el rendimiento de recuperación de proteína en condiciones alcalinas es ligeramente mejor que en condiciones ácidas, 87,6% en condiciones alcalinas a pH 12,5 comparado con 76,3% en condiciones ácidas a pH 2,5.

Asimismo, Theodore (2005) menciona que para el proceso alcalino, la reducción de lípidos fue significativamente mayor. Además, el análisis de color mostró mayor blancura y menor amarilleamiento en las proteínas del proceso alcalino en comparación con el proceso ácido.

Según Kristinsson y Hultin (2004) el proceso con álcali ha demostrado una desnaturalización proteica menor y, por lo tanto, menos coagulación de proteínas en comparación con el proceso ácido, lo que podría conducir a una menor recuperación de proteína total para el proceso alcalino.

2.5.1.2. Obtención de aislados proteicos de diversos tipos de pescado

Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) realizaron la solubilización y precipitación isoelectrica de las proteínas de los subproductos de tilapia, el proceso implicó moler los subproductos y se mezcló con agua destilada fría en una proporción 1/9 (p/v). El pH de la mezcla se ajustó a pH 2 a 12 usando NaOH 2N o HCl 2N y se agitó durante 20

minutos. La solución se centrifugó a 10000 x g durante 15 minutos a 4°C. El sobrenadante se precipitó a pH 5,5, finalmente la proteína aislada se ajustó a pH 7.

Chen *et al.* (2016) utilizaron músculo molido de carpa de hierba en una relación 1/6 (p/v) con agua destilada fría 4°C. Se homogenizó y el pH se ajustó a pH 3 y pH 12 utilizando una solución de NaOH 0,5N o HCl 0,5 N, respectivamente. Los homogenizados se centrifugaron a 10000 x g durante 20 minutos. El pH de la solución de proteína solubilizada se ajustó a su punto isoeléctrico pH 5 y se centrifugó nuevamente a 10000 x g por 20 min. El aislado proteico fue ajustado a pH 7.

Tian *et al.* (2017) usaron músculo blanco de carpa común molida en una proporción 1/9 (p/v) con agua desionizada fría. La mezcla se ajustaron a pH 2,5 y 12,5 usando HCl 1 M o NaOH 1 M durante 30 minutos, luego se centrifugaron a 12000 x g durante 30 minutos a 4°C. Posteriormente se recogió el sobrenadante que contenía la proteína solubilizada y se ajustó a pH 5,5 y se centrifugó a 12000 x g durante 10 minutos. Finalmente se ajustó a pH 7.

2.5.2. Calidad nutricional de los aislados proteicos de pescado

El aislado de proteína recuperada por solubilización y precipitación isoeléctrica contiene 87 a 95 % de proteína bruta, 1 a 5 % de lípidos y 2 a 6 % de ceniza. La composición proximal de proteínas aisladas recuperadas mediante este procesamiento varía según la fuente de proteína, el pH y el tipo de ácido y base utilizados durante la solubilización y precipitación isoeléctrica (Tascaya *et al.*, 2009).

García (1990) menciona que sin las proteínas no sería posible la vida, pues, aparte de construir el armazón principal de todas las células y tejidos del cuerpo, no podrían realizarse a tiempo las reacciones biológicas que constituyen el metabolismo y que están catalizadas por enzimas, ya que las propias enzimas son proteínas. También lo son los anticuerpos que nos defienden contra las infecciones, muchas hormonas, la materia contráctil de los músculos y la parte de los huesos donde se fijan las sales de calcio. Unidas a otras sustancias, forman compuestos importantes; por ejemplo, con lípidos forman las lipoproteínas. Por si fuera poco también pueden producir energía al transformarse en hidratos de carbono algunos de sus componentes.

Theodore (2005) señala que las proteínas encontradas en el músculo de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) incluyen cadenas pesadas de miosina, subunidad α -actinina, desmina y vimentina, actina, paratropomiosina, subunidad de β -actinina y subunidad de γ -actina. En el sobrenadante de la primera centrifugación usando el método de cambio de pH ácido y alcalino se encuentran la miosina, la actina, la subunidad de tropomiosina, β -actinina y γ actinina mientras que en el sobrenadante de la segunda centrifugación se encuentran mioglobina, hemoglobina o parvalbúmina. En hidrolizados de bagre de canal, los aminoácidos en mayor abundancia incluyen LYS (lisina), ASX (que representa asparagina y ácido aspártico), GLX (que representa tanto glutamina como ácido glutámico), ALA (alanina) y LEU (leucina). Por otro lado, los aminoácidos presentes en cantidades más bajas incluyen SER (serina), CYS (cisteína), HIS (histidina) y THR (treonina), también estuvieron presentes los aminoácidos (VAL) valina, (MET) metionina, (ILE) isoleucina, (PHE) fenilalanina, (ARG) arginina, (GLY) glicina, (TYR) tirosina y (PRO) prolina.

De los aminoácidos que componen las proteínas, hay unos cuantos que son indispensables ingerir, por lo que el cuerpo es incapaz de fabricarlos. Tales aminoácidos esenciales son ocho para el adulto: leucina, isoleucina, lisina, treonina, triptófano, valina, metionina (en ocasiones sustituible por cistina) y fenilalanina (a veces sustituible por tirosina). En el niño hay que añadir histidina y a veces arginina (Roldán, 2002).

La calidad nutricional de una fuente de proteína se determina en base a la presencia de los nueve aminoácidos esenciales en cantidades adecuadas para apoyar la salud humana o animal. El proceso alcalino permite la recuperación de aislados proteicos con mayor calidad nutricional según se ha evaluado por un mayor contenido de aminoácidos esenciales en comparación con el proceso ácido. Asimismo, Matak *et al.* (2015) indican que los aislados de proteína recuperados son de alta calidad, ya que contienen todos los aminoácidos esenciales en cantidades adecuadas, dichos aminoácidos esenciales se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Contenido de aminoácidos esenciales (mg/g) en el aislado proteico recuperado de subproductos de procesamiento de pescado por solubilización y precipitación isoeléctrica

Aminoácidos esenciales	Proteína recuperada de subproductos de procesamiento de pescado en diferentes tratamientos (valor de pH) (mg / g de proteína)					
	2,0	2,5	3,0	12,0	12,5	13,0
Isoleucina	38,91±0,50b	36,31±0,20c	39,52±0,75b	42,11±0,36a	41,49±0,43a	42,81±0,28a
Leucina	65,51±0,08c	60,47±0,20d	65,89±0,31c	69,50±0,00b	69,08±0,32b	71,02±0,37a
Lisina	73,61±0,40c	66,96±0,23d	73,38±0,35c	76,34±0,24b	76,28±0,39b	78,35±0,42a
Metionina	26,30±0,50a	22,40±0,15b	25,53±0,04a	26,21±0,54a	26,14±0,67 ^a	26,21±0,37a
Fenilalanina	33,94±0,35d	30,96±0,48e	34,17±0,13cd	35,48±0,43b	35,06±0,12bc	36,79±0,07a
Treonina	36,85±0,78c	34,25±0,33d	36,77±0,60c	38,38±0,84bc	39,00±0,36ab	40,59±0,18a
Triptófano	10,24±0,20c	9,25±0,38d	9,02±0,15d	11,00±0,21ab	10,65±0,28bc	11,55±0,14a
Valina	46,48±0,84c	42,88±0,26d	47,01±0,83c	49,93±0,35ab	48,87±0,45b	50,83±0,24a
Histidina	21,25±0,20c	19,03±0,13d	21,02±0,15c	22,61±0,12b	22,47±0,18b	23,44±0,12a

FUENTE: Matak *et al.* 2015

Los valores medios en filas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

2.5.3. Uso y aplicaciones de los aislados proteicos de pescado

Bourgeois y Le Roux (1986) indican que los concentrados sin sabor a pescado se pueden utilizar en algunos países del tercer mundo para complementar la alimentación de niños pequeños (caldos, purés, cereales, etc.) y para enriquecer los alimentos básicos de poblaciones donde el pescado no es apreciado (pan, pastas alimenticias, harinas de cereales).

Por otro lado, la demanda de los consumidores de productos alimenticios saludables está aumentando en todo el mundo. Los nuevos productos deben ajustarse no solo a las necesidades del consumidor, sino también a su estilo de vida e ingresos. Aunque los aspectos de salud deben considerarse para todos los alimentos, el crecimiento del mercado de alimentos funcionales actualmente supera a los productos alimenticios tradicionales (Tahergorabi *et al.*, 2012).

Matak *et al.* (2015) menciona que los aislados de proteínas de subproductos del procesamiento de alimentos musculares y carnes de bajo valor podrían usarse como un ingrediente principal a granel en productos alimenticios nutracéuticos y funcionales destinados al consumo directo.

Según Geirsdóttir (2005) los aislados de proteínas de pescado se usan típicamente como productos y como insumos para hacer análogos de mariscos de surimi. Asimismo, menciona que uno de los usos más prometedores de los aislamientos de proteína de pescado es su uso como productos de enriquecimiento de proteínas.

Venugopal *et al.* (1996) indican que la proteína de pescado seco o el polvo de proteína de pescado es un excelente suplemento dietético y puede añadirse a una amplia gama de productos para proporcionar una fuente saludable de proteínas de fácil digestión.

Asimismo, el aislado de proteína de pescado se utiliza como aglutinante, agente dispersante y emulsionante en la producción de productos reestructurados, mariscos formulados y otros productos alimenticios debido a sus fuertes interacciones con otras proteínas y su alta capacidad de formación de gel (Ramírez *et al.*, 1999, Chung *et al.*, 2000 y Carvajal *et al.*, 2005, citados por Shaviklo, 2015).

2.5.4. Propiedades funcionales de los aislados proteicos de pescado

Según Cheftel *et al.* (1989) el término “propiedad funcional” que se aplica a los ingredientes alimenticios, se define como toda propiedad no nutricional que influencia la utilidad de un ingrediente en un alimento. La mayor parte de las propiedades funcionales influyen en el carácter sensorial del alimento (en especial, la textura), pero también pueden tener un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento.

La Tabla 6 muestra los diferentes tipos de interacciones de las proteínas en sistemas alimentarios, importantes en la definición de las características sensoriales de los productos elaborados.

Tabla 6: Interacción de las proteínas en sistemas alimentarios y su impacto en la funcionalidad.

Interacción		
Con agua, iones o		
Con iones y agua	macromoléculas	En la interfase
Humectabilidad	Formación de fluidos viscosos	Formación de emulsiones
Absorción de agua	Gelificación	Estabilización de emulsiones
Hinchamiento	Formación de películas	Formación de espumas
Retención de agua	Formación de fibras	Estabilización de espumas
Formación de dispersiones en sistemas acuosos	Formación de masa	Ligados del compuesto del sabor.
Solubilización en sistemas acuosos		

FUENTE: Cortés y Pacheco 2009

Borderías y Montero (1988) exponen que en función de las interacciones predominantes, las propiedades funcionales de las proteínas se pueden clasificar en: propiedades de hidratación (interacciones proteína-agua), como la capacidad de retención de agua y solubilidad; propiedades reológicas (interacciones proteína-proteína), como la capacidad de gelificación y texturización; y propiedades de superficie (tensión superficial), como la capacidad emulsionante y espumante.

2.5.4.1. Propiedades de solubilidad e hidratación

El comportamiento de las proteínas en cuanto a la solubilidad es muy diverso, depende del número de grupos polares y apolares y de su ordenación en las moléculas. En general, las proteínas sólo son solubles en solventes fuertemente polares, como por ejemplo el agua, glicerol, formamida, ácido fórmico; en solventes menos polares, como el etanol, sólo en casos excepcionales hay una notable solubilidad (prolaminas). La solubilidad en agua depende del pH y de la presencia de sales (Belitz y Grosh, 1997).

Las proteínas en estado seco se hidratan mediante sus aminoácidos hidrófilos y retienen una cantidad de agua que está en equilibrio con la humedad relativa del medio ambiente; a esta propiedad se le llama capacidad de retención de agua, o sencillamente hidratación. Al colocar la molécula hidratada en un recipiente con agua, tenderá a saturar sus grupos hidrófilos con el disolvente hasta llegar a su solubilización. En general, cuanto más desnaturalizada esté la proteína más difícil es la solubilización puesto que se facilitan las interacciones proteína-proteína, y se puede llegar hasta la precipitación (Cheftel *et al.*, 1989).

2.5.4.2. Propiedades dependientes de la interacción proteína-proteína

En la mayoría de los casos es indispensable un tratamiento térmico para conseguir una gelificación. Puede necesitarse un enfriamiento posterior, y a veces resulta aconsejable una acidificación ligera. Asimismo, puede necesitarse una adición de sales, concretamente iones calcio, lo que aumenta la velocidad de gelificación y/o la firmeza del gel (Cheftel *et al.*, 1989).

Un gel es un sistema semisólido de viscosidad alta que consiste en una red tridimensional formada por la asociación de macromoléculas dispersas en solución. En la red hay uniones de cadenas poliméricas que forman enlaces cruzados y segmentos de cadenas extendidas aleatoriamente. La formación de un gel resulta del equilibrio entre fuerzas atractivas y repulsivas entre cadenas polipeptídicas. La funcionalidad de las proteínas del músculo de pescado está asociada con su capacidad para formar un gel durante su calentamiento (Borderías y Montero, 1988).

La capacidad de formación de gel se ve afectada por el grado de desnaturalización de las proteínas miofibrilares, concentración relativa de proteína miofibrilar, proteína sarcoplasmática y del estroma, y aditivos utilizados para la protección de las proteínas durante el almacenamiento congelado y secado (Lanier y Carvajal, 2005, citados por Shaviklo *et al.*, 2012).

2.5.4.3. Propiedades superficiales

Cheftel *et al.* (1989) define a las emulsiones como dispersión de dos líquidos no miscibles, de los cuales uno se encuentra bajo la forma de pequeñas gotitas dispersas y el otro bajo la forma de una fase continua dispersante. La mayor parte de las emulsiones alimenticias son del tipo aceite en agua o bien agua en aceite. Sin embargo existen numerosos productos alimenticios que son emulsiones (leche, crema, helados, queso fundido, mayonesa, etc.) donde los constituyentes proteicos tienen frecuentemente, un papel preponderante en la estabilización de estos sistemas coloidales. Las proteínas se adsorben en la interfase entre las gotitas de aceite disperso y la fase acuosa continua y aportan propiedades físicas y reológicas (espesamiento, viscosidad, elasticidad-rigidez) que determinan la resistencia de las gotitas a la coalescencia. Asimismo, según el pH, se puede producir la ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos y esto aporta fuerza de repulsión electrostática que favorece la estabilidad de la emulsión.

Según Foh *et al.* (2012) la capacidad de las proteínas para formar emulsiones es importante en las interacciones entre proteínas y lípidos en muchos sistemas alimentarios. Se han reportado que los aislados proteicos de pescado tienen propiedades emulsionantes relativamente buenas.

Al respecto, Mutilangi *et al.* (1996) mencionan que los aislados con alta solubilidad pueden difundirse rápidamente y adsorberse en la interfaz. Además que los contenidos más altos de péptidos de mayor peso molecular o más péptidos hidrófobos contribuyen a las propiedades de emulsión.

Foh *et al.* (2012) mencionan que las interacciones de agua y aceite con proteínas son muy importantes en los sistemas alimentarios debido a sus efectos sobre el sabor y la textura de los alimentos. Además, la alta absorción de aceite es esencial en la formulación de sistemas de alimentos como salchichas, tortas, masas, mayonesa y aderezos para ensaladas.

2.6. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PROTEÍNAS

2.6.1. Método espectrofotométrico de biuret

La reacción de biuret implica la reacción de iones de cobre con enlaces peptídicos, formando un complejo púrpura en solución alcalina (Layne, 1957; Torten y Whitaker, 1964).

Nollet (1996) citado por Velásquez *et al.* (2015) menciona que el método comprende un ensayo colorimétrico de un paso donde se cuantifica la formación de un complejo estable entre proteínas y cobre (II). El complejo presenta un color violeta característico, que se puede observar a 310 nm o 540-560 nm, el cual se da por la coordinación de un átomo de cobre con cuatro átomos de nitrógeno. El complejo se basa en la desprotonación de los grupos amida para formar el enlace con el cobre (II) o por el establecimiento de un enlace coordinado entre el metal y los pares de electrones libres de los átomos de oxígeno y de nitrógeno del péptido. Después de la adición del reactivo de cobre se requiere de tiempo para desarrollar una coloración de biuret estable; es necesario considerar la posible influencia de aminoácidos libres que forman buffer en configuración tris y amoniaco.

La reacción de biuret es específica para la medición del enlace peptídico, por lo que solo se recomienda para la cuantificación de proteínas mas no de hidrolizados, a menos que

se conozcan los tamaños moleculares y se adapte la proteína estándar de la curva. La desventaja de la técnica de biuret es su baja sensibilidad, pues se requiere de 20 a 40 mg de proteína para una adecuada detección y existen varios pigmentos que absorben a 540 nm, longitud de onda de la medición (Badui, 2006).

2.6.2. Método de Kjeldahl

El método Kjeldahl se caracteriza por el uso de ebullición, ácido sulfúrico concentrado que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco el amonio es retenido como bisulfato de amonio y puede ser determinado *in situ* o por destilación alcalina y titulación (FAO, 2007).

Según Pearson (1993) el método Kjeldahl consta de tres etapas: digestión, destilación y valoración.

El método de Kjeldahl para la determinación de nitrógeno total es el más utilizado, e incluso se toma como referencia cuando se usan otras técnicas. El método no hace distinción entre el nitrógeno que proviene de proteínas (de grupos amino y amida) y el no proteínico (urea, aminoácidos), lo que da lugar a errores en cálculo (Badui, 2006).

2.7. SECADO POR LIOFILIZACIÓN

La liofilización es un proceso de conservación para productos perecederos por deshidratación a vacío, para lograr una mejor conservación. El primer paso para la liofilización es la congelación previa del producto, para posteriormente sublimar el hielo, generalmente a baja presión, y finalmente terminar de eliminar el agua no congelada por evaporación (Alted, 2015).

Cheftel (1992) citado por Boñón (2012) indica que la liofilización (o criodesecación en inglés “freeze-drying”) es una técnica reciente que viene siendo objeto de numerosos estudios desde hace unos treinta años.

Un proceso típico de liofilización se subdivide en 3 etapas: congelación, secado primario y secado secundario. La Figura 5 muestra las etapas y la evolución de la temperatura del producto durante la liofilización.

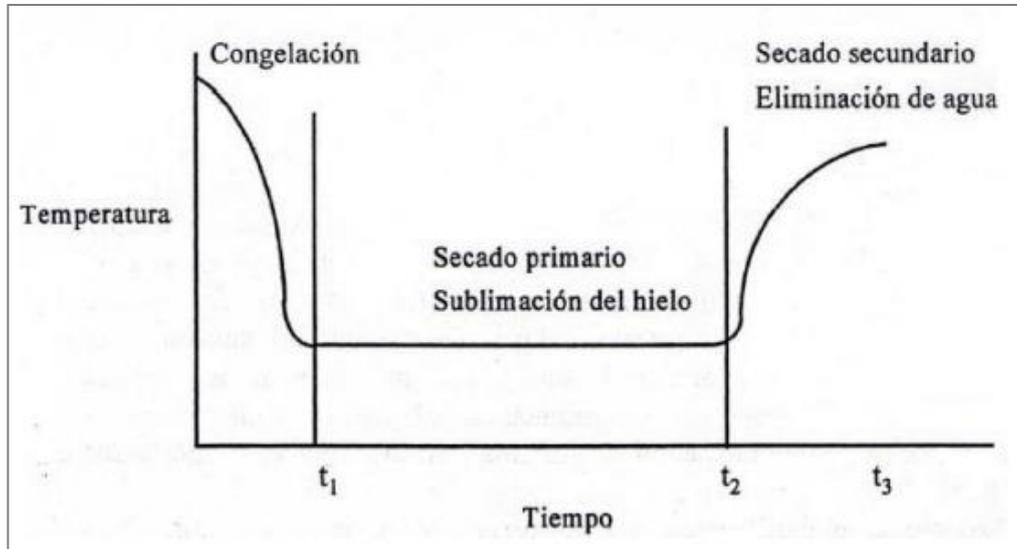


Figura 5: Etapas del secado por liofilización

FUENTE: Barbosa y Vega (2000)

2.7.1. Etapas principales de la liofilización

2.7.1.1. Etapa de congelación

Las principales ventajas de la liofilización se fundamentan en que la deshidratación se hace en un medio totalmente sólido y a baja temperatura. No hay movimiento de líquidos y solutos, no hay contracción de volumen y prácticamente no existen reacciones químicas o enzimáticas. Para que estas ventajas se manifiesten claramente se necesita que esté congelada la mayor parte del agua del alimento: también se necesita que la temperatura de la parte congelada del alimento se mantenga lo suficientemente baja (inferior a unos -20°C), durante la liofilización, con el fin de evitar la fusión de eutécticos, que consisten en cristales de hielo y componentes del alimento (Cheftel, 1992 citado por Boñón, 2012).

La temperatura de congelación para el agua pura permanece constante en el punto de congelación hasta que el agua se ha congelado. Para los alimentos, la temperatura de

congelación es más baja que para el agua pura, ya que los solutos del agua no congelada se van concentrando y la temperatura de congelación va disminuyendo continuamente hasta que la solución queda congelada. Al final de la congelación la masa entera del producto se ha convertido en rígida, formando un eutéctico. Se requiere llegar al estado eutéctico para asegurar la eliminación del agua sólo por sublimación y no por combinación de sublimación y evaporación. Se debe evitar una fusión y una inadecuada congelación ya que la formación de sustancias porosas y gomosas aparecerá en el producto final (Barbosa y Vega, 2000).

Orrego (2008) indica que cada producto debe congelarse de una manera tal que se garantice que sufrirá pocas alteraciones en el proceso posterior de sublimación. Se debe conocer con precisión la temperatura en la que ocurre la máxima formación de hielo, la velocidad óptima de enfriamiento y la temperatura mínima de fusión incipiente. Se busca que el producto ya congelado tenga una estructura sólida sin intersticios en los que haya líquido concentrado para propiciar que el máximo secado ocurra por sublimación.

2.7.1.2. Etapa de secado primario

La primera etapa de secado consiste en la sublimación del hielo del producto, para la cual se requiere gran energía, que suministrada en condiciones de vacío, hace que el calor atraviese las capas congeladas o secas del alimento. El vapor de agua producido en la sublimación es eliminado a través de los poros de la matriz sólida del producto. El condensador previene el retorno del vapor de agua hacia el producto. La fuerza impulsora para la sublimación es la diferencia entre la presión del vapor de agua en la interfase del hielo y la presión parcial del vapor de agua en la cámara de secado. Durante esta etapa, toda la energía que es cedida al producto, es utilizada como calor latente para el cambio de estado de hielo a gas, por lo que la temperatura del producto apenas se ve modificada. El secado primario es la etapa más larga del secado por liofilización y, por tanto, la que debe ser objeto de estudio para tratar de acortarla y, así, abaratar el proceso (Alted, 2015).

La desecación primaria corresponde a la sublimación de toda el agua congelada del alimento. La velocidad de esta desecación es proporcional a la diferencia entre las

presiones parciales de vapor de agua del hielo, que se encuentra respectivamente, a nivel del frente de sublimación y sobre el condensador. Como las diferencias de vapor puestas en juego son muy bajas, se explica que la velocidad de liofilización sea siempre pequeña. La resistencia a la transferencia de vapor aumenta muy claramente y la velocidad de deshidratación disminuye cuando aumenta la presión en el recinto de la liofilización. Tiene una importancia básica el que la velocidad de deshidratación esté limitada por la transferencia de vapor o por transferencia de calor, por el espesor de la capa seca y también por el espesor total del producto; en efecto, la duración de deshidratación es aproximadamente proporcional al cuadrado del espesor. Esto explica además la disminución progresiva de la velocidad de deshidratación durante la liofilización (Cheftel, 1992 citado por Boñón, 2012).

2.7.1.3. Etapa de secado secundario

La etapa secundaria de secado comienza cuando se ha agotado el hielo en el producto y la humedad proviene del agua parcialmente ligada en el material que se está secando. En este momento la velocidad de calentamiento debe disminuir para mantener la temperatura del producto por debajo de los 30-50°C, lo que evita el colapso del material. Si la parte sólida del material está demasiado caliente la estructura se colapsa, lo que se traduce en una disminución de la velocidad de sublimación de hielo en el producto en el frente de hielo del producto. La etapa secundaria de secado tomará una tercera parte del ciclo de secado en desorber la humedad desde la superficie interior dentro del producto seco (Barbosa y Vega, 2000).

Si la temperatura del producto seco sobrepasa un cierto nivel puede haber pardeamiento no enzimático, destrucción de pigmentos, desnaturalización de proteínas, fusión y migración de lípidos y derrumbamiento de la estructura porosa con pérdida de sustancias volátiles aromáticas. Se debe resaltar que los parámetros de la liofilización se pueden controlar de manera que la pérdida de sustancias aromáticas sea mínima (Cheftel, 1992 citado por Boñón, 2012).

2.7.2. Características de la liofilización

Según Longmore (1971) citado por Barbosa y Vega (2000) la liofilización se ha mostrado como un método efectivo para ampliar la vida media de los alimentos y tiene dos características importantes:

- Virtual ausencia de aire durante el procesado, la ausencia de aire y la baja temperatura previene el deterioro debido a la oxidación o las modificaciones del producto.
- Secado a una temperatura inferior al ambiente: los productos que se descomponen o sufren cambios en su estructura, textura, apariencia, y/o aromas como consecuencia de temperaturas altas pueden secarse bajo vacío con un daño mínimo.

Los productos liofilizados, que han sido adecuadamente empaquetados pueden ser almacenados durante tiempos ilimitados, reteniendo la mayoría de propiedades físicas, químicas, sensoriales de su estado fresco; además reduce las pérdidas de calidad debidas a las reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático (Barbosa y Vega, 2000).

2.7.3. Ventajas y desventajas de la liofilización

La principal ventaja de esta técnica es la calidad del producto final, además de la reducción en el peso del producto y la consecuente facilidad para su transporte y almacenamiento. Los productos liofilizados resultan altamente estables en el tiempo, sin necesidad de haber aplicado altas temperaturas ni tener que añadir aditivos. En ellos se mantiene, en gran medida, el sabor, la forma y el color originales y la pérdida de sustancias termolábiles y constituyentes volátiles es mínima. Además los constituyentes oxidables están protegidos y la rehidratación es rápida e íntegra (Barreto, 1966).

Como inconvenientes hay que mencionar la inversión en los equipos, el alto coste energético de la operación y elevado tiempo de proceso. En efecto, la baja presión del proceso y la baja conductividad térmica de los productos liofilizados, debido a la textura

porosa, afectan de manera significativa y negativa a la transferencia de calor y de masa y, por consecuencia, a la duración de la operación (Ramírez, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El trabajo experimental fue realizado en los Laboratorios de Procesos y Microbiología Pesquera de la Facultad de Pesquería, Laboratorios de Análisis Físico-Químico de Alimentos y Tecnología de Alimentos y Productos Agropecuarios de la Facultad de Industrias Alimentarias, ubicadas en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2. MATERIA PRIMA

Se utilizó el bagre con faja (*Galeichthys peruvianus*), el cual fue adquirido en estado fresco y entero en el Terminal Pesquero Mayorista de Ventanilla, fue colocado inmediatamente en hielo y transportado hacia el Laboratorio de Procesos de la Facultad de Pesquería. A su llegada se realizó la evaluación física y sensorial.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. Materiales

- Pipetas volumétricas de 2 ml
- Vasos de precipitado de 50 ml, 100 ml, 150 ml, 250 ml y 1 L
- Fiolas de 50 ml, 100 ml
- Micropipeta 100-1000 uL CAPP
- Probetas de 50 ml y 100 ml
- Tubos de centrífuga
- Tubos de ensayo de 5ml
- Homogeneizador
- Papel de filtración rápida

- Papel aluminio
- Baguetas
- Magnetos
- Cucharas dosificadoras
- Caja isotérmica
- Ictiómetro
- Recipientes de plástico
- Cuchillos de fileteo
- Dosificador de agua destilada
- Cronómetro
- Bombilla
- Gradillas
- Mesa de fileteo
- Hielo
- Bolsas de polietileno
- Utensilios de limpieza

3.3.2. Equipos

- Potenciómetro marca HANNA, modelo EDGE
- Espectrofotómetro marca THERMO SPECTRONIC, modelo GENESIS 20
- Balanza analítica marca SARTORIUS BL210S
- Balanza digital DENVER INSTRUMENT
- Centrífuga marca HEAL FORCE, modelo NEOFUGE 18R
- Agitador Magnético marca VELP SCIENTIFICA
- Liofilizador marca MILLROCK TECHNOLOGY
- Moledora marca BERKEL
- Agitador Vortex marca RKI PT SHAKER
- Termómetro digital MULTI-THERMOMETER
- Selladoras de bolsas plásticas SAMWIN SF300S
- Refrigeradora marca ELECTROLUX, modelo EFUP312YSKG
- Congeladora marca LG, modelo T403QC
- Computadora con programa estadístico STATGRAPHICS

3.3.3. Reactivos

- Solución hidróxido de sodio (NaOH) 2N y 0.1 N
- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 2N y 0.1 N
- Reactivo de Biuret
- Estándar de proteína albúmina de bovino
- Agua destilada
- Solución buffer pH 4, 7 y 10

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. Análisis realizados a la materia prima

3.4.1.1. Análisis físico y sensorial

Se pesó y se midió la longitud total del bagre con faja en estado fresco y entero. La calidad de frescura y la madurez sexual, del bagre con faja, fueron determinadas utilizando la tabla de calificación organoléptica de Wittfogel (Ludorff, 1963) y la Tabla de Maier (Laevastu, 1971), respectivamente.

El pH del músculo del bagre con faja fue determinado mediante el método potenciométrico según la AOAC (1995).

3.4.1.2. Análisis de composición proximal

- **Determinación de humedad**

Se determinó mediante el método N° 934.01 (AOAC, 2016)

- **Determinación de ceniza**

Se determinó mediante el método N° 942.03 (AOAC, 2016)

- **Determinación de proteína total**

Se determinó mediante el método N° 988.05 (AOAC, 2016)

- **Determinación de grasa**

Se determinó mediante el método N° 920.39 (AOAC, 2016)

- **Determinación de carbohidratos**

Se determinó por diferencia

3.4.2. Análisis realizados durante la extracción alcalina y precipitación isoelectrica de las proteínas

3.4.2.1. Determinación de pH

Se determinó el pH introduciendo el electrodo del potenciómetro directamente en la muestra, siguiendo la recomendación de García (2008).

3.4.2.2. Determinación de proteína soluble

El contenido de proteína soluble fue determinado por el método espectrofotométrico de Biuret descrito por Layne (1957). Se realizó una curva estándar (Anexo 1) para la determinación de la concentración de proteína (mg/ml) donde se usó la siguiente ecuación:

$$A = 0,0567 C + 0,0009$$

A es la absorbancia y **C** es la concentración de proteínas solubles.

El porcentaje de solubilidad proteica fue calculado dividiendo la cantidad de proteína en el sobrenadante (mg) (obtenido por el método de Biuret) respecto a la cantidad de proteína (en base húmeda) en el músculo del bagre con faja (mg) (obtenido por el método de Kjeldahl).

$$\text{Solubilidad proteica (\%)} = \frac{\text{Proteína soluble en el sobrenadante (Biuret)}}{\text{Proteína total en el músculo de bagre (Kjeldahl)}} \times 100$$

3.4.3. Análisis realizados al producto final

3.4.3.1. Análisis de composición proximal

Se determinó humedad, ceniza, proteína total, grasa y carbohidratos. La metodología seguida para la realización de estos análisis fue la misma desarrollada en la materia prima, descrita en el punto 3.4.1.2.

3.4.3.2. Análisis físico y sensorial

Se determinó el pH del aislado proteico de pescado mediante el método potenciométrico siguiendo la recomendación de la AOAC (1995).

Se evaluó el olor, color y consistencia del aislado proteico de bagre con faja en función a las características sensoriales consideradas por Bertullo (1989).

3.4.3.3. Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron mediante los métodos descritos en la ICMSF (2000), las pruebas fueron:

- Numeración de mohos (UFC/g)
- Numeración de levaduras (UFC/g)
- Numeración de enterobacteriaceas (UFC/g)
- Detección de *Salmonella sp.* (en 25 g)

3.4.3.4. Rendimiento de proteínas

Se cuantificó el rendimiento de las proteínas dividiendo la cantidad de proteína en el aislado proteico respecto a la cantidad de proteína en el músculo del bagre con faja. Ambas determinaciones de proteínas fueron obtenidas por el método de Kjeldahl (en base húmeda).

$$\text{Rendimiento de proteínas (\%)} = \frac{\text{Proteína total en el aislado proteico (Kjeldahl)}}{\text{Proteína total en el músculo de bagre (Kjeldahl)}} \times 100$$

3.4.3.5. Rendimiento del aislado proteico de bagre con faja

Se calculó dividiendo el peso del producto final obtenido (aislado proteico de bagre con faja en polvo) con respecto al peso del músculo fresco del bagre con faja.

$$\text{Rendimiento del aislado proteico (\%)} = \frac{\text{Peso del aislado proteico en polvo}}{\text{Peso del músculo fresco}} \times 100$$

3.4.4. Análisis Estadístico

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual los tratamientos fueron los niveles de los factores evaluados (relación músculo/agua, pH, tiempo de extracción). Los tratamientos fueron realizados por triplicado y los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANVA) determinándose la existencia o no de diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Para un valor-*p* menor que 0,05, se realizó una prueba de comparación de medias (LSD de Fisher) para así determinar las medias significativamente diferentes.

Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS CENTURION XVI para el análisis mencionado.

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.5.1. Diagrama de flujo de proceso

El diagrama de flujo seguido para la obtención del aislado proteico de músculo de bagre con faja se elaboró tomando como referencia las metodologías usadas por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013), Chen *et al.* (2016) y Tian *et al.* (2017), adaptado a los requerimientos disponibles, tal como se muestra en la Figura 6.

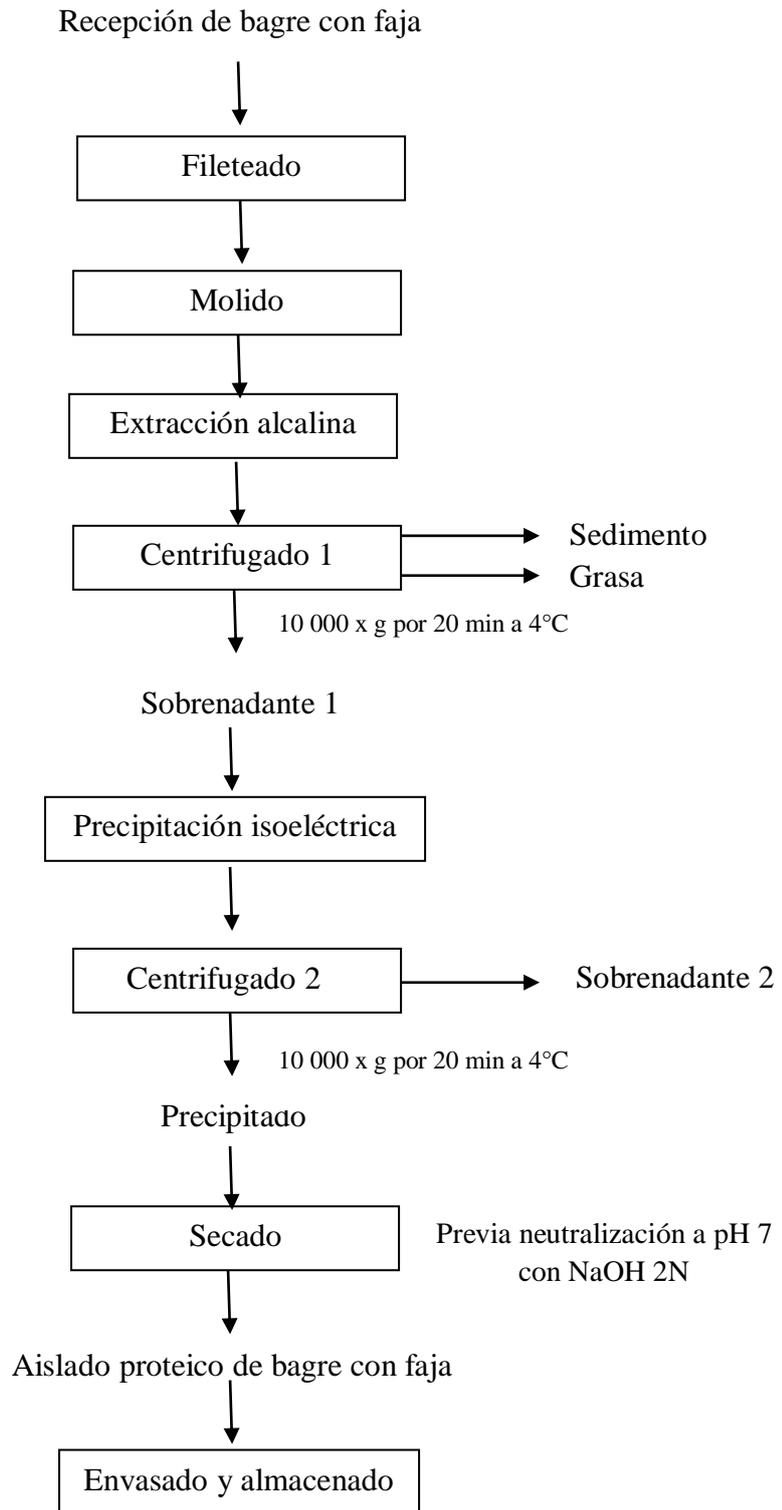


Figura 6: Diagrama de flujo para la obtención de un aislado proteico de músculo de bagre con faja

A continuación se detalla el procedimiento que se realizó:

Recepción de materia prima: el bagre con faja fue recepcionado en una caja isotérmica con hielo, luego se realizó el pesado y evaluación sensorial.

Fileteado: se descabezó, evisceró, se retiró la piel y espinazo del bagre con faja, obteniendo solo la parte muscular.

Molido: el filete obtenido fue molido en una moledora de 5 mm de diámetro.

Extracción alcalina: el músculo molido se homogeneizó a una relación músculo /agua (factor de estudio) con agua destilada fría, luego se ajustó a pH alcalino (factor de estudio) con una solución de NaOH 2N y se dejó en agitación constante por un tiempo determinado (factor de estudio), se mantuvo durante todo el proceso la temperatura de 4 ± 1 °C.

Centrifugado 1: el homogeneizado se transfirió a botellas de centrifugación y se centrifugó a 10000 x g durante 20 minutos, a 4°C. La fracción de proteína soluble se recuperó separándola de la capa superior y del sedimento.

Precipitación isoelectrica: la fracción de proteína soluble recuperada fue ajustada a pH ácido o punto isoelectrico (factor de estudio) con una solución de HCl 2N seguido de una agitación constante de 10 minutos. Se mantuvo la temperatura de 4 ± 1 °C durante el proceso.

Centrifugado 2: La fracción de proteína ajustada al punto isoelectrico fue centrifugada a 10000 x g durante 20 minutos, a 4°C. El precipitado fue recuperado y el sobrenadante se eliminó.

Secado: El precipitado proteico se secó por liofilización, previamente fue neutralizado a pH 7 con NaOH 2N.

Envasado y almacenado: El aislado proteico se envasó en bolsas de polietileno y luego se almacenó a condiciones ambientales.

3.5.2. Parte experimental

El trabajo de investigación se realizó en tres etapas: extracción alcalina, precipitación isoeléctrica y secado de las proteínas. Para ello se siguió el esquema experimental mostrado en la Tabla 7.

Tabla 7: Esquema experimental

Etapa I: Extracción alcalina	Etapa II: Precipitación isoeléctrica	Etapa III: Secado
<p>a. Determinación de la relación músculo/agua de mayor solubilidad proteica Δ r m/a: 1/5, 1/9 y 1/12 Ctes: pH: 11 Tiempo: 10 min. T:4°C</p> <p>b. Determinación del pH de mayor solubilidad proteica Δ pH: 10; 10,5; 11; 11,5; 12; 12,5 y 13 Ctes: r m/a: (a) Tiempo: 10 min. T:4°C</p> <p>c. Determinación del tiempo de extracción de mayor solubilidad proteica Δ Tiempo extracción: 5, 10, 15 y 20 min Ctes: r m/a: (a) pH(b) T:4°C</p> <p>r m/a = relación músculo/agua</p>	<p>Determinación del pH de menor solubilidad proteica.</p> <p>Δ pH: 4,5; 5; 5,5 y 6</p>	<p>Secado del precipitado de proteínas por liofilización.</p>

FUENTE: Elaboración propia

3.5.2.1. Etapa I: Extracción alcalina

- **Relación músculo/agua:**

Para determinar la relación músculo/agua de mayor solubilidad proteica, se evaluó las relaciones músculo/agua 1/5, 1/9 y 1/12 manteniéndose constantes el pH 11, tiempo de extracción de 10 minutos. La temperatura se mantuvo en $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo el proceso.

- **pH**

Para determinar el pH de mayor solubilidad proteica, se evaluó el pH en el rango alcalino de 10; 10,5; 11; 11,5; 12; 12,5 y 13 manteniéndose constantes la relación músculo/agua (determinada en la sección anterior), tiempo de extracción de 10 minutos. La temperatura se mantuvo en $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo el proceso.

- **Tiempo de extracción**

Para determinar el tiempo de extracción de mayor solubilidad proteica, se evaluaron los tiempos de 5, 10, 15 y 20 minutos, manteniéndose constantes la relación músculo/agua y pH (determinados en los ensayos anteriores). La temperatura se mantuvo en $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo el proceso.

Todas las soluciones fueron centrifugadas a $10\ 000 \times g$ durante 20 min a 4°C . Después de la centrifugación se obtuvieron tres fases: una capa de lípidos, un sobrenadante o fracción soluble y un sedimento (proteína insoluble). La solubilidad proteica en esta etapa fue calculada dividiendo la cantidad de proteína en el sobrenadante (mg) con la cantidad de proteína en el músculo del bagre con faja (mg). Se determinó la relación músculo/agua, pH y tiempo de extracción que permitió solubilizar la mayor cantidad de proteínas.

3.5.2.2. Etapa II: Precipitación isoelectrica

Con la relación músculo/agua, pH y tiempo de extracción definidos en los ensayos anteriores se procedió a realizar la extracción de las proteínas del músculo del bagre con faja, la solución fue centrifugada a 10000 x g durante 20 minutos a 4°C.

La fracción proteica soluble recuperada fue ajustada a diferentes valores de pH 4,5; 5; 5,5 y 6, luego se centrifugó a 10 000 x g por 20 minutos a 4°C. Después de la centrifugación se obtuvieron dos fases: el precipitado y el sobrenadante.

La solubilidad proteica en esta etapa fue calculada dividiendo la cantidad de proteína en el sobrenadante de la segunda centrifugación (mg) respecto la cantidad de proteína en el sobrenadante de la primera centrifugación (mg). Se obtuvo por diferencia la cantidad de proteínas precipitadas. Se determinó el pH de menor solubilidad proteica.

3.5.2.3. Etapa III: Secado

El aislado proteico luego de ser neutralizado a pH 7 con NaOH 2N fue secado en un liofilizador de bandejas por un tiempo aproximado de 12 horas hasta una humedad final menor del 3 por ciento.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. MATERIA PRIMA

4.1.1. Análisis físico y sensorial

En la Figura 7 se muestra el bagre con faja utilizado en la elaboración del aislado proteico. El peso y longitud total promedio de 38 ejemplares de bagre con faja fue de $253,5 \pm 52,7$ g y $30,6 \pm 1,5$ cm, respectivamente. Por lo que se puede indicar que el tamaño de los ejemplares utilizados estuvo dentro del rango de talla comercial (20 a 35 cm) que señala IMARPE (2013). Por otro lado, la longitud total promedio de las muestras analizadas excedieron a las tallas reportadas por Castañeda *et al.* (2007) para la zona de Lambayeque (27 cm) e IMARPE (2015) registradas a nivel de todo el litoral (26,7 cm).



Figura 7: Bagre con faja utilizado en la elaboración del aislado proteico

Los resultados de la evaluación sensorial realizada a las unidades de bagre con faja entero, alcanzó un puntaje promedio de 16 por lo que fue calificado como un pescado de buena calidad de acuerdo a los criterios de la Tabla de Wittfogel (Ludorff, 1963) (Anexo 2).

Los ejemplares utilizados exhibieron mayor presencia de hembras que machos, 61 % y 39 %, respectivamente. La predominancia de hembras son similares a los reportados por IMARPE (2015) (52 %), Castañeda *et al.* (2007) (70 %) y Carbajal *et al.* (2005) (57 %).

Por otro lado el 80 % de las hembras y el 75 % de los machos se encontraron entre los estadios III y IV de madurez sexual de acuerdo a la Tabla de Maier (Laevastu, 1971), lo que significó que las gónadas de las muestras utilizadas se encontraron en fase de maduración, el estadio de madurez sexual determinado fue similar al reportado por IMARPE (2015).

El valor promedio del pH del músculo de bagre con faja fue de 6,35. Este valor fue cercano al pH del músculo de cabrilla (*Paralabrax humeralis*) y cabinza (*Isacia conceptionis*), según lo reportado por Chávez (2002) de 6,27 y 6,3 respectivamente. Asimismo, Kristinsson *et al.* (2005) reportaron para el músculo de bagre de canal, un pH entre 6,5 a 6,6. Baylis (1996) menciona que el deterioro del pescado se ve influenciado a un valor de pH mayor de 7, debido a que es un valor óptimo para la actividad microbiana y enzimática. Sin embargo, Ludorff (1963) señala que el examen del pH como único índice de frescura no permite una conclusión exacta debido a la variación del mismo antes y después del rigor mortis.

Por otro lado, el músculo de bagre con faja mostró buenas condiciones sensoriales para la elaboración del aislado proteico, por la presencia mínima de músculo oscuro, buen olor, textura suave, fácil de retirar de la piel y espinazo (Figura 8).



Figura 8: Filetes de bagre con faja

El músculo o pulpa constituyó el 28,3 % del pescado entero, mayor que el reportado por el ITP (1999), esta diferencia podría deberse a la técnica de fileteo y a las características morfológicas de la muestra utilizada (edad, peso, tamaño, etc.). Asimismo, la cabeza, vísceras y espinazo de los ejemplares utilizados en el presente estudio constituyeron el 31.1%, 22.6% y 18% respectivamente.

4.1.2. Análisis de composición proximal

Los resultados de la composición proximal del músculo del bagre con faja (tanto base húmeda como base seca), se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8: Composición proximal del músculo de bagre con faja

Componente	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	76,55±0,05	-----
Proteína	19,39±0,03	82,67±0,05
Grasa	1,37±0,01	5,84±0,05
Ceniza	1,21±0,01	5,16±0,07
Carbohidratos	1,49±0,02	6,33±0,08

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 8 la composición proximal en base húmeda del músculo de bagre con faja presentó una humedad, proteína, grasa, ceniza y carbohidratos de 76,55 %, 19,39 %, 1,37%, 1,21 % y 1,49 %, respectivamente. La composición determinada en base húmeda difiere de los resultados reportados por ITP (1999), ya que la muestra presenta mayor porcentaje de proteína, pero menores valores de humedad y ceniza. Estas diferencias pueden haberse presentado ya que la composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año; sobre todo la composición química del pez está estrechamente relacionada con la alimentación, nado migratorio y cambios sexuales relacionados con el desove (Huss, 1999).

El alto porcentaje de proteína (19,4 %) se debería a que se utilizó solo músculo, el cual aporta un mayor contenido proteico (Pandía, 2011). Asimismo, dicha cantidad estuvo dentro del rango de proteína reportado por Suzuki (1987) para el pescado, resaltando el valor proteico del bagre con faja.

Dávalos *et al.* (2005), manifiestan que el pescado con menos del 2 % de grasa, se encuentra dentro de la clasificación de pescado magro o también conocido como pescado blanco. Teniendo en cuenta que el contenido graso fue de 1,37 % reportado en la Tabla 8, se puede afirmar que el bagre con faja es una especie magra. Asimismo, Chávez (2002) resalta que el menor contenido de grasa da más estabilidad a la carne.

Castañeda *et al.* (2007) además de indicar que el bagre con faja es un alimento proteínico, también mencionan que contiene poca grasa y colesterol. Al respecto, Hultin *et al.* (2005) y Park y Lin (2005) citados por Shaviklo (2015) reportan que la carne blanca y el pescado con bajo contenido de grasa son considerados las especies más adecuadas para el desarrollo de ingredientes de proteína de pescado. Sin embargo también pueden usarse músculos oscuros, peces subutilizados y de bajo valor, así como los subproductos de pescado.

4.2. PARTE EXPERIMENTAL

4.2.1. Etapa I: Extracción alcalina

4.2.1.1. Efecto de la relación músculo/agua

Los resultados de la influencia de la relación músculo/agua en la solubilización de proteínas del músculo del bagre con faja se reportan en la Tabla 9. Se mantuvieron constantes los siguientes factores: pH: 11 y tiempo de extracción: 10 minutos. La temperatura se mantuvo a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante el proceso.

Tabla 9: Efecto de la relación músculo/agua en la extracción alcalina de proteínas

Relación músculo/ agua	% Solubilidad proteica
1/5	36,25 ± 0,22 ^a
1/9	56,07 ± 0,12 ^b
1/12	65,45 ± 0,05 ^c

Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según la LSD de Fisher ($p < 0,05$)
n=3

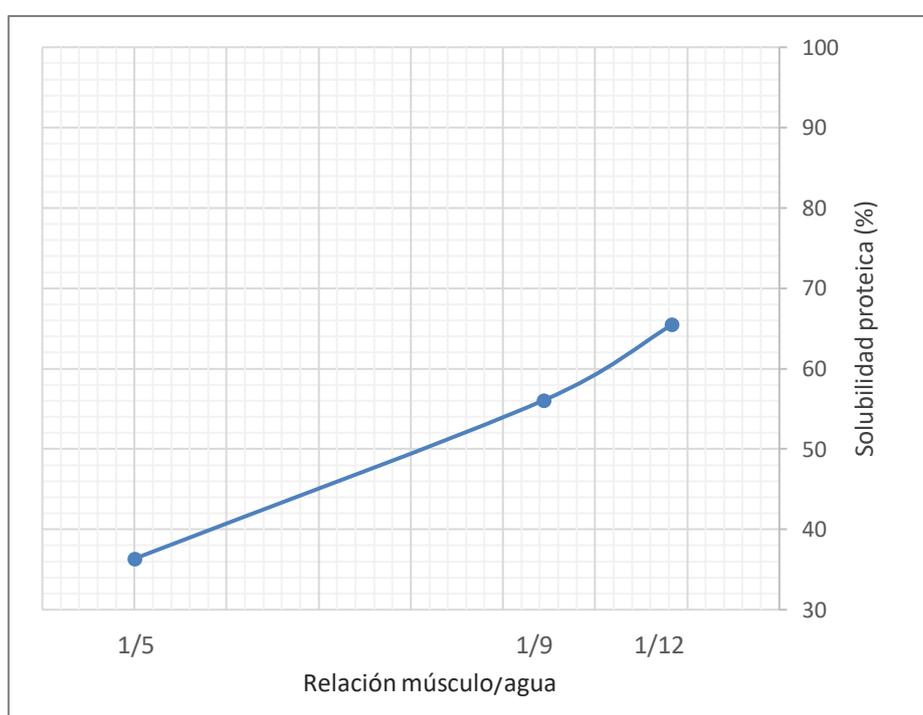


Figura 9: Efecto de la relación músculo/agua en la extracción alcalina de proteínas

Las relaciones músculo/agua que se utilizaron en este estudio estuvieron en el rango de 1/5 a 1/12. En la Tabla 9 y la Figura 9 se observa que al aumentar la relación músculo/agua de 1/5 a 1/12 se incrementó la solubilidad de las proteínas. La mayor solubilidad proteica se obtuvo con la relación músculo/agua 1/12 y correspondió al 65,45 %. Resultados similares fueron obtenidos por Meinke *et al.* (1972) para el músculo de corvina dorada, reportando una solubilidad de 53,2 % y 63,4 % para una relación músculo/agua de 1/10 y 1/20 respectivamente. Batista (1999) estudió el efecto

de la relación músculo/agua en el rango de 1/4 a 1/20, encontrando que la relación músculo/agua 1/10 resultó ser la más adecuada para el manejo y el rendimiento de las proteínas extraídas en la merluza. Mientras que Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) encontraron una mayor solubilidad de proteínas a una relación músculo/agua 1/9 y una solubilidad más baja a 1/3, utilizando subproductos de tilapia.

Al respecto Hultin *et al.* (2005), citados por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) indican que la extracción de las proteínas en un proceso de cambio de pH se puede lograr con 5 a 10 volúmenes de agua con álcali o ácido. Hultin y Kelleher (2001) mencionan que típicamente se usa la relación de peso/volumen de líquido mayor a 1/7 y de preferencia mayor a 1/9, ya que el tejido muscular de proteínas se debe mezclar con un líquido acuoso a una proporción de peso/volumen que permita formar una composición acuosa que no tenga una viscosidad alta, ya que una alta viscosidad dificulta la separación del material insoluble (particularmente los lípidos de membrana que pueden oxidar y generar problemas de rancidez y agregación de proteínas) de la composición solubilizada.

Por otro lado, Batista (1999) señala que el uso de una alta proporción de extractante durante el proceso de cambio de pH da como resultado un extracto muy diluido que es ineficiente para recuperarse, dicho resultado también fue indicado por Hultin y Kelleher (2001) cuando utilizaron una relación músculo/agua por encima de 1/20. Por tanto, se puede indicar que las diferentes relaciones músculo/agua influyen en la cantidad porcentual de la proteína a recuperar. Asimismo, cabe resaltar que es de vital importancia determinar la relación apropiada entre la cantidad de disolvente y la cantidad de proteína a solubilizar (Ventura *et al.*, 2005).

La concentración del tejido muscular en el homogeneizado es importante porque la consistencia del material depende de la cantidad de proteína presente (Hultin *et al.* 2005). Asimismo, Ingadottir (2004) indica que la viscosidad de una solución de proteínas se ve afectada por factores como la concentración de proteínas, el pH, la sal y la materia prima, que a su vez pueden afectar el tamaño, la forma, la flexibilidad y la hidratación de las proteínas.

En el ANVA para las relaciones músculo/agua 1/5, 1/9 y 1/12 (ver Anexo 3) se observó que existe por lo menos un tratamiento diferente y mediante la prueba de comparación de medias (LSD Fisher), se observó que existen diferencias significativas en cada uno de los 3 tratamientos. Por lo tanto de las variables estudiadas se eligió la relación músculo/agua 1/12 ya que presentó la mayor solubilidad proteica. Cabe resaltar que no se utilizó una relación músculo/agua mayor a 1/12 debido a que desde el punto de vista económico no resulta tan conveniente usar una alta relación músculo/agua. Asimismo, Bourgeois y Le Roux (1986) indican que es preferible que el extracto tenga la menor cantidad de solvente por los altos costos energéticos que significa la separación posterior.

4.2.1.2. Efecto del pH:

Los resultados de la influencia del pH en la solubilización de proteínas del músculo del bagre con faja se reportan en la Tabla 10. Se mantuvieron constantes los siguientes factores: relación músculo/agua: 1/12 (determinado en la sección anterior) y tiempo de extracción: 10 minutos. La temperatura se mantuvo a $4\pm 1^\circ\text{C}$ durante el proceso.

Tabla 10: Efecto del pH en la extracción alcalina de proteínas

pH	% Solubilidad proteica
10	$33,02 \pm 0,12^a$
10,5	$48,25 \pm 0,12^b$
11	$65,45 \pm 0,05^c$
11,5	$71,31 \pm 0,40^d$
12	$80,71 \pm 0,37^e$
12,5	$85,62 \pm 0,19^f$
13	$95,23 \pm 0,20^g$

Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según la LSD de Fisher ($p < 0,05$)
n=3

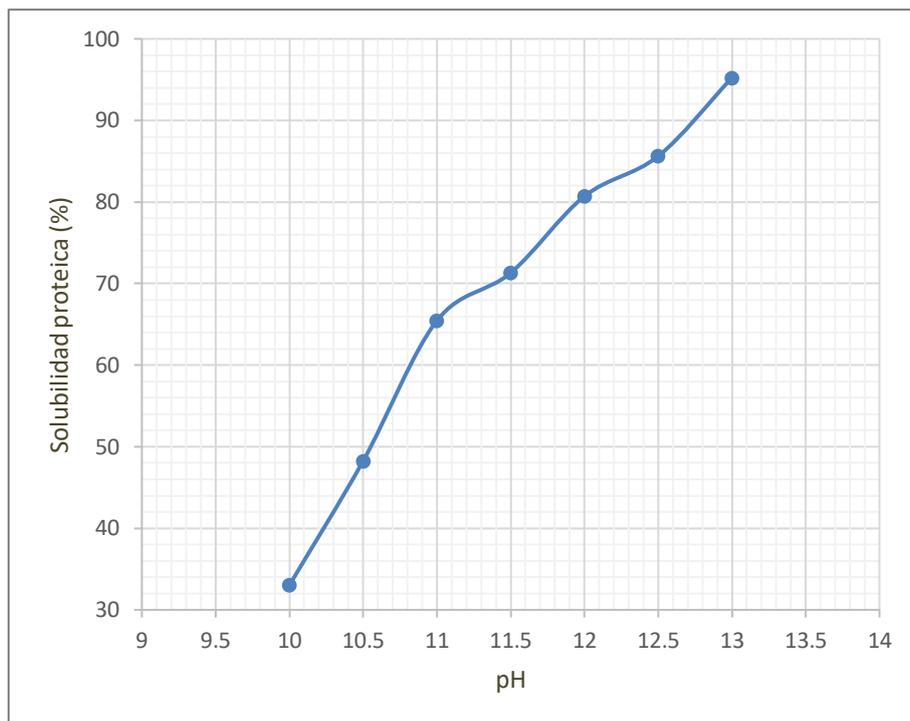


Figura 10: Efecto del pH en la extracción alcalina de proteínas

La solubilidad proteica obtenida estuvo en el rango de 33,02 % a 95,23 %. En la Tabla 10 y la Figura 10 se observa que la solubilidad proteica aumentó a medida que se incrementaba el pH en el rango de 10 a 13. La mayor solubilidad proteica (95,23 %) se observó a un pH de 13. Este pH fue mayor al reportado por Tian *et al.* (2017) donde obtuvieron una solubilidad de proteínas de 94,6 % a pH 12,5 utilizando músculo de carpa común. Mientras que Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) encontraron una máxima solubilidad (1.97 mg/ml) a pH 12 para los subproductos de tilapia. Kristinsson *et al.* (2005) reportaron que la solubilidad de las proteínas (88,9 %) del músculo del bagre de canal era más alta a pH 11. Por otro lado, Kristinson e Ingadottir (2006) reportaron una máxima solubilidad de 99 % para el músculo de tilapia a un pH 12. Theodore (2005) reportó que la máxima solubilidad de las proteínas para el músculo de bagre se producía entre pH 11 a 12 para el rango alcalino, con porcentajes de solubilidad comprendidos entre 80 y 90 %. Foh *et al.* (2012) reportaron un pH 11 para músculo de tilapia, Zhong *et al.* (2016) un pH 12 para el músculo de carpa plateada y Chen *et al.* (2016) un pH 12 para el músculo de carpa herbívora.

El pH de mayor solubilidad determinado en la investigación coincidió con el reportado por Surasani *et al.* (2017) quienes obtuvieron la mayor solubilidad de las proteínas (12-

14 mg/ml) en los subproductos del pez rohu a un pH 13 para el rango alcalino. En la Figura 11 se presenta la muestra ajustada a pH alcalino.



Figura 11: Muestra ajustada a pH alcalino

Los diferentes valores de pH de mayor solubilidad proteica se pueden deber a que la solubilidad de las proteínas musculares se ve afectada por la especie, por el tipo específico de músculo, la cantidad de tejido conectivo presente, estado de rigor, la temperatura y las condiciones de extracción (Xiong, 1994; Hultin *et al.*, 1995) así como también por la relación materia prima y solvente, tiempo de extracción.

Al respecto, Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) indican que la calidad de los aislados proteicos se ve afectada principalmente por el tipo de materia prima y el proceso de extracción aplicado. Por lo tanto, se debe determinar el proceso óptimo de cambio de pH para una materia prima específica.

Respecto al valor pH 13 determinado en la investigación como el pH de mayor solubilidad, Kristinsson *et al.* (2005) refieren que en condiciones de pH extremadamente alcalino o ácido, las proteínas del músculo de pescado adquieren un incremento en su carga neta negativa o positiva, respectivamente. Estas cargas generan nuevos sitios de unión para el agua y resultan en la repulsión entre moléculas de

proteína, incrementando su superficie de hidratación y en consecuencia el incremento de su solubilidad. Es por ello que la solubilidad es más alta en condiciones de pH extremadamente ácido o alcalino (Lone *et al.*, 2015). Por otro lado, Choi y Park (2002) indican que el patrón de solubilidad contra pH es la base para la selección de parámetros óptimos en la extracción de proteínas. Este patrón exhibe en la mayor parte de las proteínas alimenticias una curva en forma de U (Theodore, 2005; Kristinsson *et al.*, 2005; Yongsawatdigul y Park, 2004).

Asimismo, Kristinsson *et al.* (2005) mencionan que la solubilidad de las proteínas musculares a diferentes valores de pH es importante para optimizar las recuperaciones de proteínas usando tanto los procesos ácidos como alcalinos. Para estos procesos es necesario una alta solubilidad de las proteínas musculares a pH ácidos o alcalinos para que puedan ser separadas eficientemente de las impurezas. Mientras que se necesita una baja solubilidad de proteínas para una alta recuperación de las proteínas después de la precipitación en el punto isoelectrico.

Jaczynski *et al.* (2009) indica que durante todo el proceso de extracción y recuperación de proteínas, la temperatura debe mantenerse entre 1 a 8 °C para minimizar la degradación de lípidos y proteínas. Según Borderías y Montero (1988), las propiedades de hidratación de las proteínas disminuyen cuando la temperatura se incrementa, debido a la disminución en la capacidad de formar enlaces de hidrógeno. Asimismo, las temperaturas elevadas tienden a desnaturalizar las proteínas disminuyendo la capacidad de interacción de sus grupos polares con el agua. Por estas razones fue necesario mantener la temperatura de 4 ± 1 °C en todas las etapas del proceso para la obtención del aislado proteico de bagre con faja.

En el ANVA para los diferentes pH (ver Anexo 4) se observó que existe por lo menos un tratamiento diferente y mediante la prueba de comparación de medias (LSD Fisher), se observó que existen diferencias significativas en cada uno de los 7 tratamientos. Por lo tanto de las variables estudiadas se eligió el pH 13 ya que presentó la mayor solubilidad proteica.

4.2.1.3. Efecto del tiempo de extracción:

Los resultados del efecto del tiempo de extracción en la solubilidad de las proteínas se reportan en la Tabla 11. Se mantuvieron constantes los siguientes factores: relación músculo/agua: 1/12 y pH: 13 (determinado en la sección anterior). La temperatura se mantuvo a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante el proceso.

Tabla 11: Efecto del tiempo de extracción en la extracción alcalina de proteínas

Tiempo (minutos)	% Solubilidad proteica
5	$91,63 \pm 0,29^a$
10	$95,23 \pm 0,20^b$
15	$96,62 \pm 0,15^c$
20	$98,16 \pm 0,20^d$

Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según la LSD de Fisher ($p < 0,05$)
n=3

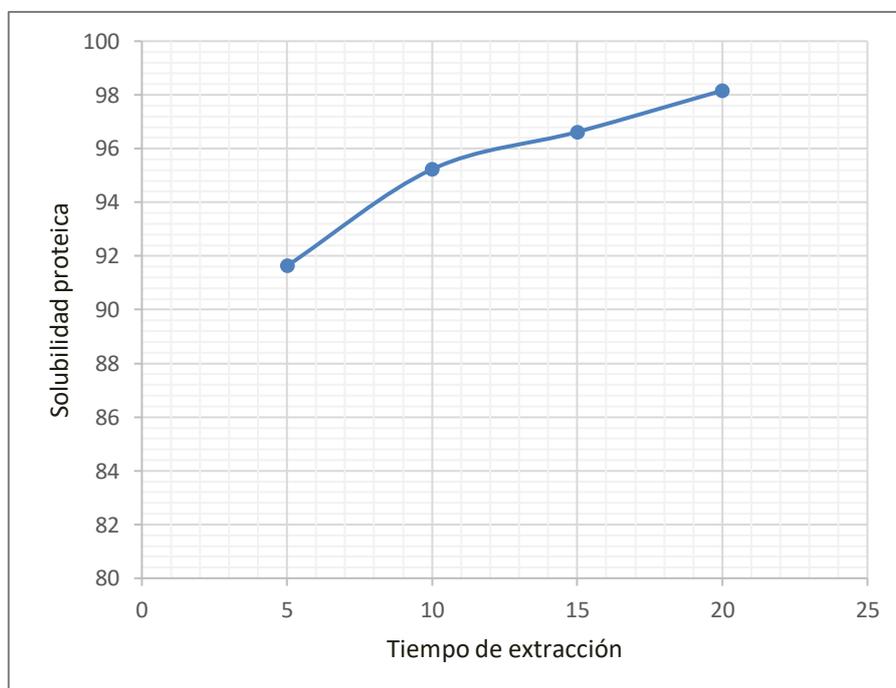


Figura 12: Efecto del tiempo de extracción en la extracción alcalina de proteínas

Los tiempos de extracción que se utilizaron en esta investigación fueron de 5, 10, 15 y 20 minutos. En la tabla 11 y la Figura 12 se aprecia que la solubilidad proteica se incrementó al aumentar el tiempo de extracción. La solubilidad proteica obtenida estuvo en el rango de 91,63 % a 98,16 %, correspondiendo una mayor solubilidad a un tiempo de 20 minutos. Dicho resultado concuerda con el reportado por Chomnawang y Yongsawatdigul (2013) quienes reportaron que la solubilidad de las proteínas utilizando subproductos de tilapia se incrementó a medida que aumentó el tiempo de extracción, obteniendo una mayor extracción de proteínas en el tiempo de 15 a 20 minutos.

Tian *et al.* (2017) obtuvieron buenos resultados utilizando un tiempo de extracción de 30 minutos alcanzando una solubilidad proteica de 94,6 % a un pH 12,5. Mientras Foh *et al.* (2012) obtuvieron una máxima solubilidad proteica de aproximadamente 90 %, cuando incubaron el homogenizado ajustado a pH 11 por un tiempo de 30 minutos. Zhong *et al.* (2016) usaron un tiempo de extracción de 25 minutos para solubilizar las proteínas del músculo de la carpa plateada ajustada a un pH 12. Por otro lado, Tahergorabi *et al.* (2012) y Paker *et al.* (2013) utilizaron un tiempo de extracción de 10 min para solubilizar el músculo de trucha arcoiris (pH 11,5) y carpa plateada (pH 12), respectivamente.

Shaviklo (2006) señala que un problema importante que enfrenta cualquier proceso de extracción y recuperación de proteínas es la proteólisis por proteasas endógenas. El músculo de los peces post mortem es propenso a la proteólisis, pero el problema varía según la especie y la estación. Al respecto, Tascaya *et al.* (2009) señala que el tiempo de procesamiento no debe exceder los 60 minutos con el fin de minimizar la proteólisis.

Ventura (2003) señala que el tiempo de extracción de las proteínas está relacionado con otros factores tales como, grado de agitación, tamaño de partícula, naturaleza de la fuente proteica y otras circunstancias concurrentes en la disolución.

En el ANVA para los diferentes tiempos de extracción (ver Anexo 5) se observó que existe por lo menos un tratamiento diferente y mediante la prueba de comparación de medias (LSD Fisher), se observó que existen diferencias significativas en cada uno de los 4 tratamientos. Por lo tanto de las variables estudiadas se eligió el tiempo 20 minutos ya que presentó la mayor solubilidad proteica.

Los factores de mayor solubilización proteica del músculo de bagre con faja fueron los siguientes: relación músculo/agua 1/12, pH 13 y tiempo de extracción 20 minutos. Con estos valores se procedió a realizar la extracción alcalina para posteriormente determinar el punto isoelectrico de las proteínas. En la Figura 13, se aprecia la fase soluble e insoluble luego de la primera centrifugación.

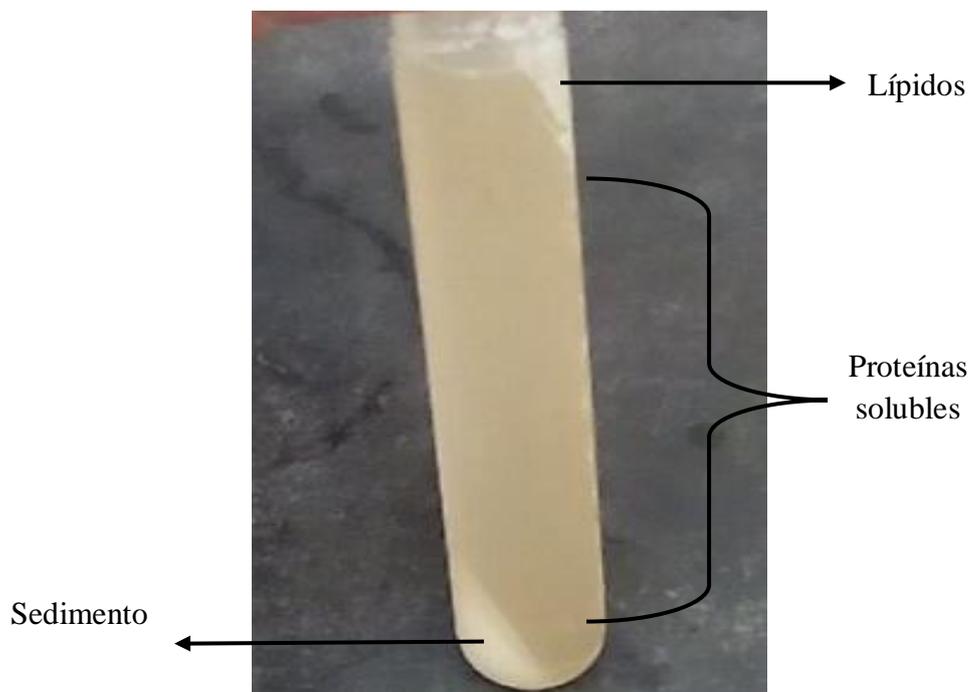


Figura 13: Fase soluble e insolubles luego de la primera centrifugación.

4.2.2. Etapa II: Precipitación isoelectrica

Los resultados de los diferentes tratamientos de pH se reportan en la Tabla 12.

Tabla 12: Efecto del pH en la precipitación de las proteínas

pH	% Solubilidad proteica
4,5	8,27 ± 0,18 ^a
5	7,51 ± 0,08 ^b
5,5	7,43 ± 0,14 ^b
6	8,39 ± 0,13 ^a

Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas, según la LSD de Fisher ($p < 0,05$) n=3

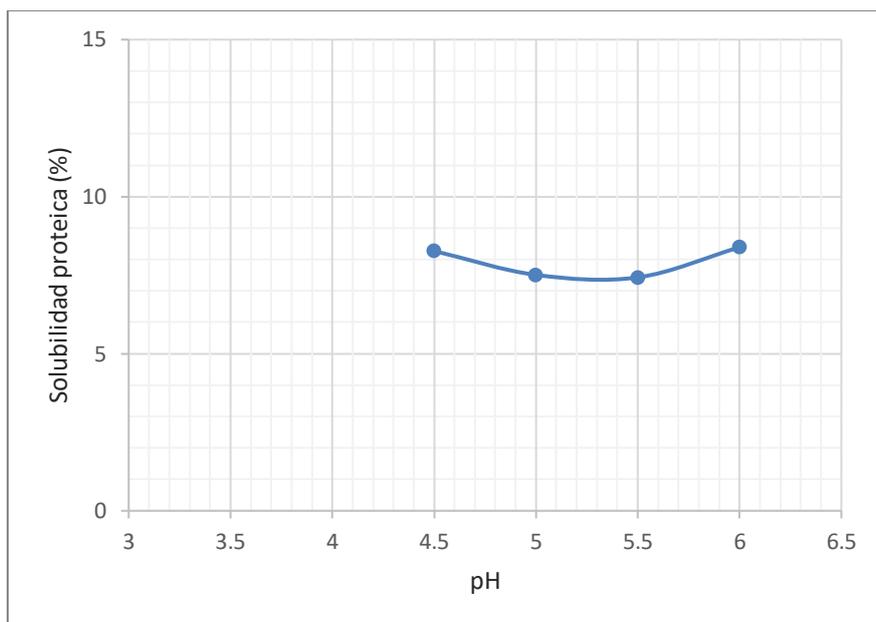


Figura 14: Efecto del pH en la precipitación de las proteínas

En la Tabla 12 y Figura 14 se observa que las proteínas del bagre con faja son menos solubles entre pH 5 a 5,5. A pH 5,5 se obtuvo la menor solubilidad de las proteínas (7,43 %). Del total de proteínas solubilizadas a pH alcalino 13, el 92,57 % de las proteínas fueron precipitadas a pH 5,5. Al respecto, Nolsoe y Undeland (2009) señalan que cuando el pH está en el punto isoeléctrico (pH entre 5 a 6), la carga neta proteica se convierte en cero, causando una falta de repulsión electrostática entre las moléculas de proteína. Esto promueve las interacciones hidrofóbicas y la agregación de proteínas, dando como resultado la menor solubilidad de proteínas.

La mayor precipitación de proteínas ocurrió a un pH de 5,5, que correspondería al punto isoeléctrico de la proteína del bagre con faja, este valor concuerda con el determinado por Kristinsson *et al.* (2005), Zhong *et al.* (2016) y Tian *et al.* (2017) quienes determinaron el punto isoeléctrico a un pH 5,5 para las proteínas del bagre de canal, carpa plateada y carpa común, respectivamente. Por otro lado, Chen *et al.* (2016) y Yongsawatdigul y Park (2004) encontraron que la mínima solubilidad de las proteínas de la carpa herbívora y pez espada, respectivamente, fue a pH 5, para ambos. Según Kristinsson *et al.* (2013) la forma más fácil de precipitar las proteínas es ajustando el pH a un valor próximo al punto isoeléctrico de la mayoría de las proteínas, aproximadamente 5,2 a 5,5. Jaczynski *et al.* (2009) indican que la recuperación óptima

de las proteínas se alcanza cuando las proteínas se precipitan a pH 5.5 y es mínima cuando se precipitan a pH 6. En la Figura 15 se observa la muestra ajustada a pH ácido.



Figura 15: Muestra ajustada a pH ácido o punto isoeléctrico.

Asimismo, Theodore (2005) reportó que la menor solubilidad de las proteínas para el bagre ocurrió alrededor de pH 5,5 produciendo aproximadamente 10 % de solubilidad, mayor que el reportado en la presente investigación (7,43 %). En la precipitación isoeléctrica de las proteínas del bagre con faja, las proteínas que permanecen solubles serían las proteínas sarcoplasmáticas mientras que las proteínas que precipitan serían las miofibrilares debido a que el punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares es de 5,5 (Stefansson y Hultin, 1994).

Kristinsson *et al.* (2013) menciona que en el rango de pH del punto isoeléctrico, las proteínas precipitan mientras que los componentes del tejido muscular soluble, tales como sales, nucleótidos, fosfatos de azúcar, aminoácidos, péptidos pequeños permanecen en solución, por lo que podemos afirmar que dichos componentes estarían presentes en la fase soluble de las proteínas del bagre con faja luego de la precipitación.

Tian *et al.* (2017) señalan que las propiedades funcionales de los aislados proteicos se debilitan en el punto isoeléctrico de la proteína, por lo que es necesario ajustar el pH a 7, con el fin de conseguir propiedades funcionales superiores. Por lo que en el presente

trabajo de investigación se neutralizó el coágulo proteico obtenido luego de la precipitación. En la Figura 16 se aprecian las proteínas precipitadas.



Figura 16: Proteínas precipitadas luego de la segunda centrifugación.

En el ANVA para los diferentes pH (ver Anexo 6) se observó que existe por lo menos un tratamiento diferente y mediante la prueba de comparación de medias (LSD Fisher), se observó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos a pH 4,5 y 6 ni entre los tratamientos a pH 5 y 5,5. Sin embargo si se observaron diferencias significativas entre ambos grupos de pares. Por tanto de las variables estudiadas se eligió el tratamiento a pH 5,5 ya que presentó la menor solubilidad proteica.

4.2.3. Etapa III: Secado

El precipitado proteico de bagre con faja luego de ser neutralizado fue secado en un liofilizador de bandejas, el tiempo total de liofilización fue de 12 horas hasta una humedad final menor del 3 por ciento. El resultado de esta operación fue el aislado proteico de bagre con faja en forma de polvo. En la Figura 17, se observa el aislado proteico de bagre con faja.

El proceso de liofilizado resultó beneficioso, ya que las proteínas precipitadas de bagre con faja al ser transformadas en polvo ocupan menos espacio, son fáciles de transportar y de fácil agregación a los sistemas alimentarios (López *et al.*, 2006).



Figura 17: Aislado proteico de bagre con faja secado por liofilización

Por otra parte, las proteínas de pescado deben protegerse contra la desnaturalización durante la congelación y secado (Park y Lin, 2005). Crioprotectores o lioprotectores son ingredientes tales como sacarosa y polifosfato que se utilizan para este fin. A una suficiente concentración de sacarosa junto con una pequeña cantidad de polifosfato puede protegerse a las proteínas de la desnaturalización durante el secado y el almacenamiento (Carvajal *et al.*, 2005, citados por Shaviklo, 2015).

En la presente investigación se almacenó el aislado proteico de bagre con faja a temperatura ambiente, sin embargo es posible almacenar polvos de proteína de pescado durante mucho tiempo cuando son envasados al vacío o en un gas inerte que se usa en el empaquetado y los productos son mantenidos a temperaturas por debajo de 15 ° C. Asimismo, el almacenamiento a baja temperatura (-18 °C) puede preservar la excelente funcionalidad de liofilizado de proteína de pescado hasta 9 meses (Carvajal *et al.* 2005, citados por Shaviklo, 2015).

Por otro lado, Crapo *et al.* (2010) obtuvieron cubos liofilizados de salmón rojo, salmón rosado y salmón chum con un contenido de humedad menor del 10 % cuando se

lioofilizó por un tiempo de 9 horas. Mientras Martínez y Labuza (1968) reportaron un tiempo de 60 horas al liofilizar salmón rojo.

4.3. PRODUCTO FINAL

4.3.1. Análisis de composición proximal

La Tabla 13 muestra la composición proximal del aislado proteico de bagre con faja (tanto en base húmeda como en base seca).

Tabla 13: Composición proximal del aislado proteico de bagre con faja

Componente	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	2,85±0,01	-----
Proteína	94,48±0,08	97,25±0,10
Grasa	0,83±0,04	0,85±0,04
Ceniza	1,65±0,04	1,70±0,04
Carbohidratos	0,19±0,01	0,20±0,01

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 13 se evidencia un alto contenido de proteínas y una cantidad mínima del resto de componentes. La composición proximal en base húmeda del aislado proteico de bagre con faja presentó una humedad, proteína, grasa, ceniza y carbohidratos de 2,85 %, 94,48 %, 0,83%, 1,65 %, y 0,19 % respectivamente. Tian *et al.* (2017) determinaron la composición proximal del aislado proteico de carpa común cuyo contenido de proteínas, lípidos y cenizas en base seca fue de 82,96; 4,88 y 8,83 % respectivamente. Mientras Foh *et al.* (2012) determinaron la composición proximal del aislado proteico liofilizado de tilapia conformada por 92,76 % de proteína, 0,81 % de grasa, 3,86 % de humedad y 3,75 % de ceniza. Shaviklo *et al.* (2012) determinaron la composición proximal para el aislado proteico liofilizado del pez carbonero (*Pollachius virens*) reportando una humedad, proteína, grasa y ceniza de 1,4; 94; 0,62 y 2,7 % respectivamente. Se puede indicar que las diferencias en la composición proximal del aislado proteico de bagre con faja con los otros aislados de diferentes peces se puede deber al tipo de materia prima con la que se trabaja ya sea

músculo oscuro, músculo blanco, subproductos o pescado entero. Al respecto, Cortés y Pacheco (2009) indican que las diversas especies de peces presentan diferencias en composición química, ultraestructura muscular y naturaleza metabólica, por tal motivo, responden de manera distinta ante una misma tecnología.

Respecto al mayor contenido de proteínas (94,48 %) del aislado proteico obtenido en comparación al contenido de proteínas del músculo fresco del bagre con faja (19,39 %), esto se debería al proceso utilizado, ya que el método de cambio de pH tiene como finalidad aislar la fracción proteica de la materia prima por medio de la solubilización y precipitación de las proteínas (Bourgeois y Le Roux, 1986). Al respecto, Shaviklo (2015) menciona que el polvo de proteína de pescado es un producto de pescado seco y estable, destinado al consumo humano, en el que la proteína está más concentrada que en la carne original del pescado.

El contenido de proteína obtenido en el aislado proteico de bagre con faja es similar al nivel de proteína que reporta Geirsdóttir (2005) para aislados proteicos de pescado (95%). Asimismo, Bourgeois y Le Roux (1986) señala que comercialmente se considera como aislados a productos cuya concentración en proteínas es mayor a 85 %. Por tanto el producto obtenido a partir del músculo de bagre con faja cumple con la denominación comercial de aislado proteico.

El alto contenido de proteínas obtenido en el aislado proteico de bagre con faja sugiere que con pequeñas cantidades se puede satisfacer las necesidades de proteínas en la dieta diaria y sería posible su uso como fuente de proteína animal en la formulación de un alimento para consumo humano (Roldán, 2002).

El contenido de grasa del aislado proteico de bagre con faja (0,83 %) fue bajo debido a que el bagre con faja es una especie magra, adicionalmente a ello, la mayoría de la grasa de la materia prima se separa y elimina en la primera centrifugación. Se ha informado que el proceso de cambio de pH reduce los lípidos y los oxidantes en los aislados proteicos de pescado (Hultin *et al.*, 2005, citados por Shaviklo *et al.*, 2012), quedando todavía una pequeña cantidad de lípidos en el producto.

Según Kristinsson *et al.* (2005) la materia prima puede ser rica en triglicéridos y fosfolípidos de membrana, por lo que la eliminación o reducción de lípidos es una etapa clave en la elaboración de aislados proteicos. Los mismos autores señalan que los lípidos son el primer sustrato para las reacciones de oxidación en el músculo de pescado, por lo que su eliminación refuerza la estabilidad del producto final.

Adicionalmente, Zhong *et al.* (2016) señalan que por medio del método de cambio de pH se puede eliminar la mayor parte de los lípidos de la materia prima y obtener un aislado de proteína de pescado con mayor calidad nutricional, color mejorado, menor oxidación de lípidos y mayor estabilidad oxidativa. Además el bajo contenido en grasa de estas proteínas recuperadas hace que sean deseables para ingredientes alimenticios bajos en grasa.

El contenido de ceniza en el aislado proteico del bagre con faja (1,65 %) es bajo debido a que se trabajó solo con músculo, sin piel ni espinazo. Sin embargo fue mayor al contenido de ceniza en el músculo fresco (1,2 %), lo cual se pudo deber al efecto del secado, lo que provoca que aumente su concentración. Por otro lado, el contenido de cenizas en base seca del aislado proteico de bagre con faja (1,70 %) comparado con el contenido de cenizas en base seca del músculo fresco del bagre con faja (5.84 %) fue menor debido a que la mayor parte de la ceniza y la grasa se eliminan en el proceso de separación (Tian *et al.*, 2017). Asimismo, Tascaya *et al.* (2009) señalan que el proceso de solubilización y precipitación isoelectrónica elimina la mayoría de los materiales de ceniza tales como huesos, escamas, piel y otras impurezas.

El contenido de humedad del aislado proteico fue bajo (2,85 %), debido a la extracción del agua por efecto del secado. Al respecto, se debe indicar, que si bien esto hace que el rendimiento final de este producto sea bajo, también se debe indicar que esto impide o retarda el crecimiento microbiano.

Hultin *et al.* (2005) citado por Shaviklo *et al.* (2012) menciona que el aislado de proteína de pescado se fabrica a partir de diferentes tecnologías de cambio de pH y en su mayoría contiene proteína miofibrilar del músculo de pescado, además de lípidos de la membrana, dependiendo como se procesan.

El valor nutritivo de las proteínas de pescado es comparativamente alto debido al patrón favorable de aminoácidos esenciales. Las proteínas de pescado son ricas en todos los aminoácidos esenciales (particularmente metionina y lisina), en contraste con la mayoría de las proteínas de origen vegetal, que carecen de cantidades adecuadas de uno o más aminoácidos esenciales (Venugopal, 1997).

4.3.2. Análisis físico y sensorial

El aislado proteico de bagre con faja en polvo tuvo un valor pH de 6,10. Esto se puede deber a que algunas proteínas son virtualmente insolubles en sus pH isoeléctricos (Lehninger, 1982), lo que pudo provocar que parte de las proteínas precipitadas no se solubilicen bien durante la neutralización. Al respecto, Whitaker (1980) menciona que el pH ácido o alcalino modifica la estructura tridimensional de las proteínas, por lo cual, durante la neutralización brusca de soluciones con pH muy ácidos o alcalinos no permite que la proteína regrese a su conformación original. Asimismo, Shaviklo *et al.* (2012) indican que aislados proteicos de pescado liofilizados tienen un pH bajo debido a que durante la precipitación isoeléctrica para aislar la proteína se utiliza un pH relativamente bajo.

Bojorquez (1992) menciona que el pH de una proteína nos permite conocer si ésta tiene buena capacidad de retención de agua, ya que actúa sobre la fuerza de gel. El mismo autor señala que valores de pH menores a 6 reducen enormemente la fuerza de gel de las proteínas. Teniendo en cuenta que el aislado proteico de bagre con faja tiene un valor mayor a 6 se puede decir que las propiedades funcionales de sus proteínas no han sido alteradas de manera drástica.

La evaluación sensorial de las muestras de aislado proteico de bagre con faja presentó las siguientes características: olor ligero a pescado, color beige y consistencia de polvo fino. En el caso del olor, ésta característica puede pasar desapercibida al mezclarse con otros ingredientes en caso de ser utilizados en alimentos enriquecidos.

Shaviklo (2015) menciona que el color es un atributo de calidad importante en la proteína de pescado, en el caso de polvos de proteína de pescado varía de gris claro a cremoso dependiendo del tipo de pescado utilizado, método de extracción y tamaño de

partícula. El mismo autor menciona que el polvo de pescado liofilizado hecho del pez carbonero tenía un color rosado mientras el polvo de pez carbonero obtenido por atomización tenía un color blanco, indicando la influencia del secado en la calidad de los polvos de proteína de pescado.

4.3.3. Análisis microbiológico

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados al aislado proteico de bagre con faja se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Resultados de análisis microbiológicos en el aislado proteico de bagre con faja

Análisis microbiológico	Resultados
Detección de <i>Salmonella sp.</i>	Ausencia en 25 g
Numeración de Mohos	<10 UFC/g
Numeración de Levaduras	<10 UFC/g
Numeración de Enterobacteriaceae	30 UFC/g

En la Tabla 14 se observa que la cantidad de microorganismos presentes en el aislado proteico de bagre con faja se encontraron por debajo de los requisitos que exige la RDE N° 057 SANIPES (2016) para los productos hidrobiológicos deshidratados. El bajo contenido de mohos, levaduras, enterobacteriaceae y ausencia de *Salmonella* confirmó la adecuada limpieza e higiene en el procesamiento del aislado proteico. Las cargas microbiológicas máximas son las siguientes: mohos 10^3 UFC/g, levaduras 10^3 UFC/g, enterobacteriaceae 10^2 UFC/g y ausencia de *Salmonella* en 25 g.

Asimismo, se debe indicar que los resultados microbiológicos obtenidos son similares al del aislado proteico del pez carbonero reportados por Shaviklo *et al.* (2012). Este autor indicó ausencia de *Salmonella* y valores menores a 10 UFC/g para mohos y levaduras, confirmando que el producto era microbiológicamente seguro.

Huss (1963) citado por Nolsoe y Undeland (2009) señala que la mayoría de las bacterias que crecen en los peces pertenecen a los géneros gramnegativos psicrotróficos.

Mendonca *et al.* (1994), citado por Lansdowne *et al.* (2009) señalan que las soluciones fuertemente básicas o alcalinas, causan daño a los componentes de las proteínas y lípidos de las membranas citoplasmáticas, debilitando la capa delgada de peptidoglucano de las bacterias gramnegativas contribuyendo a la hinchazón y ruptura final de las células bacterianas, lo que explicaría la ausencia de *Salmonella sp.* y el bajo contenido de enterobacteriaceae en el aislado proteico de bagre con faja ya que ambos microorganismos pertenecen al género gramnegativos. Por tanto se confirmó que el proceso alcalino tiene un efecto perjudicial sobre los microorganismos presentes en la materia prima.

4.3.4. Rendimiento de proteínas

El rendimiento de proteínas obtenidas en el aislado proteico de bagre con faja secado por liofilización fue de 84,10 %. Al respecto Kristinsson y Liang (2006) indican que los rendimientos de recuperación de proteínas para la técnica de solubilización y precipitación isoelectrónica reportados en la literatura oscilan entre 42 y 90 %. Por tanto el rendimiento obtenido en el aislado proteico de bagre con faja estuvo dentro del rango que indican dichos autores. A su vez podría afirmarse que el alto rendimiento obtenido en el presente trabajo de investigación se debe a que durante la solubilización alcalina o ácida se extraen casi todas las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas (Choi y Park, 2002).

Las proteínas que no se recuperaron durante el proceso se pueden deber a que algunas proteínas miofibrilares o sarcoplasmáticas se pierden en la capa lipídica superior mientras que otra cantidad de proteínas miofibrilares se pierden en el sedimento del fondo luego de la primera centrifugación. Adicionalmente, una pequeña porción de las proteínas también se pierden en el sobrenadante de la segunda centrifugación. Por tanto la pérdida de proteínas en estas dos fases representan la mayor parte de las proteínas que no se recuperan en el proceso tanto ácido como alcalino (Kristinsson *et al.*, 2005).

Asimismo, el rendimiento obtenido en la elaboración del aislado proteico de bagre con faja fue mayor al reportado por Chen *et al.* (2016) quienes obtuvieron un rendimiento de recuperación de proteínas de 64 % para el proceso alcalino. Mientras Zhong *et al.* (2016) obtuvieron un rendimiento de recuperación de proteína de aproximadamente

70% para el proceso alcalino e indicaron que a pH más extremos se obtienen mayores rendimientos de recuperación de proteínas. Las diferencias en los rendimientos podrían atribuirse a una serie de factores que van desde el tipo de especies de peces, la metodología utilizada para determinar el rendimiento de recuperación y la fuerza de centrifugación durante la solubilización y precipitación isoeléctrica (Chen y Jaczynski, 2007). Asimismo, Nolsoe y Undeland (2009) señalan que el rendimiento de proteínas obtenido durante el procesamiento ácido y alcalino está determinado por tres factores principales, la solubilidad de las proteínas en las condiciones ácidas o alcalinas, el tamaño de los sedimentos formados durante las centrifugaciones y la solubilidad de las proteínas en el pH seleccionado para la precipitación.

Al respecto Tian *et al.* (2017) señalan que el rendimiento máximo de recuperación puede alcanzar 87,6 % en condiciones alcalinas comparado con 76,3% en condiciones ácidas. Los mismos autores señalan que el rendimiento de recuperación de proteína en condiciones alcalinas es ligeramente mejor que en condiciones ácidas. Sin embargo Foh *et al.* (2012) reportaron un rendimiento de proteínas de 84,97 % para el proceso ácido mientras para el proceso alcalino reportaron 79,82 %.

Hultin *et al.* (2005) citados por Jaczynski *et al.* (2009) señalan que aunque la solubilización a pH ácido da mayores porcentajes de recuperación, comparándola con los obtenidos a pH básico, la calidad de la textura de los geles de proteínas hechos con proteínas recuperadas a pH básico es mejor que la de los elaborados con proteínas recuperadas a pH ácido.

En la Figura 18, se reporta el rendimiento de las proteínas del aislado proteico de bagre con faja en las diferentes etapas del proceso.

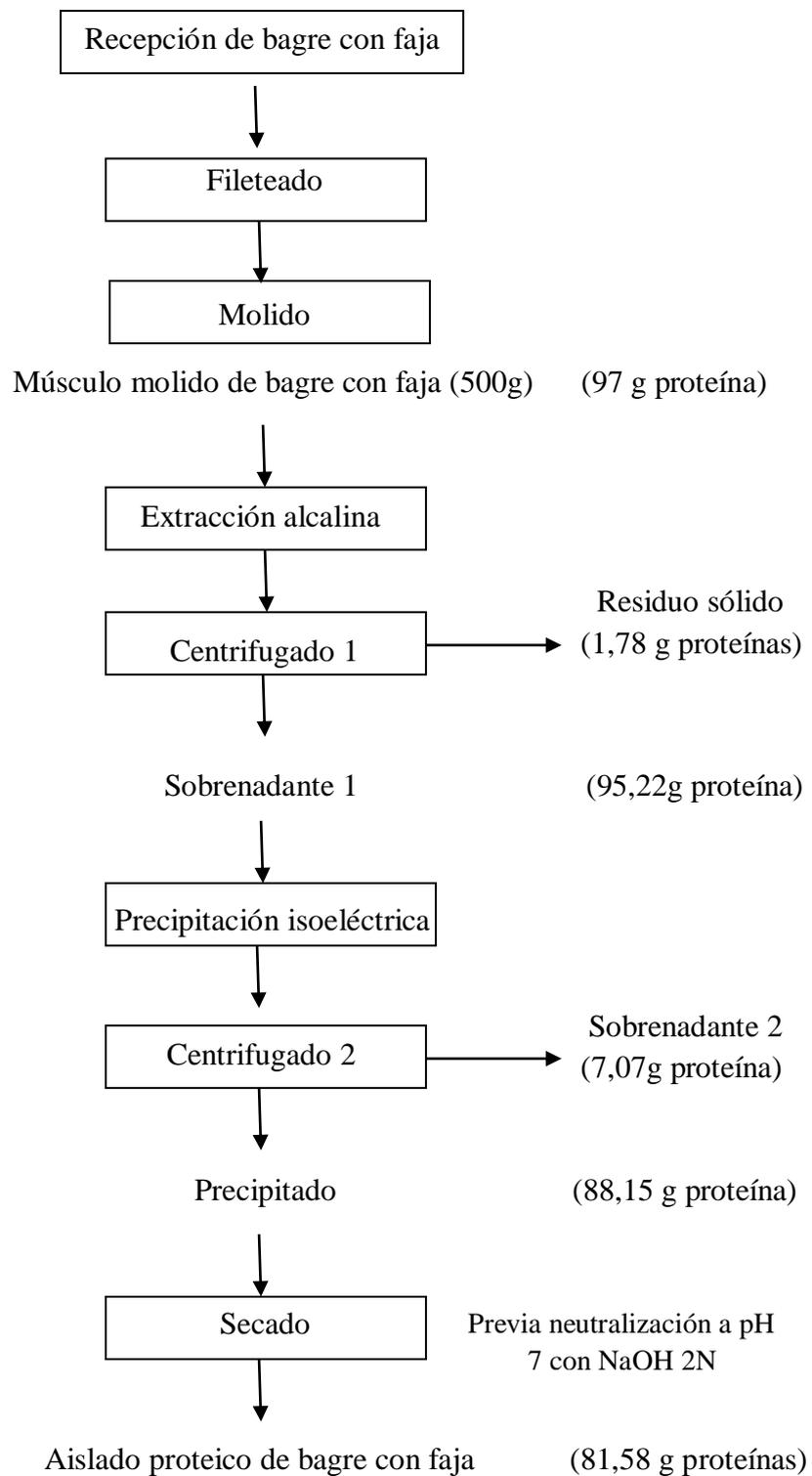


Figura 18: Balance de proteína en la obtención de aislado proteico de músculo de bagre con faja

4.3.5. Rendimiento del aislado proteico de bagre con faja

Tabla 15: Rendimiento del aislado proteico obtenido de músculo de bagre con faja

Muestra	Peso (g)	Rendimiento (%)
Músculo fresco de bagre con faja	1500	100,00
Aislado proteico en polvo de bagre con faja	259,05	17,27

De acuerdo a los resultados reportados en la Tabla 15, se aprecia que el rendimiento del aislado proteico en polvo del bagre con faja respecto al músculo fresco fue 17,27 %. El rendimiento obtenido puede estar influenciado por los mismos factores que influyen sobre el rendimiento de extracción de proteína: tipo de especie empleada, y condiciones de extracción utilizadas (Karim y Bhat, 2009; Nolsoe y Undeland, 2009; Chen y Jaczynski, 2007).

V. CONCLUSIONES

1. Se obtuvo un aislado proteico a partir de músculo de bagre con faja mediante extracción alcalina, precipitación isoelectrica y secado de las proteínas.
2. El flujo de procesos para la elaboración del aislado proteico de bagre con faja fue: recepción de bagre con faja – fileteado - molido - extracción alcalina – centrifugado 1 – precipitación isoelectrica - centrifugado 2 – secado – envasado y almacenado.
3. En la etapa de extracción alcalina los factores experimentales de mayor solubilidad proteica fueron: relación músculo/agua 1/12, pH 13 y tiempo de extracción 20 minutos. Con estos valores se obtuvo una solubilidad proteica de 98,16 %.
4. En la etapa de precipitación isoelectrica la menor solubilidad de proteínas fue a pH 5,5 (punto isoelectrico) y se logró precipitar el 92.57% de todas las proteínas.
5. El pH del aislado proteico de bagre con faja en polvo fue de 6,10.
6. La composición proximal del aislado proteico de bagre con faja fue: proteínas 94,48 %, humedad 2,85 %, grasa 0,83 %, ceniza 1,65 % y carbohidratos 0,19 %.
7. Los resultados microbiológicos en el aislado proteico fue: Numeración mohos (UFC/g) < 10 Estimado, Numeración levaduras (UFC/g) < 10 Estimado, Numeración enterobacterias (UFC/g) 30 Estimado y ausencia de *Salmonella sp*, resultados que confirmaron las buenas condiciones sanitarias de su elaboración.
8. El rendimiento de proteína del aislado proteico de bagre con faja liofilizado fue 84,10 %.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar las propiedades funcionales del aislado proteico de bagre con faja.
2. Estudiar la estabilidad del aislado proteico de bagre con faja en almacenamiento.
3. Determinar el perfil aminoacídico y la calidad nutricional del aislado proteico de bagre con faja.
4. Realizar un estudio de optimización de los procesos de extracción alcalina y precipitación isoelectrica en la elaboración del aislado proteico de bagre con faja utilizando la metodología de superficie de respuesta.
5. Evaluar el comportamiento del aislado proteico de bagre con faja en la formulación de diversos alimentos para consumo humano.
6. Emplear los subproductos del bagre con faja tales como piel, escamas o cabezas en la elaboración de ensilados proteicos con el fin de darle un valor agregado a estos residuos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alted, L. 2015. Mejora de las condiciones de liofilización para la obtención de fruta en polvo. Trabajo de Fin de Grado en Ing. Agroalimentaria y del Medio Rural. Valencia, ES. UPV.

AOAC. 1995. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 13 th ed. Washington, DC.

AOAC. 2016. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 20th ed. Washington, DC.

Badui, S. 2006. Química de los alimentos. 4 ed. México. Pearson Educación. p.189

Barbosa, G; Vega, H. 2000. Deshidratación de alimentos. España. Acribia. p 297

Barreto, H. 1966. Liofilización un método de secado para alimentos. Perú. Instituto interamericano de ciencias agrícolas de la OEA.

Batista, I. 1999. Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction. Eur Food Res Technol. 210: 84-89.

Bayliss, P. 1996. Chemistry in the kitchen: fish and fish products. Nutrition & Food Science 96 (1): 41-43

Belitz, H; Grosch, W. 1997. Química de los alimentos. 2 ed. España. Acribia. p. 1087

Bell, M; Henderson, J; Sargent, J. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. Comp Biochem Physiol 83B: 711-719

Bertullo, E. (1989). Desarrollo del ensilado de pescado en América Latina. En: 2da Consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en América Latina, RLAC/2, Montevideo.

Bojorquez, C. 1992. Pasta y embutidos. VIII Curso Internacional Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. ITP. Callao, Lima. p 87

Boñón, C. 2012. Efecto del secado por túnel, liofilización y atomización sobre la capacidad antioxidante y fenólicos totales de huacatay (*Tagetes minuta L.*). Tesis Mag. Sc. Lima, PE. UNALM.

Borderías, A; Montero, P. 1988. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 28: 159-169

Bourgeois, C; Le Roux, P. 1986. Proteínas animales. Editorial El Manual Moderno. México.

Carbajal, W; Castañeda, J; Castro, J; De la Cruz, J; Galán, J; Ramírez, P; Bances, S; Salcedo, J. 2005. Informe anual. Seguimiento e investigación de las Pesquerías artesanales en Lambayeque. IMARPE.

Castañeda, J; Carbajal, W; Galan, J; Gutiérrez, M. 2007. Bioecología del bagre *Galeichthys peruvianus* en el mar peruano: periodo 1998 a 2004. IMARPE 32 (4): 293 - 308.

Castillo, G. 2007. II Taller de evaluación y revisión de los resultados del Plan Nacional Para el Desarrollo de la Pesca Artesanal. IMARPE (diapositiva).

Castillo, R. 2008. Abundancia del Bagre en la Costa Peruana. El mundo de la Pesca Artesanal. Revista especializada en Pesca Artesanal y Acuicultura (18): 8-10

Chávez, G. 2002. Estudio de la utilización de especies hidrobiológicas de fácil reticulación para la elaboración de un embutido de pescado tipo salame cocido. Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. UNALM.

Cheftel, J; Cug, J; Lorient, D. 1989. Proteínas alimentarias: Bioquímica. Propiedades funcionales. Valor Nutritivo. Modificaciones químicas. España. Acribia.

Chen, D; Jingwen S; Hong, Y; Shanbai, X; Youming, L; Ru, L. 2016. Effects of acid and alkali treatment on the properties of proteins recovered from whole gutted grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) using isoelectric solubilization / precipitation. Journal of Food Quality 39: 707–713

Chen, Y; Jaczynski, J. 2007. Protein recovery from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing by-products via isoelectric solubilization / precipitation and its gelation properties as affected by functional additives. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(22): 9079-9088.

Choi, Y; Park, J. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. Journal of Food Science 67 (8): 2962-2967

Chomnawang, Ch; Yongsawatdigul, J. 2013. Protein Recovery of Tilapia Frame ByProducts by pH-Shift Method. Journal of Aquatic Food Product Technology, 22:112–120

Cortés, J; Pacheco, R. 2009. Concentrados proteicos funcionales. Tecnología de productos de origen acuático. 1 ed. México. Limusa. p. 475

Crapo, Ch; Oliveira, A; Duy, N; Bechtel, P; Fong, Q . 2010. Development of a Method to Produce Freeze – Dried Cubes from 3 Pacific Salmon Species. Journal of Food Science 75 (5): E269 - E275

Dávalos, S; Zamora, D; Natividad, B; Tercero, J; Vasquez, C; Quiñones, E. 2005. Alimentos marinos: Tipificación y proceso de almacenamiento. Revista Digital Universitaria 6 (9): 1-14.

Delbarre-Ladrat, C; Chéret, R; Taylor, R; Verrez-Bagnis, V. 2006. Trends in Postmortem aging in fish: Understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46: 409-421

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2007. Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos. Roma. 166 p.

Foh, M; Wenshui, X; Amadou, I; Jiang, Q. 2012. Influence of pH Shift on Functional Properties of Protein Isolated of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Muscles and of Soy Protein Isolate. *Food Bioprocess Technol* 5: 2192-2200

García, L. 2008. Uso de bacterias probióticas en el ensilado de residuos de pescado. Tesis Blgo. Lima, PE. UNALM.

García, M. 1990. Alimentación humana, Errores y sus consecuencias. España. Mundi-Prensa. p. 286

Geirsdóttir, M. 2005. Protein isolation from herring. Nordic Innovation Centre. Noruega, Oslo.

Haard, N. 1999. Valor nutritivo y composición de las proteínas y otros compuestos nitrogenados del pescado. El pescado y los productos derivados de la pesca. Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. España. Acribia.

Hultin, H; Feng, Y; Stanley, D. 1995. A reexamination of muscle protein solubility. *Journal of Muscle Foods* 6 (2): 91-107

Hultin, H; Kelleher, S. 2000. High efficiency alkaline protein extraction. US Patent 6136959.

Hultin, H; Kelleher, S. 2001. Process for isolating protein from a muscle source and protein composition. US Patent 6288216.

Huss, H. 1999. El Pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Departamento de Pesca. FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación). Roma.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2000. Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza.

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2001. Crucero de evaluación de la biomasa desovante de la anchoveta por el método de producción de huevos (MPH). BICs José Olaya Balandra y SNP-2 0008-09, de Punta Falsa (6°S) a Tambo de Mora (14°S). Informe N°162.

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2013. Detalle de especie marina. Consultado el 27 Nov. 2017. Disponible en:

http://www.imarpe.pe/imarpe/pag_fichas_detalle.php?id_especie=especie=000017

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2015. Evaluación del POI – PTI al IV Trimestre del 2015 (en línea). Consultado 15 Ag. 2016. Disponible en http://www.imarpe.pe/imarpe//archivos/informes/imarpe_eval_poi_trim_iv_2015.pdf

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2017. Dirección General de Investigaciones de Recursos Pelágicos.

Ingadottir, B. 2004. The use of acid and alkali-aided protein solubilisation and precipitation methods to produce functional protein ingredients from Tilapia, Master Thesis, University of Florida.

Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. 2015. Peces Costeros del Pacífico Oriental (en línea). Balboa, PA. Consultado el 20 Dic. 2017. Disponible en <http://biogeodb.stri.si.edu/sfstep/es/pages>

ITP (Instituto Tecnológico Pesquero del Perú, PE). 1999. Alternativas Tecnológicas para recursos pesqueros no explotados. ITP 2(1): 10, 11, 30 p.

- Jaczynski, J; Chen, Y; García, J; Torres J. 2009. Recuperación de proteínas y lípidos. Tecnología de productos de origen acuático. 1 ed. México. Limusa. p. 461
- Karim, AA; Bhat, R. 2009. Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 23(3): 563-576
- Kim, Y; Park, J; Choi, Y. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science* 69: 1231-1239
- Kristinsson, H; Hultin, H. 2004. Changes in trout hemoglobin conformations and solubility after exposure to acid and alkali pH. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 3633-3643.
- Kristinsson, H; Ingadottir, B. 2006. Recovery and Properties of Muscle Proteins Extracted from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Light Muscle by pH Shift Processing. *Journal of Food Science* 70 (3): E132-E141
- Kristinsson, H; Lanier, T; Halldorsdottir, S; Geirsdottir, M; Park, J. 2013. Fish Protein Isolate by pH Shift. *Surimi and Surimi Seafood, Third Edition*. 6: 169-192
- Kristinsson, H; Liang, Y. 2006. Effect of pH-shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) muscle proteins. *Journal of Food Science* 71(5): 304-312
- Kristinsson, H; Theodore, A; Demir, N; Ingadottir, B. 2005. A comparative study between acid- and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from Channel catfish muscle. *Journal of Food Science* 70 (4): 298–306
- Laevastu, T. 1971. Manual de métodos de Biología Pesquera. FAO, España. Acribia. p. 213
- Lansdowne, L; Beamer, S; Jaczynski, J; Matak, K. 2009. Survival of *Escherichia coli* after isoelectric solubilization/precipitation of fish protein. *Journal of Food Science* 72: 1398-1403

- Layne, E. 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in Enzymology* 3: 447-454
- Liadakis, G; Tzia, C; Oreopouli, V; Thomopoulos, C. 1995. Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. *Journal of Food Science* 60: 477-482
- Lehninger, A. 1982. *Bioquímica*. Segunda edición, Ediciones Omega, Barcelona.
- Lin, T; Park, J. 1998. Solubility of salmon myosin as affected by conformational changes at various ionic strengths and pH. *Journal of Food Science* 63 (2): 215-218
- Lone, D; Wani, N; Wani, I; Masoodi, F. 2015. Physico-chemical and functional properties of Rainbow trout fish protein isolate. *Int. Food Res. J.* 22(3): 1112-1116
- López, H; Cernada, M; Fernández, C; Torres, A; Sanabria, G. 2006. Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersion de extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. *Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos* 11 (1): 1-8
- Ludorff, W. 1963. *El pescado y sus productos*. Epaña. Acribia. p. 118-151
- Martínez, F; Labuza, P. 1968. Rate of Deterioration of Freeze-Dried Salmon as a Function of Relative Humidity. *Journal of Food Science* 33: 241-247
- Matak, K; Tahergorabi, R; Jacsynski, J. 2015. A review: Protein isolates recovered by isoelectric solubilization/precipitation processing from muscle food by-products as a component of nutraceutical foods. *Food Res. Int.* 74: 697–703
- Meinke, W; Rahman, M; Mattil, K. 1972. Some factors influencing the production of protein isolates from whole fish. *Journal of Food Science* 38: 195-198
- Mutilangi, W; Panyam, D; Kilara, A. 1996. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *Journal of Food Science* 61 (2): 270-274

Nolsoe, H; Undeland, I. 2009. The Acid and Alkaline Solubilization Process for the Isolation of Muscle Proteins: State of the Art. *Food Bioprocess Technology* 2: 1-27

Orrego, C. 2008. Congelación y liofilización de alimentos. 1 ed. Colombia. Artes Gráficas Tizan. p 49

Pandia, S. 2011. Obtención y evaluación de las propiedades funcionales de un hidrolizado proteico obtenido a partir de residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*). Tesis Ing. Pesquero. Lima, PE. UNALM.

Park, J. 2009. Fish protein isolate and its superior functionality. Proceedings of the 62nd American Meat Science Association Reciprocal Meat Conference. 56-63p

Park, J; Lin, T. 2005. Surimi: Manufacturing and Evaluation. Surimi and Surimi Seafood. Second Edition. 2: 33-106

Paker, I; Beamer, S; Jaczynski, J; Matak, K. 2013. Compositional Characteristics of Materials Recovered from Headed Guttled Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by Isoelectric Solubilization and Precipitation Using Organic Acids. *Journal of Food Science* 78 (3): E445- E451

Pearson, D. 1993. Técnicas de Laboratorio para el análisis de alimentos. España. Acribia.

Pérez, M; Amato, P; Lannier, T. 2004. Gelling properties of atlantic croaker surimi processed by acid or alkaline solubilization. *Journal of food science* volumen 69 (4): 328-333

Ramírez, N. 2006. Liofilización de alimentos. *Revista ReCiTeIA* 6 (2): 1-36

Rivera, M. 2006. Obtención, caracterización estructural y determinación de las propiedades funcionales de un aislado proteico de quinua orgánica (*Chenopodium quinoa*). Tesis Ing. Alimentos. Santiago, CL. Universidad de Chile.

Roldán, D. 2002. Elaboración de harina precocida a partir de surimi de falso volador (*Prionotus stephanophrys*) para consumo humano. Tesis Mag. Sc. Lima, PE. UNALM.

Salazar, C; Ganoza, F; Cornejo, R; Alarcón, J; Chacón, G. 2014. Pesca exploratoria con redes chinchorro manual en la región Lambayeque. IMARPE 41 (1-4):120-133.

SANIPES (Organismo Nacional de Sanidad Pesquera). 2016. Manual de Indicadores Sanitarios y de Inocuidad para los Productos Pesqueros y Acuícolas para Mercado Nacional y de Exportación. RDE 057.

Sayas, E; Fernández, J; Pérez, J. 2009. Anatomía y ultraestructura del pescado. Tecnología de productos de origen acuático. 1 ed. México. Limusa. p. 57

Shaviklo, A. 2015. Development of fish protein powder as an ingredient for food applications: a review. Journal Food Science Technology 52 (2): 648-661

Shaviklo, G. 2006. Quality assessment of fish protein isolates using surimi standard methods. Fisheries Training Programme. The United Nations University.

Shaviklo, G; Thorkelsson, G; Arason, S; Sveinsdottir, K. 2012. Characteristics of freeze-dried fish protein isolated from saithe (*Pollachius virens*). Journal Food Science Technology 3: 309-318

Shen, J. 1981. Solubility and viscosity. Protein Functionality in Foods. J. P. Cherry. American Chemical Society, Washington, D.C.

Stanley, D; Stone, A; Hultin, H. 1994. Solubility of beef and chicken myofibrillar proteins in low ionic strength media. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42: 863-867

Stefansson, G; Hultin, H. 1994. On the Solubility of Cod Muscle Proteins in Water. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42 (12): 2656-2664

Surasani, V; Tyagi, A; Kudre, T. 2017. Recovery of Proteins from Rohu Processing Waste Using pH Shift Method: Characterization of Isolates. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 26: 356-365

Suzuki, 1987. *Tecnología de las proteínas de pescado y krill*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza 230 p.

Tahergorabi, R; Beamer, S; Matak, K, Jaczynski, J. 2012. Functional food products made from fish protein isolate recovered with isoelectric solubilization/precipitation. *LWT - Food Science and Technology* 48 (1): 89-95

Taskaya, L; Chen, Y; Beamer, S; Jaczynski, J. 2009, Texture and colour properties of proteins recovered from whole gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using isoelectric solubilisation / precipitation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 349-358

Theodore, A. 2005. Bioactive and functional properties of catfish protein hydrolysates and catfish protein isolates. Thesis Master of Science. Florida, United States of America. University of Florida.

Tian, Y; Wang, W; Yuan, Ch; Zhang, L; Liu, J; Liu, J. 2017. Nutritional and digestive properties of protein isolates extracted from the muscle of the common carp using pH-shift processing. *Journal of Food Processing and Preservation* 41: n/a, e12847

Torten, J; Whitaker, J. 1964. Evaluation of the Biuret and Dye-Binding Methods for Protein Determination in Meats. *Journal of Food Science* 29: 168-174

Velásquez, D; Chou, E; Cabello, J. 2015. Caracterización química del agua de maceración del maíz de la UEB Glucosa Cienfuegos y la obtenida empleando Green Sulf. *Revista Cubana de Química* 27 (3): 275-288

Ventura, M. 2003. Obtención de aislado proteico de la nuez de marañón (*Anacardium occidentale L.*). Tesis Ing. Alimentario. Lima, PE. UNALM.

Ventura, M.; Elías, C.; y Salvá, B. 2005. Obtención de aislado proteico a partir de nuez de marañón. Lima, PE. Departamento de Tecnología de Alimentos y Productos Agropecuarios, UNALM.

Venugopal, V; Shahidi, F. 1996. Structure and composition of fish muscle. *Food Reviews International* 12 (2): 175-197

Venugopal, V. 1997. Functionality and potential applications of thermostable water dispersions of fish meat. *Trends in Foods Science Technology* 8 (8): 271-276

Whitaker, J. 1980. Chemical Deterioration of proteins. Ed. American Chemical Society. Washington D. C. 267 p.

Xiong, Y. 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34: 293-320.

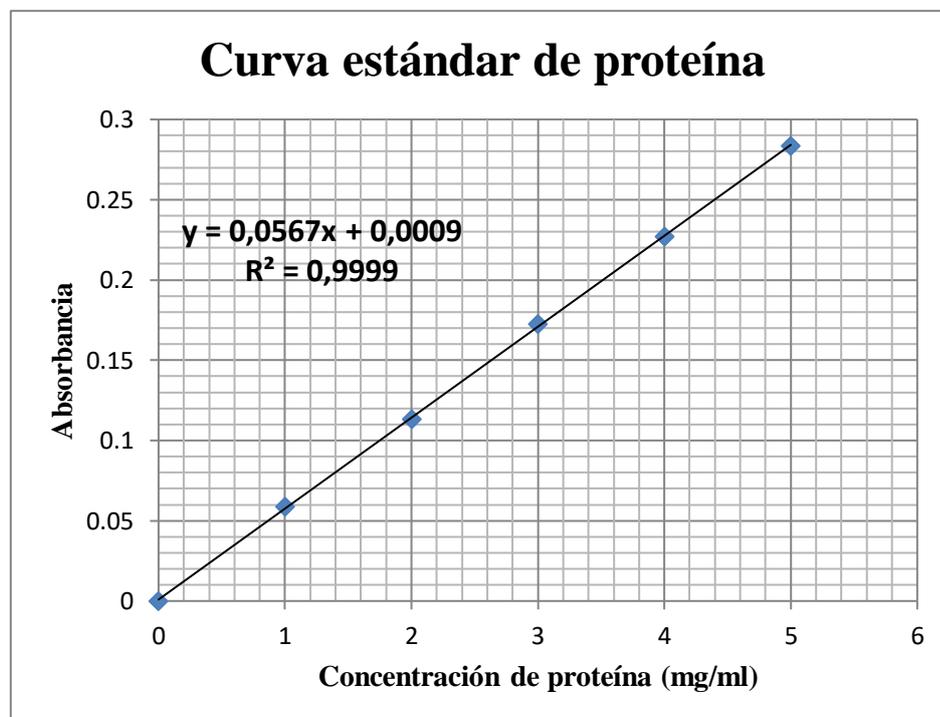
Yongsawatdigul, J; Park J. 2004. Effects of Alkali and Acid Solubilization on Gelation Characteristics of Rockfish Muscle Proteins. *Journal of Food Science* 69 (7): C499-C505

Zhong, S; Liu, S; Cao, J; Chen, S; Wang, W; Qin, X. 2016. Fish Protein Isolates Recovered from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) By-products Using Alkaline pH Solubilization and Precipitation. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 25: 400-413

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Curva estándar para la determinación de la concentración de proteína (Método de biuret)

Concentración (mg/ml)	Absorbancia
0	0
1	0,059
2	0,113
3	0,173
4	0,227
5	0,284



FUENTE: Elaboración propia

Anexo 2: Evaluación sensorial para pescado fresco (Tabla de Wittfogel)

CARACTERISTICAS	PUNTAJE
<u>SUPERFICIE Y CONSISTENCIA</u>	
4. Superficie lisa y brillante, color luminoso, mucílago claro y transparente, consistencia firme y elástica bajo la presión de los dedos.	
3. Superficie aterciopelada y sin brillo, color ligeramente pálido, mucílago lechoso y opaco, consistencia un poco relajada y elasticidad disminuida.	
2. Superficie granulosa y sin brillo, mucílago denso de color gris amarillento, consistencia relajada, escamas fácilmente separadas de la piel.	
1. Superficie muy granulosa, color sucio e impreciso, mucílago turbio, amarillento o marrón rojizo, grumoso, consistencia blanda, se quedan impresos la huella de los dedos.	
<u>OJOS</u>	
4. Globo ocular hinchado y abombado, córnea clara y brillante, pupila negra oscura.	
3. Globo ocular plano, córnea opalescente, pupila opaca.	
2. Globo ocular hundido, córnea acuosa y turbia, pupila gris lechosa.	
1. Globo ocular contraído, córnea turbia, pupila opaca cubierta de mucílago turbio gris amarillento.	
<u>BRANQUIAS</u>	
4. Color rojo sanguíneo, mucosa clara, transparente y filamentosa.	
3. Color rosa pálido, mucosa opaca.	
2. Color rojo grisáceo y acuoso, mucosa lechosa, turbia y densa.	
1. Color sucio, marrón rojizo, mucosa turbia gris y grumosa.	
<u>CAVIDAD ABDOMINAL Y ÓRGANOS</u>	
4. Superficie de corte de los lóbulos ventrales con coloración natural, sin decoloración, lisos y brillantes, peritoneo liso, brillante y muy firme, riñones y demás órganos (excepto partes del estómago e intestino), así como la sangre aórtica, de color rojo profundo.	
3. Lóbulos ventrales y superficie de corte de los lóbulos ventrales aterciopelados y sin brillo, zona rojiza a lo largo de la espina central, riñones y demás órganos de color rosa pálido, como laca.	
2. Superficie de corte de los lóbulos ventrales amarillentos, peritoneo granuloso, áspero y separable del cuerpo, riñones y demás órganos, así como la sangre aórtica de color marrón rojizo.	
1. Superficie de corte de los lóbulos ventrales turbios y pastosos, sangre acuosa de color marrón sucio, con tono violeta.	
<u>OLOR</u> (Practicar en la superficie, branquias y cavidad abdominal)	
4. Fresco como el agua de mar.	
3. Ya no como el agua de mar, pero fresco y específico.	

2. Olor neutral o ligeramente ácido, parecido al de la leche o al de la cerveza.	
1. Olor pesado o rancio, a pescado con TMA (amoníaco)	
PUNTAJE TOTAL	

Clasificación para el análisis sensorial del pescado fresco:

- Calidad extra 18-20 puntos
- Buena calidad 13-18 puntos
- Calidad media 08-13 puntos
- Recusable menos de 8 puntos

Anexo 3: ANOVA y LSD para determinar la relación músculo/agua de mayor solubilidad proteica

Tabla A: ANOVA para solubilidad proteica (%) por relación músculo/agua

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1333,46	2	666,728	30397,95	0,0000
Intra grupos	0,1316	6	0,0219333		
Total (Corr.)	1333,59	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Solubilidad proteica (%) por Relación músculo / agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1/5	3	36,25	X
1/9	3	56,07	X
1/12	3	65,45	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1/12 - 1/5	*	29,2	0,295887
1/12 - 1/9	*	9,38	0,295887
1/5 - 1/9	*	-19,82	0,295887

* indica una diferencia significativa.

Anexo 4: ANOVA y LSD para determinar el pH de mayor solubilidad proteica

Tabla B: ANOVA para solubilidad proteica (%) por pH

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8526,4	6	1421,07	24642,78	0,0000
Intra grupos	0,807333	14	0,0576667		
Total (Corr.)	8527,21	20			

Pruebas de Múltiple Rangos para Solubilidad proteica (%) por pH

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
10	3	33,0233	X
10,5	3	48,2533	X
11	3	65,45	X
11,5	3	71,3133	X
12	3	80,7133	X
12,5	3	85,62	X
13	3	95,2233	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
10 - 10,5	*	-15,23	0,420535
10 - 11	*	-32,4267	0,420535
10 - 11,5	*	-38,29	0,420535
10 - 12	*	-47,69	0,420535
10 - 12,5	*	-52,5967	0,420535
10 - 13	*	-62,2	0,420535
10,5 - 11	*	-17,1967	0,420535
10,5 - 11,5	*	-23,06	0,420535
10,5 - 12	*	-32,46	0,420535
10,5 - 12,5	*	-37,3667	0,420535
10,5 - 13	*	-46,97	0,420535
11 - 11,5	*	-5,86333	0,420535
11 - 12	*	-15,2633	0,420535
11 - 12,5	*	-20,17	0,420535
11 - 13	*	-29,7733	0,420535
11,5 - 12	*	-9,4	0,420535
11,5 - 12,5	*	-14,3067	0,420535
11,5 - 13	*	-23,91	0,420535
12 - 12,5	*	-4,90667	0,420535
12 - 13	*	-14,51	0,420535
12,5 - 13	*	-9,60333	0,420535

* indica una diferencia significativa.

Anexo 5: ANOVA y LSD para determinar el tiempo de extracción de mayor solubilidad proteica

Tabla C: ANOVA para solubilidad proteica (%) por tiempo de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	70,2044	3	23,4015	505,07	0,0000
Intra grupos	0,370667	8	0,0463333		
Total (Corr.)	70,5751	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Solubilidad proteica (%) por tiempo de extracción

Método: 95,0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5	3	91,6267	X
10	3	95,2233	X
15	3	96,6233	X
20	3	98,1633	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
5 - 10	*	-3,59667	0,405287
5 - 15	*	-4,99667	0,405287
5 - 20	*	-6,53667	0,405287
10 - 15	*	-1,4	0,405287
10 - 20	*	-2,94	0,405287
15 - 20	*	-1,54	0,405287

* indica una diferencia significativa.

Anexo 6: ANOVA y LSD para determinar el pH de menor solubilidad proteica

Tabla D: ANOVA para solubilidad proteica (%) por pH

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,25167	3	0,750556	39,66	0,0000
Intra grupos	0,1514	8	0,018925		
Total (Corr.)	2,40307	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Solubilidad proteica (%) por pH

Método: 95,0 porcentaje LSD

pH	Casos	Media	Grupos Homogéneos
5,5	3	7,42333	X
5	3	7,51	X
4,5	3	8,26667	X
6	3	8,38667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
4,5 - 5	*	0,756667	0,25902
4,5 - 5,5	*	0,843333	0,25902
4,5 - 6		-0,12	0,25902
5 - 5,5		0,0866667	0,25902
5 - 6	*	-0,876667	0,25902
5,5 - 6	*	-0,963333	0,25902

* indica una diferencia significativa.