



## Hidrolizados proteicos a partir de subproductos de la industria pesquera: obtención y funcionalidad<sup>1</sup>

### Protein hydrolyzed from byproducts of the fishery industry: Obtaining and functionality

*Manuel Montero-Barrantes<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Recepción: 13 de mayo, 2020. Aceptación: 9 de noviembre, 2020. Esta revisión se realizó en el marco del proyecto de investigación “Recuperación de fracciones proteicas con propiedades funcionales del licor de pescado obtenido del proceso de producción de harina de pescado” 735-B6-603, Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, San José, Costa Rica, Código postal: 11501-2060, manuel.montero@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0001-5252-7611>).

#### Resumen

**Introducción.** Los subproductos de la industria pesquera representan más del 50 % de la materia prima y suelen utilizarse para generar productos de bajo valor agregado. Sin embargo, estos subproductos presentan componentes con un alto valor comercial como los aceites ricos en omega 3, proteínas de alto valor nutricional, colágeno, enzimas y péptidos bioactivos. **Objetivo.** Presentar el estado actual respecto a la funcionalidad y el proceso de obtención de hidrolizados proteicos y péptidos bioactivos de origen pesquero. **Desarrollo.** Este trabajo se realizó en Costa Rica entre enero de 2017 y setiembre de 2019, en él se describe la generación y utilización de los subproductos de la industria pesquera, el proceso de obtención de hidrolizados y péptidos, desde las etapas preliminares hasta su fraccionamiento y purificación; finaliza con las aplicaciones y propiedades funcionales de estos compuestos como su valor nutricional, capacidad de retención de agua, emulsificante y espumante y su actividad antioxidante y antihipertensiva. **Conclusión.** Los hidrolizados proteicos y los péptidos de origen pesquero son una opción para la creación de nuevos ingredientes con aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica, especialmente por su actividad antioxidante y antihipertensiva, propiedades que dependen del fraccionamiento y purificación de los péptidos bioactivos, por lo que se deben desarrollar y optimizar las tecnologías que permitan realizar estos procesos a nivel industrial y a un costo adecuado.

**Palabras clave:** proteínas hidrolizadas, péptidos bioactivos, valoración de subproductos, compuestos funcionales.

#### Abstract

**Introduction.** By-products from the fishing industry represent more than 50% of the raw material and are usually used to generate low value-added products. However, these by-products present components with high commercial value such as omega-3 rich oils, proteins of high nutritional value, collagen, enzymes, and bioactive peptides. **Objective.** To present the current state of research on the functionality and the process of obtaining protein hydrolysates and bioactive peptides of fishing origin. **Development.** This work was carried out in Costa Rica between



January 2017 and September 2019, it describes the generation and use of by-products from the fishing industry, the process of obtaining hydrolysates and peptides, from the preliminary stages to their fractionation and purification, ends with the applications and functional properties of these compounds such as their nutritional value, water retention, emulsifying, and foaming capacity, and their antioxidant and antihypertensive activity. **Conclusion.** Protein hydrolysates and peptides of fishing origin are a good source for the production of new ingredients with applications in the food and pharmaceutical industry, especially due to their antioxidant and antihypertensive activity, properties that depend on the fractionation and purification of bioactive peptides, which is why the technologies that allow these processes must be developed and optimized to be carried out at an industrial level and at an adequate cost.

**Keywords:** protein hydrolysates, bioactive peptides, by-products valorization, functional compounds.

## Introducción

La industria alimentaria genera una gran cantidad de subproductos y residuos, se estima que de un 20 % a un 40 % de los alimentos producidos se pierden o convierten en residuos (Matharu et al., 2016; Garcia-Garcia et al., 2017; Pradal et al., 2018). En los países desarrollados la principal fuente de residuos se da en el consumo, mientras que en los países menos desarrollados las fuentes principales de residuos se producen en las etapas iniciales e intermedias de la cadena de suministros de alimentos (Garcia-Garcia et al., 2017; Matharu et al., 2016; Ong et al., 2018). Antes de ser eliminados, los residuos y subproductos generados se deben tratar, actividad que aumenta los costos de producción y reducen los beneficios económicos de los productores (Kader & Koshio, 2012). Actualmente, se adoptan los conceptos de reducción y valorización para la reutilización de dichos subproductos (Matharu et al., 2016; Ong et al., 2018). Existe un amplio margen para la fabricación de productos de valor agregado, incluyendo biomoléculas de importancia económica, que pueden contribuir, en última instancia, al desarrollo sustentable de una empresa (Pradal et al., 2018; Ravindran & Jaiswal, 2016).

El procesamiento industrial de productos pesqueros para el consumo humano (156,4 millones de toneladas en el 2018), generó una elevada cantidad de subproductos, alcanzó un 70 % del pescado elaborado, provenientes de porciones no comestibles o subutilizadas (Álvarez et al., 2018; Food and Agriculture Organization, 2020). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization, 2020), de la captura total mundial de productos pesqueros, 22,2 millones de toneladas no se utilizan como alimento. Esta porción de la captura y los subproductos pesqueros se encuentran disponibles como una fuente potencial de materia prima para recuperar valiosos componentes como proteínas, enzimas, compuestos biofuncionales y aceites ricos en omega 3 y 6 (Abdelhedi & Nasri, 2019; Suresh & Prabhu, 2012). Por lo tanto, es necesario estudiar la viabilidad del tratamiento de los subproductos, no solo por razones ambientales, sino también, desde su valor económico (Penven et al., 2013). El objetivo de este trabajo fue presentar el estado actual respecto a la funcionalidad y el proceso de obtención de hidrolizados proteicos y péptidos bioactivos de origen pesquero.

## Generación y utilización de subproductos en la industria pesquera

Para cumplir con las expectativas del mercado, generar productos con valor agregado y mantener la calidad física y química de los productos durante el almacenamiento y el transporte, en la industria pesquera se desarrollan numerosas etapas de procesamiento, tales como: fileteado, descabezado, eviscerado, pelado o cortado, que generan subproductos como las cabezas (9-20 %), vísceras (12-18 %), recortes (8-17 %), huesos de pescado o cartílagos y colas (9-15 %), pieles (1-3 %) y huevos (Abejón et al., 2018; Bruno et al., 2019; Dave & Routray, 2018). En la

industria de enlatados solo se utiliza la parte comestible de los pescados, se eliminan la cabeza, las aletas, la cola, las vísceras y en ciertas ocasiones, también la columna vertebral y la piel (Chakrabarti, 2005). Se estimó que en el procesamiento de atún enlatado, el 50 % de la materia prima se convierte en desechos (Abejón et al., 2018).

La valorización de los desechos y de los subproductos de la industria pesquera pueden llevar a una reducción de la contaminación, a generar ingresos adicionales a la industria y a contribuir a una mejor estabilidad económica (Dave & Routray, 2018). Hay dos tipos principales de valorización de subproductos pesqueros: a) explotación en masa y b) explotación en pequeño volumen. Difieren principalmente en la capacidad de absorción del mercado de estos derivados y en los beneficios económicos que pueden obtener los productores (Penven et al., 2013).

### **Para la explotación en masa**

Históricamente, los subproductos del pescado se solían descartar como desechos o bien se utilizaban directamente como alimento para la acuicultura y la ganadería, transformándose en productos de bajo valor económico por kilogramo de producto (harinas y aceite de pescado y fertilizantes naturales) (Abejón et al., 2018; Food and Agriculture Organization, 2020; Suresh & Prabhu, 2012). Según Kader & Koshio (2012), sin embargo, estos subproductos pueden ser reciclados como una fuente potencial de alimento de alto valor proteico para la alimentación animal (ganado, aves y pescado).

La producción de harina y aceite de pescado fluctúa según los cambios en las capturas, en particular de la anchoveta. Con la mejora de las prácticas pesqueras se han reducido los volúmenes de las capturas insostenibles de especies destinadas a la transformación en harina de pescado, por ejemplo, en 1994 se llegaron a utilizar más de treinta millones de toneladas de recursos pesqueros, en el año 2014 se alcanzó el nivel más bajo, donde solo se utilizaron catorce millones de toneladas y en el 2018 aumentó a dieciocho millones de toneladas, debido al aumento de la captura de anchoveta peruana. Los principales productores de dichos productos fueron Perú y Chile (Food and Agriculture Organization, 2020).

La disminución progresiva de la oferta y el aumento de la demanda, impulsado por el rápido crecimiento de la industria acuícola, ha provocado un aumento de los precios de la harina y el aceite de pescado; en consecuencia, una proporción cada vez mayor de ambos se produce a partir de subproductos de pescado. Se estima que estos subproductos se utilizan para producir hasta un 25 % o un 35 % del volumen total de harina y aceite de pescado, pero hay diferencias regionales (Food and Agriculture Organization, 2020).

### **Para la explotación en pequeño volumen**

Los subproductos de pescado contienen compuestos de interés para la utilización por diversos sectores, ofreciéndoles un gran valor que es subutilizado en la actualidad (Abejón et al., 2018; Penven et al., 2013); contienen proteínas, vitaminas, minerales y aceites ricos en ácidos grasos omega 3, que son tan buenos como los contenidos en otros productos comerciales. También son fuentes de compuestos valiosos, como péptidos bioactivos, pigmentos, aromas, enzimas, quitina, colágeno y gelatina (Suresh & Prabhu, 2012), siempre que se garanticen adecuadas condiciones higiénicas de manipulación y almacenamiento (Cardoso & Nunes, 2013). El procesamiento de subproductos de la industria pesquera es uno de los más grandes biorecursos sin explotar, con un alto potencial para la derivación en alimentos, piensos, medicina e industria farmacéutica (Bruno et al., 2019; Suresh & Prabhu, 2012).

Los huesos de pescado son una buena fuente de calcio y otros minerales como fósforo, colágeno y gelatina (Food and Agriculture Organization, 2020). El colágeno se utiliza para una variedad de aplicaciones, como envolturas comestibles, cosméticos y materiales biomédicos para aplicaciones farmacéuticas. La gelatina de pescado es una alternativa a la gelatina bovina y puede estabilizar las emulsiones. La piel de pescado, en particular

de los de mayor tamaño, proporciona gelatina, así como cuero para prendas de vestir. Las proteínas anticongelantes de la piel de los peces pueden utilizarse para reducir los daños por el congelamiento de la carne.

Para los productos de pequeño volumen el fraccionamiento es un factor clave de éxito. Esto se debe a que los sectores industriales que los utilizan, necesitan moléculas específicas que se encuentran en el tipo de subproducto (el colágeno de las pieles) y a veces hasta en especies determinadas (aceite de hígado de Siki para la industria aeronáutica) (Penven et al., 2013). Se han producido avances tecnológicos en la conversión de los subproductos de origen hidrobiológicos en productos útiles. En términos generales, se obtienen mayores beneficios económicos mediante la producción de consumibles humanos. Estos compuestos bioactivos pueden ser extraídos y aislados con tecnologías que varían desde procesos simples a otros de alta complejidad, entre estos procesos se pueden incluir la preparación y el aislamiento de péptidos bioactivos, oligosacáridos, ácidos grasos, enzimas, quitina, minerales solubles en agua y biopolímeros para aplicaciones biotecnológicas y farmacéuticas (Cardoso & Nunes, 2013).

### Proteínas y péptidos bioactivos

Los subproductos del procesamiento de mariscos y pescado son fuentes ricas de proteínas nutritivas y funcionalmente activas para diversas aplicaciones potenciales. Estas proteínas se recuperan principalmente en la forma de hidrolizados, que se derivan de las proteínas nativas como péptidos de diferentes tamaños después de la hidrólisis química o enzimática (Kristinsson & Rasco, 2000).

Los subproductos de varias especies de pescados han sido explotados para la producción comercial de hidrolizados de proteína, los cuales tienen una variedad de aplicaciones en diversas industrias, incluyendo productos farmacéuticos, nutrición humana, nutrición animal, y cosméticos (Bueno-Solano et al., 2009).

Se han aislado péptidos bioactivos de los subproductos del procesamiento de especies marinas, estos péptidos son oligopéptidos que se componen de dos a veinte aminoácidos que pueden provocar efectos beneficiosos a la salud humana, más allá de los efectos nutricionales básicos (Chalamaiah et al., 2018). Se ha demostrado que poseen muchas funciones fisiológicas, incluyendo acción antihipertensiva, inhibición de estrés oxidativo, hipercolesterolemia, trombosis, inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), acción anticoagulante y actividades antimicrobianas (Abdelhedi & Nasri, 2019). Los péptidos con actividad biológica tienen un uso potencial como nutracéuticos y aditivos alimentarios funcionales, por lo tanto, desarrollar alimentos nutracéuticos a partir de productos naturales, como los productos marinos, puede ser la forma más atractiva de contrarrestar las enfermedades (Affane et al., 2018).

Los hidrolizados de proteínas o péptidos pueden producirse a partir de fuentes proteicas de productos pesqueros, mediante el uso de diversos procesos como la hidrólisis química, hidrólisis enzimática *in vitro*, proceso autolítico con enzimas endógenas, fermentación microbiana, y digestión gástrica simulada (Bruno et al., 2019). La hidrólisis con enzimas proteolíticas comerciales es una de las técnicas más eficientes utilizadas para producir péptidos bioactivos (Chalamaiah et al., 2018). Estos péptidos antioxidantes son inactivos dentro de la secuencia de las moléculas de la proteína precursora, pero pueden ser liberados y activados luego de la hidrólisis (Chalamaiah et al., 2012).

### Producción de hidrolizados proteicos y péptidos

Históricamente, la hidrólisis química era el proceso más común para la producción de hidrolizados de proteínas de subproductos de pescado (He et al., 2013; Herpandi et al., 2011; Hordur, 2005). Pero se ha desarrollado el proceso de cambio de pH para obtener aislado de proteína funcional a partir de subproductos y especies de pescados de músculos oscuros (Cardoso & Nunes, 2013). El proceso de obtención es sencillo: las proteínas del tejido muscular se solubilizan primero mediante la mezcla de 5 a 10 volúmenes de agua, a los que se les añade una base para obtener

un pH de 10,5 o superior, o un ácido para obtener un pH de aproximadamente 3,5 o inferior (obteniendo mayores rendimientos de recuperación de proteínas con el tratamiento alcalino). A continuación, la mezcla se centrifuga separando la fracción ligera de aceite en la parte superior y otras impurezas insolubles como sedimentos. Después, la fracción de proteína soluble se precipita ajustando el pH a un valor cercano al punto isoeléctrico de la mayoría de las proteínas (pH 5,2 a 5,5), separándolos posteriormente por centrifugación.

El proceso químico tiene desventajas importantes como la poca capacidad de controlar la calidad del producto (Herpandi et al., 2011; Hordur, 2005), y el enorme consumo de agua, debido a los pasos secuenciales de solubilización (Cardoso & Nunes, 2013), el uso de altas temperaturas, las altas concentraciones de ácidos y bases, la posible contaminación ambiental (Ahmed & Chun, 2018) y la baja funcionalidad de las proteínas producidas. Sin embargo, este se destaca por el alto rendimiento de extracción, su sencillez, rápida obtención y bajo costo relativo respecto a la hidrólisis enzimática (He et al., 2013).

Por los inconvenientes antes mencionados, el proceso de hidrólisis enzimática se ha convertido recientemente en el proceso más estudiado, debido a sus condiciones moderadas de reacción, homogeneidad, calidad superior del producto y funcionalidad. Se indica que la opción más adecuada para la generación de péptidos bioactivos es la utilización de hidrólisis enzimática (Nasri, 2017). Los procesos enzimáticos se han demostrado a escala de laboratorio, pero se utilizan en menor medida a escala industrial, debido a los altos costos de producción y procesos largos (Ahmed & Chun, 2018; He et al., 2013). Se cree que la hidrólisis enzimática controlada será la mejor manera de convertir desechos y subproductos de la industria pesquera en productos en cuanto se reduzcan los costos y tiempos de proceso (Liu et al., 2014).

La producción de proteínas hidrolizadas se puede dividir en tres etapas: el pretratamiento de los subproductos, la hidrólisis y la recuperación. Para la producción de péptidos bioactivos es necesaria una etapa adicional: el fraccionamiento y la purificación de los hidrolizados.

### Pretratamiento

El propósito de la etapa de pretratamiento, es el de preparar la mezcla de subproducto picado y agua con bajo contenido de grasa, que sirva de sustrato y medio para la etapa posterior de hidrólisis (He et al., 2013). El contenido de grasa de hidrolizados de proteínas de pescado debe ser adecuadamente controlada. La FAO estableció como estándar, que debe estar por debajo de 0,5 % (m/m) para el consumo humano, ya que un mayor contenido de grasa oscurece los productos finales, debido a la liberación de los pigmentos marrones de la oxidación de los lípidos (Liu et al., 2014). En la industria atunera, los subproductos se trituran con agua potable (relación másica 1:2) en una picadora de carne durante cinco minutos (Chakrabarti, 2005). Se hidrolizaron proteínas de jurel de raya amarilla (*Selaroides leptolepis*), para lo cual, se picaron los subproductos y se mezclaron con agua destilada (Klompong et al., 2007). En otro trabajo emplearon subproductos del proceso de surimi con pretatamientos más complejos que incluyen un desengrasado con isopropanol (relación masa:volumen 1:5), durante 1 h a 30 °C, un filtrado para recuperar los sobrenadantes, el secado del material desengrasado a temperatura ambiente para, posteriormente, suspender el material en agua destilada (3 % m/v) y homogeneizarlo a una velocidad de 10000 rpm durante 1 min (Liu et al., 2014). Similar pretratamiento utilizaron Chi et al. (2014) desengrasando la materia prima con isopropanol.

### Hidrólisis enzimática

La hidrólisis de subproductos pesqueros se puede realizar químicamente (mediante la utilización de ácidos o bases) o con enzimas. Los procesos químicos afectan la calidad nutricional y funcional de los hidrolizados obtenidos, por lo tanto, el proceso enzimático es el más utilizada comercialmente, ya que se obtiene un mayor

control, reproducibilidad y selectividad del proceso, generando un producto de mayor valor nutricional y funcional (Abdelhedi & Nasri, 2019; Hayes & Gallagher, 2019; Zapata et al., 2019).

Las enzimas hidrolizan enlaces peptídicos y provocan la proteólisis, pueden ser endoproteasas, hidrolizan enlaces dentro de la cadena de la proteína, o exoproteasas, hidrolizan aminoácidos terminales de las proteínas o péptidos. Benitez et al. (2008) describen el proceso de hidrólisis iniciando con la formación de un complejo enzima-sustrato (proteína), después se produce la rotura del enlace amídico dando como resultado la separación de la cadena, finalmente, el péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua. Las enzimas proteolíticas pueden ser endógenas o de otras fuentes, tales como animales (tripsina o pancreatina), vegetales (papaína, bromelina o ficina) y a partir microorganismos (pronasa o proteasas de *Bacillus licheniformis* (Herpandi et al., 2011). Las enzimas más utilizadas son la pepsina, tripsina,  $\alpha$ -quimotripsina, papaina y algunos preparados comerciales de proteasas (Hayes & Gallagher, 2019).

En general, el método de producción de hidrolizados de proteínas de los subproductos pesqueros implica la mezcla de subproductos picados con enzimas y la incubación en un reactor durante un tiempo definido o hasta alcanzar el grado de hidrólisis (DH, por sus siglas en inglés) requerido en condiciones óptimas para la actividad de la enzima, seguido de su inactivación por calentamiento o ajuste del pH (Suresh & Prabhu, 2012). El perfil peptídico del producto final se ve afectado no solo por la materia prima y la especificidad de las enzimas, sino también por las condiciones del proceso (temperatura y pH), que afectan en gran medida la cinética de la reacción de las enzimas (Abdelhedi & Nasri, 2019; Herpandi et al., 2011).

Las enzimas con un pH de trabajo óptimo en el intervalo ácido, como la pepsina, son preferidas, ya que el bajo pH puede inhibir el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, el ambiente de pH ácido también conduce a una escasa recuperación de proteínas, las cuales tienen un bajo valor nutricional, debido a la destrucción del aminoácido esencial triptófano y a niveles bajos de funcionalidad por el exceso de hidrólisis (Kristinsson & Rasco, 2000). En el Cuadro 1 se observan las principales enzimas y las condiciones de proceso utilizadas por diferentes autores para la hidrólisis de subproductos de mariscos y pescado.

**Cuadro 1.** Enzimas y condiciones de proceso para la hidrólisis de subproductos de la industria pesquera.

**Table 1.** Enzymes and process conditions for the hydrolysis of fishing industry by-products.

Enzima	Cantidad añadida (%)	Condiciones de proceso			Fuentes
		pH	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	
Proteasas de <i>B. licheniformis</i>	0,25-10	7-10	30-60	0,06-8	(Gómez et al., 2019; Halim et al., 2018; Ketnawa et al., 2019)
Papaína	1-5	6-7	37-65	1-6	(Klompong et al., 2007)
Tripsina	1-5	7-8	37-40	3-8	(Abdollahi et al., 2018; Chi et al., 2014)
Proteasas de <i>B. subtilis</i>	0,5-5	7-7,5	50	2-8	(Zhong, et al., 2011; Liu et al., 2014)
Proteasas de <i>Aspergillus oryzae</i>	0,25-10	7	50	1-8	(Klompong et al., 2007; Zhong et al., 2011)
Pepsina	1-5	2	37	2-8	(Abdollahi et al., 2018; Kim et al., 2018; Sheriff et al., 2014; Zhong et al., 2011)



Se han realizado otros estudios de fermentación, donde enzimas bacterianas hidrolizan las proteínas, además de un estudio de fermentación con *Bacillus subtilis* para hidrolizar proteínas de sardina (*Sardinella aurita*), pez cebra “blenny” (*Salaria basilisca*), pez gobio (*Zosterisessor ophiocephalus*) y raya (*Dasyatis pastinaca*) (Jemil et al., 2014). Otros autores extraen proteasa de los subproductos para realizar la hidrólisis, Castro-Ceseña et al. (2012) emplearon concentrados de vísceras y subproductos de sardina para hidrolizar subproductos de la misma especie; mientras que Lassoued et al. (2015), utilizaron proteinasa alcalina extraída de raya (*Raja clavata*) para hidrolizar sus subproductos.

Los métodos existentes para la hidrólisis enzimática de la proteína de pescado presentan limitaciones, como el tiempo de reacción prolongado y la hidrólisis no selectiva. Por lo tanto, se propone el desarrollo de una tecnología de hidrólisis innovadora para convertir los subproductos del pescado en péptidos funcionales. Se ha evaluado el efecto de las altas presiones en el proceso enzimático de subproductos de tilapia, obteniendo un proceso de hidrólisis acelerado y con más aminoácidos libres, además de mejorar la solubilidad, las propiedades emulsificantes y antioxidantes de los hidrolizados (Hemker et al., 2020). Se ha estudiado la posibilidad de usar nuevas tecnologías como la hidrólisis con agua subcrítica, donde se utiliza agua a altas temperaturas (100-374 °C) y altas presiones (10-60 bar), para realizar el proceso de hidrólisis de subproductos (Ahmed & Chun, 2018; Asaduzzaman et al., 2018; Bruno et al., 2019; Cho et al., 2019).

## Recuperación

Posterior al proceso de hidrólisis se genera una dispersión donde se encuentran presentes los hidrolizados proteicos y los péptidos, una fracción lipídica (si no se desengrasó el subproducto anteriormente) y otros sólidos suspendidos. Estas fracciones se separan por centrifugación, debido a sus diferentes densidades. En el Cuadro 2 se observan las condiciones de separación utilizadas en diferentes investigaciones.

**Cuadro 2.** Condiciones de centrifugación en la recuperación de hidrolizados de subproductos pesqueros.

**Table 2.** Centrifugation conditions in the recovery of hydrolysates fishing industry by-products.

Subproducto	Fuerza o velocidad de centrifugación	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Fuente
Camarón	1250 rpm	15	5	(Bueno-Solano et al., 2009)
Surimi	10 000 rpm	15	4	(Liu et al., 2014)
Ostras ( <i>C. talienwhanensis</i> )	3000 g	25	Ambiente	(Wang et al., 2014)
Arenque	6450 g	10	70	(Šližytė et al., 2014)
Sardina ( <i>S. aurita</i> ), Pez cebra “blenny” ( <i>S. basilisca</i> ), Pez gobio ( <i>Z. ophiocephalus</i> ), Raya ( <i>D. pastinaca</i> )	8500 g	30	4	(Jemil et al., 2014)
Sardina	15 000 g	15	4	(Castro-Ceseña et al., 2012)
Atún Ojón	18 000 g	30	n.r.	(Ahmed et al., 2019)
Carpa plateada ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> )	5000 g	20	4	(Abdollahi et al., 2018)
Tilapia roja ( <i>Oreochromis</i> spp.)	7000 g	15	10	(Gómez et al., 2019)

Aunque existen estudios que evalúan la funcionalidad de las proteínas hidrolizadas en solución (Bueno-Solano et al., 2009), las formas líquidas de hidrolizados de proteínas de pescado pueden descomponerse rápidamente, debido al alto contenido de agua y la facilidad con la que las bacterias utilizan las proteínas como sustratos (He et al., 2013). Por lo anterior, usualmente los hidrolizados de proteínas extraídos de subproductos pesqueros se secan y muelen hasta obtener un polvo estable, esto agrega otras ventajas: el producto es más ligero y más fácil de transportar que la forma líquida y puede ser almacenado durante períodos más largos.

En pequeña escala la deshidratación se suele hacer por secado al vacío (Bueno-Solano et al., 2009) o liofilización (Ahn et al., 2014; Jemil et al., 2014; Klompong et al., 2007; Liu et al., 2014; Šližytė et al., 2014). Si la producción se realiza a escala industrial, el secado se realizará por atomización. Según He et al. (2013), si la producción se realiza a escala industrial, el secado se realizará por atomización. El producto final de hidrolizados de proteínas es de color blanco cremoso, con buena solubilidad en agua y con diferentes funciones, las cuales se desarrollarán posteriormente.

### Fraccionamiento y purificación

Dependiendo de la enzima utilizada, las condiciones y el grado de hidrólisis final, se obtendrá una mezcla de proteínas hidrolizadas y péptidos de diferentes tamaños y características, que al ser fraccionadas y purificadas expresan diferentes y mejores propiedades funcionales y nutritivas respecto del hidrolizado inicial o entre las diferentes fracciones (Abdelhedi & Nasri, 2019; He et al., 2013). El fraccionamiento o purificación se realiza con una tecnología de membranas después de la centrifugación y antes o después de la liofilización (Abdelhedi & Nasri, 2019). La separación de las proteínas y péptidos hidrolizados se puede dar de acuerdo con sus características intrínsecas como su peso molecular, carga, afinidad y polaridad (Abdelhedi & Nasri, 2019).

Técnicas de separación de membrana como la microfiltración, nanofiltración, ultrafiltración y la filtración con electro-membrana proporcionan una tecnología potencial para la industria, pudiéndose elaborar productos enriquecidos con péptidos pesqueros de pesos moleculares específicos (Abejón et al., 2018; Cardoso & Nunes, 2013). Las membranas de ultrafiltración con puntos de corte entre 20 y 3 kDa se utilizan para separar péptidos de proteínas poco hidrolizadas, mientras que las membranas con punto de corte entre 1 y 8 kDa se utilizan para el fraccionamiento de péptidos activos con pesos moleculares específicos (Hayes & Gallagher, 2019). En el Cuadro 3 se observan las condiciones de proceso utilizadas para fraccionar los hidrolizados de proteínas en diferentes investigaciones.

Con el fin de purificar péptidos específicos, los procesos de separación por membrana pueden ser acoplados con las técnicas cromatográficas. Algunos estudios de purificación utilizan la cromatografía en gel, después del fraccionamiento por membranas, para obtener fragmentos de péptidos puros con los más altos niveles de bioactividad (Chi et al., 2014; Ko et al., 2016; Wang et al., 2014). Otros autores han utilizado cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) para la purificación de los péptidos (Ahn et al., 2014; Chi et al., 2014).

La electrodiálisis es una tecnología de membranas que permite separar y concentrar los péptidos por su tamaño y carga. Suwal et al. (2014), la utilizaron en la separación de péptidos hidrolizados de subproductos de pescado y Ketnawa et al. (2019) para el fraccionamiento de péptidos hidrolizados de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

A escala industrial, los costos de procesamiento asociados con la purificación de un péptido bioactivo deben evaluarse contra el valor del producto purificado o semipurificado, ya que solo se purifican los péptidos por cromatografía cuando su alta pureza es crucial para su comercialización (Groleau et al., 2005). Este nivel de pureza se utiliza especialmente para el desarrollo de productos en la industria farmacéutica. Varios fragmentos de péptidos se han purificado a partir de hidrolizados de proteínas en subproductos de pescado. Ejemplo de esto es el péptido Val-Ala-Pro de la carpa de hierba como inhibidor de enzima convertidora de la I-Angiotensina (ACE) (Chen et al., 2012).



**Cuadro 3.** Tamaño promedio de poro o punto de corte de membranas de ultrafiltración para el fraccionamiento de hidrolizados de proteínas de origen pesquero.

**Table 3.** Average pore size or cut-off point of ultrafiltration membranes for the fractionation of hydrolysates fishing origin proteins.

Subproducto	Tamaño promedio de poro o punto de corte	Fuente
Ostras ( <i>C. talienwhanensis</i> )	3 kDa	(Wang et al., 2014)
Cangrejo de nieve	1 kDa	(Suwal et al., 2014)
Bacalao	5 y 3 kDa	(Sabeena Farvin et al., 2014)
Rape ( <i>L. litulon</i> )	3 y 1 kDa	(Chi et al., 2014)
Atún (carne oscura)	10, 8,5, 5, 3,5 y 1 kDa	(Saidi et al., 2013)
Atún ( <i>Katsuwonus pelamis</i> )	3 kDa	(Intarasirisawat et al., 2013)
Atún (esqueleto)	10, 5 y 1kDa	(Lee et al., 2010)
Calamar	10, 6 y 2 kDa	(Lin et al., 2012)
Sardina	0,05 $\mu$ m	(Benhabiles et al., 2012)
Carpa plateada ( <i>H. molitrix</i> )	10, 5, 3 y 1 kDa	(Zhong et al., 2011)
Camarón ( <i>Pandalus borealis</i> )	5 y 1kDa	(Gildberg et al., 2011)
Salsa de pescado	10 y 3 kDa	(Choksawangarn et al., 2018)
Tilapia roja ( <i>Oreochromis spp</i> )	100, 10, 3 y 1 kDa	(Gómez et al., 2019)
Anguila ( <i>Monopterus sp</i> )	10, 5 y 3 kDa	(Halim et al., 2018)
Falso halibut japonés ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	10 y 5 kDa	(Ko et al., 2016)
Bacalao del pacífico ( <i>Godus macrocephalus</i> )	10, 5 y 1 kDa	(Ngo et al., 2016)
Corvina amarilla ( <i>P. crocea</i> )	10 y 3 kDa	(Chi et al., 2015a)

## Aplicaciones y funcionalidad

Los hidrolizados de proteínas de pescado tienen aplicación potencial como ingredientes funcionales en los alimentos. Poseen numerosas propiedades como la capacidad de retención de agua, de absorción de aceite, solubilidad de proteínas, capacidad de gelificación, formación y estabilización de espumas y capacidad de emulsificación (He et al., 2013).

El peso molecular de los hidrolizados proteicos, la hidrofobicidad, la secuencia de aminoácidos y los grupos polares de los hidrolizados, afectan directamente las propiedades y sus usos funcionales como ingredientes alimentarios (Abdelhedi & Nasri, 2019; Kristinsson & Rasco, 2000; Liu et al., 2014; Nasri, 2017; Penven et al., 2013). Los péptidos aislados de hidrolizados de proteínas de pescado han mostrado numerosas actividades biológicas, por ejemplo, antihipertensiva, antitrombótica, inmunomoduladora y antioxidante (Jemil et al., 2014; Nasri et al., 2013; Olsen et al., 2014). La bioactividad de los derivados de los hidrolizados de proteínas de productos hidrobiológicos es comparable o exceden la actividad de otras moléculas de referencia, que en su mayoría son productos comerciales (He et al., 2013).

## Suplementos nutricionales

Debido a su alta solubilidad y sabor relativamente aceptable, se utilizan como fuente de nitrógeno en productos para adultos (Suresh & Prabhu, 2012). Los hidrolizados de proteínas de productos pesqueros contienen altos niveles de proteínas y aminoácidos esenciales y niveles bajos de metales pesados. Esto los posiciona como una posible materia prima de alta calidad para suplementos nutricionales para consumo humano o animal (Bueno-Solano et al., 2009; Šližytė et al., 2014).

Los hidrolizados de proteínas de pescado en forma líquida o seca también se pueden utilizar para las formulaciones de alimentación para diferentes animales de granja, acuicultura o como fertilizantes agrícolas (Goosen et al., 2014; Srichanun et al., 2014; Suresh & Prabhu, 2012).

## Solubilidad

Al aumentar el grado de hidrólisis se genera una fuerza electrostática de repulsión entre las moléculas. Esto disminuye la posible agregación y favorece su solubilidad, y otras propiedades funcionales relacionadas con la solubilidad (Liu et al., 2014). Al utilizar proteasas de *B. licheniformis* y *A. oryzae*, se determinó que a mayor grado de hidrólisis se obtiene una mayor solubilidad de las proteínas hidrolizadas (Klompong et al. 2007). Un aumento importante en la solubilidad de las proteínas hidrolizadas respecto a las proteínas crudas fueron obtenidos por Jemil et al. (2014). Una buena solubilidad es necesaria para que se manifiesten propiedades como la emulsificación y gelificación, por lo que el aumento en la solubilidad es una mejora importante para los hidrolizados de proteínas (He et al., 2013).

Los cambios en la hidrofobicidad de la superficie de las proteínas hidrolizadas influyen principalmente en las propiedades interfaciales de estas (Liu et al., 2014). Se ha observado que la hidrofobicidad de la superficie de los hidrolizados de subproductos de surimi, se vio afectada significativamente por el grado de hidrólisis, disminuyendo para un complejo de proteasas de *B. subtilis*, posiblemente porque los péptidos liberados de las proteínas adoptaron gradualmente una conformación con grupos hidrófilos expuestos hacia el exterior; no ocurrió lo mismo para un complejo de proteasas de *B. licheniformis*, donde aumentó la hidrólisis y, por ende, la tendencia fue contraria (Liu et al., 2014).

La proteólisis, debido al acortamiento de las cadenas de péptidos, se acompaña de la ganancia o pérdida de la hidrofobicidad, que depende principalmente de la naturaleza de la proteína hidrolizada y del peso molecular de los péptidos formados. Abdollahi et al. (2018) indican que probablemente la solubilidad de hidrolizados de colágenos está relacionada con un tamaño menor de las moléculas y con la liberación de grupos carboxilo y aminos polares de alta capacidad de interacción con el agua.

## Propiedades emulsificantes

Los hidrolizados son compuestos de superficie activa que permiten la formación de emulsiones de aceite en agua, debido a sus grupos hidrófilos e hidrófobos. Las propiedades emulsionantes de los hidrolizados de proteínas de productos pesqueros están relacionadas con sus propiedades de superficie (Pires & Batista, 2013). Un requisito previo para la adsorción de una proteína en la interfaz aceite-agua, es la presencia de zonas hidrófobas en la superficie de la molécula. Las propiedades emulsionantes de las proteínas hidrolizadas están influenciadas por el grado de hidrólisis. Estas, generalmente disminuyen a medida que el grado de hidrólisis aumenta, debido a la formación de pequeños péptidos con menos actividad de superficie y menos hidrofobicidad (Kristinsson & Rasco, 2000).

Las propiedades emulsionantes de los hidrolizados de subproductos de surimi, preparados con proteasas de *Bacillus licheniformis* y proteasas de *Bacillus subtilis*, disminuyeron con el aumento del grado de hidrólisis. En

relación a esto, Liu et al. (2014) concluyeron que el tamaño y el peso molecular de los hidrolizados son los factores más influyentes en sus propiedades emulsionantes. Similares resultados obtuvieron Klompong et al. (2007), quienes indicaron que las mejores propiedades emulsificantes se obtuvieron con el menor grado de hidrólisis (DH= 5 %) y disminuyeron al aumentar el grado de hidrólisis para proteasas de *B. licheniformis* y de *A. oryzae*. La capacidad emulsionante de diferentes hidrolizados de proteínas de subproductos marinos, es similar a la de otros emulsionantes comerciales de calidad alimentaria, como proteína de soya, caseína y de caseinato de sodio, siendo más eficaces los primeros. Esto evidenciaría el gran potencial de desarrollo de los hidrolizados de proteínas de subproductos marinos como agentes emulsionantes comerciales para formulaciones de alimentos (He et al., 2013).

### **Propiedades espumantes**

Los hidrolizados de proteínas de pescado tienen buenas propiedades de formación y estabilización de espumas, por lo que se pueden encontrar aplicaciones en soufflés a base de pescado y patés. Los factores que son relevantes para las propiedades espumantes son similares a las requeridas para la emulsión (Pires & Batista, 2013).

El hidrolizado de subproductos de surimi con un complejo de proteasas de *B. subtilis* (grado de hidrólisis de 10 %), exhibió las mejores propiedades de formación de espuma respecto a los hidrolizados con mayor grado de hidrólisis y los preparados con proteasas de *B. licheniformis* (Liu et al., 2014). A medida que se incrementa el grado de hidrólisis, los hidrolizados de ambos preparados enzimáticos mostraron una capacidad de formación de espuma y estabilidad inferior. La misma tendencia encontraron Jemil et al. (2014) y Klompong et al. (2007), la cual se puede explicar por las diferencias de la hidrofobicidad de la superficie, de tamaño y de carga de los péptidos.

### **Capacidad de retención de agua**

La capacidad de retención de agua de las proteínas es de gran importancia para la industria alimentaria, debido a que esto afecta los atributos sensoriales de los productos y sus costos (Pires & Batista, 2013). La hidrólisis modifica la capacidad de las proteínas para absorber y unirse a moléculas de agua. El incremento de grupos carboxilo y amino terminales produce un efecto sustancial en la cantidad de agua absorbida (Hordur, 2005).

Los hidrolizados proteicos de origen marino han demostrado tener una buena capacidad de captar y retener agua, la cual es una propiedad particularmente útil para muchas formulaciones (Kristinsson & Rasco, 2000). Se encontró un aumento importante en la capacidad de retención de agua de las proteínas hidrolizadas de cuatro tipos de pescado respecto a las proteínas crudas, concluyendo que pueden ser ingredientes funcionales en la formulación de alimentos para mejorar la textura, reducir la sinéresis y reducir el valor energético (Jemil et al., 2014)

### **Capacidad antioxidante**

Diferentes estudios han demostrado que la actividad antioxidante de los hidrolizados de proteínas de origen marino, son más altas o similares a la de los antioxidantes sintéticos comúnmente usados, como  $\alpha$ -tocoferol, el butilhidroxianisol (BHA) o el butilhidroxitolueno (BHT) (Chi et al., 2014; Sheriff et al., 2014; Šližytė et al., 2014). Debido a su alto contenido de Tyr, Trp, Met, Lys, Cys e His, que actúan como donantes de protones o de hidrógeno con una carga positiva para reaccionar con los electrones desapareados de los radicales libres (He et al., 2013). Se ha observado que los hidrolizados tienen buena capacidad antioxidante, pero esta capacidad es menor que la que presenta el BHA (Jemil et al., 2014). Algunos péptidos específicos aislados en diferentes investigaciones se observan en el Cuadro 4.

La actividad antioxidante de los hidrolizados de proteínas de origen marino se puede aplicar a productos alimenticios para extender su vida útil (Herpandi et al., 2011). La oxidación de los lípidos conduce al desarrollo

**Cuadro 4.** Tamaño y secuencia de aminoácidos de péptidos con capacidad antioxidante aislados de subproductos de origen pesquero.  
**Table 4.** Amino acid sequence and size of peptides with antioxidant capacity isolated from fishing by-products.

Subproducto	Tamaño	Secuencia	Fuente	
Ostras ( <i>C. talienwhanensis</i> )	518 Da	Pro-Val-Met-Gly-Asp	(Wang et al., 2014)	
	440 Da	Glu-His-Gly-Val		
Rape ( <i>L. litulon</i> )	630 Da	Glu-Trp-Pro-Ala-Gln	(Chi et al., 2014)	
	669 Da	Phe-Leu-His-Arg-Pro		
	633 Da	Leu-Met-Gly-Gln-Trp		
Salmón	1018 Da	Phe-Leu-Asn-Glu-Phe-Leu-His-Val	(Ahn et al., 2014)	
Corvina amarilla ( <i>P. crocea</i> )	651,77 Da	Tyr-Leu-Met-Ser-Arg	(Chi, et al., 2015a)	
	668,82 Da	Val-Leu-Tyr-Glu-Glu		
	662,92 Da	Met-Ile-Leu-Met-Arg		
Cabezas de “Leatherjacket” aleta azul ( <i>Navodon septentrionalis</i> )	615,69 Da	Trp-Glu-Gly-Pro-Lys	(Chi et al., 2015c)	
	269,33 Da	Gly-Pro-Pro		
	485,59 Da	Gly-Val-Pro-Leu-Thr		
Piel de “Leatherjacket” aleta azul ( <i>N. septentrionalis</i> )	389,41 Da	Gly-Ser-Gly-Gly-Leu	(Chi et al., 2015b)	
	546,63 Da	Gly-Pro-Gly-Gly-Phe-Ile		
	432,52 Da	Phe-Ele-Gly-Pro		
	1393 Da	Val-Pro-Lys-Asn-Tyr-Phe-His-Asp-Ile-Val		(Najafian & Babji, 2015)
	1231 Da	Leu-Val-Met-Phe-Lue-Asp-Asn-Gln-His-Arg-Val-Ile-Arg-His		
Pangasio ( <i>Pangasius sutchi</i> )	1739 Da	Phe-Val-Asn-Gln-Pro-Tyr-Lue-Lue-Tye-Ser-Val-His-Met-Lys		

de sabores indeseables y productos de reacción potencialmente tóxicos, por lo que es una de las principales causas de deterioro de la calidad en los productos con alto contenido lipídico. Por consiguiente, la capacidad antioxidante de los péptidos para limitar la oxidación de lípidos en los sistemas alimentarios ha recibido recientemente mayor atención (Hordur, 2005). Los hidrolizados de proteínas de bacalao poseen una fuerte actividad antioxidante y quelante, siendo muy efectivos para prevenir la oxidación lipídica de emulsiones de aceite de pescado (con alto contenido de ácidos grasos insaturados) en agua (Sabeena Farvin et al., 2014). Similares resultados se obtuvieron en bacalao (Halldorsdottir et al., 2014), en atún, en corvina amarilla (Chi et al., 2015a), en cabezas y piel del pez zapatero (*Oligoplites saurus*) (Chi et al., 2015b; Chi et al., 2015c), en anguila (Halim et al., 2018), en piña de mar (*Halocynthia roretzi*) (Kim et al., 2018) y en tiburón pangasio (Najafian & Babji, 2015).

En otro estudio se determinó que los hidrolizados de subproductos de atún retardan la oxidación de salchichas de pescado, aumentando su vida útil (Intarasirisawat et al., 2014). Además, se concluyó que los hidrolizados de pargo rojo pueden servir como antioxidantes naturales para la preservación de alimentos (Khantaphant et al., 2011),

Los antioxidantes no solo mejoran la estabilidad de los lípidos y los alimentos que contienen lípidos, también se utilizan para conservar productos alimenticios al retardar la decoloración y el deterioro resultante de la oxidación,

que también resulta en la mejora de la vida útil (Herpandi et al., 2011). Además, los péptidos antioxidantes de proteínas de pescado se consideran moléculas seguras y saludables con bajo peso molecular, fácil absorción, de bajo costo y alta actividad, por lo que tienen un gran potencial para ser utilizados en la industria alimentaria (Chalamaiah et al., 2012).

Se concluyó que los hidrolizados de carpa plateada de menos de 1 kDa, por sus cualidades antioxidantes, pueden ser utilizados como ingredientes nutraceuticos o en formulaciones farmacéuticas (Zhong et al., 2011) y se determinó que los hidrolizados de vísceras de tilapia roja de menos de 1 kDa, presentan la mayor actividad antioxidante respecto a otras fracciones de mayor peso molecular (Gómez et al., 2019).

### **Actividad antihipertensiva**

Los péptidos antihipertensivos son aquellos que permiten reducir la presión sanguínea, los hidrolizados de proteínas de varias especies de recursos hidrobiológicos tienen una buena actividad antihipertensiva (Cheung & Li-Chan, 2010; Intarasirisawat et al., 2013; Ketnawa et al., 2019; Khantaphant et al., 2011; Ko et al., 2016; Lassoued et al., 2015; Lee et al., 2010; Lin et al., 2012; Nasri et al., 2013; Ngo et al., 2016; Sun et al., 2017), principalmente por su capacidad como inhibidor de la actividad de la ACE. Según Abdelhedi & Nasri (2019), esta capacidad inhibitoria se debe a la liberación de péptidos con los aminoácidos His, Ala, Val, Leu, Tyr, Phe, Trp y Pro. La enzima ACE juega un rol central en la regulación de la presión arterial por la producción de un potente vasoconstrictor (angiotensina) y la degradación del vasodilatador bradikinina.

Se encontraron dos péptidos con fuerte capacidad inhibitoria de la ACE cuando hidrolizaron piel de bacalao del pacífico con pepsina (Ngo et al., 2016). Diversos autores reportaron que la fracción de hidrolizados de calamar con menos de 2 kDa presenta las mejores características antihipertensivas, donde no se encontraron diferencias significativas en ratas respecto al medicamento captopril (Lin et al., 2012). Para un péptido de atún, Lee et al. (2010) encontraron que se logra bajar la presión sanguínea de similar manera que al utilizar el captopril; en cambio Gildberg et al. (2011), observaron que las ratas que consumieron este medicamento, tuvieron una presión sanguínea significativamente menor a las ratas que consumieron de 15-45 mg de péptidos de camarón. Se encontró una fuerte actividad inhibitoria de la ACE con péptidos hidrolizados de trucha arcoiris ( $93,48 \pm 0,24$  %), significativamente menor a la inhibición que presentó el captopril ( $99,45 \pm 0,01$  %) (Ketnawa et al., 2019).

## **Conclusiones**

Los subproductos pesqueros se pueden valorizar convirtiéndolos en hidrolizados proteicos y péptidos con propiedades funcionales interesantes para la industria alimentaria y farmacéutica. Existen métodos de extracción y recuperación sencillos y rápidos, como la hidrólisis química y la centrifugación, donde se obtienen productos poco estandarizados y con propiedades funcionales limitadas.

Para obtener compuestos bioactivos, de alto valor comercial, es necesario la aplicación de la hidrólisis enzimática y el posterior fraccionamiento y purificación con base en tecnologías como la cromatografía y las membranas, campos en los que se presentan una gran cantidad de investigaciones actualmente, para tratar de desarrollar y optimizar las tecnologías que permitan el fraccionamiento y la purificación de los diferentes hidrolizados de una manera rentable a nivel industrial.

## Referencias

- Abdelhedi, O., & Nasri, M. (2019). Basic and recent advances in marine antihypertensive peptides: Production, structure-activity relationship and bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 543–557. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.002>
- Abdollahi, M., Rezaei, M., Jafarpour, A., & Undeland, I. (2018). Sequential extraction of gel-forming proteins, collagen and collagen hydrolysate from gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), a biorefinery approach. *Food Chemistry*, 242, 568–578. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.045>
- Abejón, R., Belleville, M. P., Sanchez-Marcano, J., Garea, A., & Irabien, A. (2018). Optimal design of industrial scale continuous process for fractionation by membrane technologies of protein hydrolysate derived from fish wastes. *Separation and Purification Technology*, 197, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.12.057>
- Affane, F., Louala, S., el Imane Harrat, N., Bensalah, F., Chekkal, H., Allaoui, A., & Lamri-Senhadji, M. (2018). Hypolipidemic, antioxidant and antiatherogenic property of sardine by-products proteins in high-fat diet induced obese rats. *Life Sciences*, 199, 16–22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.03.001>
- Ahmed, R., & Chun, B S. (2018). Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141, 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.03.001>
- Ahmed, R., Haq, M., & Chun, B. -S. (2019). Characterization of marine derived collagen extracted from the by-products of bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 668–676. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.213>
- Ahn, C. -B., Kim, J. -G., & Je, J. -Y. (2014). Purification and antioxidant properties of octapeptide from salmon byproduct protein hydrolysate by gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 147, 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.136>
- Álvarez, C., Lélou, P., Lynch, S. A., & Tiwari, B. K. (2018). Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. *LWT*, 88, 210–216. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.045>
- Asaduzzaman, A. K. M., Haq, M., & Chun, B. -S. (2018). Reduction of histamine and heavy metals in mackerel hydrolyzates produced by catalysts associated-subcritical water hydrolysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 68, 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.08.001>
- Benhabiles, M. S., Abdi, N., Drouiche, N., Lounici, H., Pauss, A., Goosen, M. F. A., & Mameri, N. (2012). Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Materials Science and Engineering: C*, 32(4), 922–928. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.02.013>
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 227–236.
- Bruno, S. F., Ekorong, F. J. A. A., Karkal, S. S., Cathrine, M. S. B., & Kudre, T. G. (2019). Green and innovative techniques for recovery of valuable compounds from seafood by-products and discards: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 85, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.004>
- Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O. N., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N. P., & Sánchez-Machado, D. I. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chemistry*, 112(3), 671–675. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.029>



- Cardoso, C., & Nunes, M. L. (2013). Improved utilization of fish waste, discards and by-products and low-value fish towards food and health products. In R. Galvez & J. P. Berge (Eds.), *Utilization of Fish Waste* (pp. 26–58). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b14944>
- Castro-Ceseña, A. B., del Pilar Sánchez-Saavedra, M., & Márquez-Rocha, F. J. (2012). Characterisation and partial purification of proteolytic enzymes from sardine by-products to obtain concentrated hydrolysates. *Food Chemistry*, *135*(2), 583–589. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.024>
- Chakrabarti, R. (2005). Enzymatic bioprocessing of tropical seafood wastes. In A. Pometto, K. Shetty, G. Paliyath, & R. Levin (Eds.), *Food Biotechnology* (2<sup>nd</sup> Ed. pp. 1605–1629). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/9781420027976>
- Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, *135*(4), 3020–3038. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>
- Chalamaiah, M., Yu, W., & Wu, J. (2018). Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food Chemistry*, *245*, 205–222. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.087>
- Chen, J., Wang, Y., Zhong, Q., Wu, Y., & Xia, W. (2012). Purification and characterization of a novel angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from enzymatic hydrolysate of grass carp protein. *Peptides*, *33*(1), 52–58. <https://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2011.11.006>
- Cheung, I. W. Y., & Li-Chan, E. C. Y. (2010). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity and bitterness of enzymatically-produced hydrolysates of shrimp (*Pandalopsis dispar*) processing byproducts investigated by Taguchi design. *Food Chemistry*, *122*(4), 1003–1012. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.057>
- Chi, C. -F., Hu, F. -Y., Wang, B., Ren, X. -J., Deng, S. -G., & Wu, C. -W. (2015a). Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolyzate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle. *Food Chemistry*, *168*, 662–667. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.117>
- Chi, C. -F., Wang, B., Deng, Y. -Y., Wang, Y. -M., Deng, S. -G., & Ma, J. -Y. (2014). Isolation and characterization of three antioxidant pentapeptides from protein hydrolysate of monkfish (*Lophius litulon*) muscle. *Food Research International*, *55*, 222–228. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.018>
- Chi, C. -F., Wang, B., Hu, F. -Y., Wang, Y. -M., Zhang, B., Deng, S. -G., & Wu, C. -W. (2015b). Purification and identification of three novel antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) skin. *Food Research International*, *73*, 124–129. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.038>
- Chi, C. -F., Wang, B., Wang, Y. -M., Zhang, B., & Deng, S. -G. (2015c). Isolation and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) heads. *Journal of Functional Foods*, *12*, 1–10. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.027>
- Cho, Y. -J., Haq, M., Park, J. -S., Lee, H. -J., & Chun, B. -S. (2019). Physicochemical and biofunctional properties of shrimp (*Penaeus japonicus*) hydrolysates obtained from hot-compressed water treatment. *The Journal of Supercritical Fluids*, *147*, 322–328. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.021>
- Choksawangkarn, W., Phiphattananukoon, S., Jaresitthikunchai, J., & Roytrakul, S. (2018). Antioxidative peptides from fish sauce by-product: Isolation and characterization. *Agriculture and Natural Resources*, *52*(5), 460–466. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.001>

- Dave, D., & Routray, W. (2018). Current scenario of Canadian fishery and corresponding underutilized species and fishery byproducts: A potential source of omega-3 fatty acids. *Journal of Cleaner Production*, *180*, 617–641. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.091>
- Food and Agriculture Organization. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. En Food and Agriculture Organization (Ed.), *La sostenibilidad en acción* (pp. 1–243). Food and Agriculture Organization. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- García-García, G., Woolley, E., & Rahimifard, S. (2017). Optimising Industrial Food Waste Management. *Procedia Manufacturing*, *8*, 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2017.02.055>
- Gildberg, A., Arnesen, J. A., Sæther, B.-S., Rauø, J., & Stenberg, E. (2011). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in a hydrolysate of proteins from Northern shrimp (*Pandalus borealis*) and identification of two novel inhibitory tripeptides. *Process Biochemistry*, *46*(11), 2205–2209. <https://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.08.003>
- Gómez, L. J., Gómez, N. A., Zapata, J. E., López-García, G., Cilla, A., & Alegría, A. (2019). In-vitro antioxidant capacity and cytoprotective/cytotoxic effects upon Caco-2 cells of red tilapia (*Oreochromis* spp.) viscera hydrolysates. *Food Research International*, *120*, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.029>
- Goosen, N. J., de Wet, L. F., & Görgens, J. F. (2014). The effects of protein hydrolysates on the immunity and growth of the abalone *Haliotis midae*. *Aquaculture*, *428–429*, 243–248. <https://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.018>
- Groleau, P. E., Gauthier, S. F., & Pouliot, Y. (2005). Membrane-based fractionation and purification strategies for bioactive peptides. In Y. Mine, & F. Shahidi (Eds.), *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease* (pp. 639–658). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/9781420028836>
- Halim, N. R. A., Azlan, A., Yusof, H. M., & Sarbon, N. M. (2018). Antioxidant and anticancer activities of enzymatic eel (*Monopterus* sp) protein hydrolysate as influenced by different molecular weight. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *16*, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.006>
- Halldorsdottir, S. M., Sveinsdottir, H., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G., & Kristinsson, H. G. (2014). High quality fish protein hydrolysates prepared from by-product material with *Fucus vesiculosus* extract. *Journal of Functional Foods*, *9*, 10–17. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.009>
- Hayes, M., & Gallagher, M. (2019). Processing and recovery of valuable components from pelagic blood-water waste streams: A review and recommendations. *Journal of Cleaner Production*, *215*, 410–422. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.028>
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, *50*(1), 289–297. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
- Hemker, A. K., Nguyen, L. T., Karwe, M., & Salvi, D. (2020). Effects of pressure-assisted enzymatic hydrolysis on functional and bioactive properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product protein hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, *122*, Article 109003. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.109003>
- Herpandi, N. H., Rosma, A., & Wan Nadiah, W. A. (2011). The tuna fishing industry: A new outlook on fish protein hydrolysates. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *10*(4), 195–207. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00155.x>
- Hordur, G. K. (2005). The production, properties, and utilization of fish protein hydrolysates. In A. Pometto, K. Shetty, G. Paliyath, & R. Levin (Eds.), *Food Biotechnology* (2<sup>nd</sup> Ed. pp. 1109–1131). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/9781420027976>

- Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Wu, J. (2014). Effects of skipjack roe protein hydrolysate on properties and oxidative stability of fish emulsion sausage. *LWT - Food Science and Technology*, 58(1), 280–286. <https://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.036>
- Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Wu, J., & Visessanguan, W. (2013). Isolation of antioxidative and ACE inhibitory peptides from protein hydrolysate of skipjack (*Katsuwana pelamis*) roe. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1854–1862. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.006>
- Jemil, I., Jridi, M., Nasri, R., Ktari, N., Ben Slama-Ben Salem, R., Mehiri, M., Hajji, M., & Nasri, M. (2014). Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from fish meat fermented by *Bacillus subtilis* A26. *Process Biochemistry*, 49(6), 963–972. <https://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.03.004>
- Kader, M. A., & Koshio, S. (2012). Effect of composite mixture of seafood by-products and soybean proteins in replacement of fishmeal on the performance of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 368–369, 95–102. <https://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.014>
- Ketnawa, S., Suwal, S., Huang, J. -Y., & Liceaga, A. M. (2019). Selective separation and characterisation of dual ACE and DPP-IV inhibitory peptides from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) protein hydrolysates. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1062–1073. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13939>
- Khantaphant, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2011). Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and commercial proteases. *Process Biochemistry*, 46(1), 318–327. <https://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.09.005>
- Kim, S. S., Ahn, C. -B., Moon, S. W., & Je, J. -Y. (2018). Purification and antioxidant activities of peptides from sea squirt (*Halocynthia roretzi*) protein hydrolysates using pepsin hydrolysis. *Food Bioscience*, 25, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.08.010>
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317–1327. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>
- Ko, J. -Y., Kang, N., Lee, J. -H., Kim, J. -S., Kim, W. -S., Park, S. -J., Kim, Y. -T., & Jeon, Y. -J. (2016). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from an enzymatic hydrolysate of flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) muscle as a potent anti-hypertensive agent. *Process Biochemistry*, 51(4), 535–541. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.01.009>
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 43–81. <https://doi.org/10.1080/10408690091189266>
- Lassoued, I., Mora, L., Nasri, R., Aydi, M., Toldrá, F., Aristoy, M.-C., Barkia, A., & Nasri, M. (2015). Characterization, antioxidative and ACE inhibitory properties of hydrolysates obtained from thornback ray (*Raja clavata*) muscle. *Journal of Proteomics*, 128, 458–468. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2015.05.007>
- Lee, S.-H., Qian, Z.-J., & Kim, S.-K. (2010). A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from tuna frame protein hydrolysate and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 118(1), 96–102. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.086>
- Lin, L., Lv, S., & Li, B. (2012). Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysates. *Food Chemistry*, 131(1), 225–230. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.064>

- Liu, Y., Li, X., Chen, Z., Yu, J., Wang, F., & Wang, J. (2014). Characterization of structural and functional properties of fish protein hydrolysates from surimi processing by-products. *Food Chemistry*, *151*, 459–465. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.089>
- Matharu, A. S., de Melo, E. M., & Houghton, J. A. (2016). Opportunity for high value-added chemicals from food supply chain wastes. *Bioresource Technology*, *215*, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.039>
- Najafian, L., & Babji, A. S. (2015). Isolation, purification and identification of three novel antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) myofibrillar protein hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, *60*(1), 452–461. <https://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.046>
- Nasri, M. (2017). Protein hydrolysates and biopeptides: production, biological activities, and applications in foods and health benefits. A review. En F. Toldrá (Ed.), *Advances in food and nutrition research* (Vol. 81, pp. 109–159). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.003>
- Nasri, R., Younes, I., Jridi, M., Trigui, M., Bougateg, A., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P., Nasri, M., & Karra-Châabouni, M. (2013). ACE inhibitory and antioxidative activities of Goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) fish protein hydrolysates: Effect on meat lipid oxidation. *Food Research International*, *54*(1), 552–561. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.001>
- Ngo, D. -H., Vo, T. -S., Ryu, B., & Kim, S. -K. (2016). Angiotensin- I- converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Pacific cod skin gelatin using ultrafiltration membranes. *Process Biochemistry*, *51*(10), 1622–1628. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.006>
- Olsen, R. L., Toppe, J., & Karunasagar, I. (2014). Challenges and realistic opportunities in the use of by-products from processing of fish and shellfish. *Trends in Food Science and Technology*, *36*(2), 144–151. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.007>
- Ong, K. L., Kaur, G., Pensupa, N., Uisan, K., & Lin, C. S. K. (2018). Trends in food waste valorization for the production of chemicals, materials and fuels: Case study South and Southeast Asia. *Bioresource Technology*, *248*, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.076>
- Penven, A., Pérez Gálvez, R., & Bergé, J. P. (2013). By-products from fish processing. In R. Galvez, & J. P. Berge (Eds.), *Utilization of fish waste* (pp. 1–25). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/b14944>
- Pires, C., & Batista, I. (2013). Functional properties of fish protein hydrolysates. In R. Galvez, & J. P. Berge (Eds.), *Utilization of fish waste* (pp. 59–75). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/b14944>
- Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., & Dimitrov, K. (2018). Integrated extraction-adsorption process for selective recovery of antioxidant phenolics from food industry by-product. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, *127*, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2018.03.016>
- Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, *34*(1), 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.008>
- Sabeena Farvin, K. H., Andersen, L. L., Nielsen, H. H., Jacobsen, C., Jakobsen, G., Johansson, I., & Jessen, F. (2014). Antioxidant activity of Cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysates: *In vitro* assays and evaluation in 5 % fish oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*, *149*, 326–334. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.075>

- Saidi, S., Deratani, A., Ben Amar, R., & Belleville, M. -P. (2013). Fractionation of a tuna dark muscle hydrolysate by a two-step membrane process. *Separation and Purification Technology*, *108*, 28–36. <https://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2013.01.048>
- Sheriff, S. A., Sundaram, B., Ramamoorthy, B., & Ponnusamy, P. (2014). Synthesis and in vitro antioxidant functions of protein hydrolysate from backbones of *Rastrelliger kanagurta* by proteolytic enzymes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *21*(1), 19–26. <https://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.009>
- Šližytė, R., Carvajal, A. K., Mozuraityte, R., Aursand, M., & Storrø, I. (2014). Nutritionally rich marine proteins from fresh herring by-products for human consumption. *Process Biochemistry*, *49*(7), 1205–1215. <https://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.03.012>
- Srichanun, M., Tantikitti, C., Kortner, T. M., Krogdahl, Å., & Chotikachinda, R. (2014). Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture*, *428–429*, 195–202. <https://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.004>
- Sun, L., Wu, S., Zhou, L., Wang, F., Lan, X., Sun, J., Tong, Z., & Liao, D. (2017). Separation and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from *Saurida elongata* proteins hydrolysate by IMAC-Ni<sup>2+</sup>. *Marine Drugs*, *15*(2), Article 29. <https://doi.org/10.3390/md15020029>
- Suresh, P. V., & Prabhu, G. N. (2012). Seafood. In M. Chandrasekaran (Ed.), *Valorization of Food Processing By-Products* (pp. 685–736). CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/b12816>
- Suwal, S., Roblet, C., Doyen, A., Amiot, J., Beaulieu, L., Legault, J., & Bazinet, L. (2014). Electrodialytic separation of peptides from snow crab by-product hydrolysate: Effect of cell configuration on peptide selectivity and local electric field. *Separation and Purification Technology*, *127*, 29–38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2014.02.018>
- Wang, Q., Li, W., He, Y., Ren, D., Kow, F., Song, L., & Yu, X. (2014). Novel antioxidative peptides from the protein hydrolysate of oysters (*Crassostrea talienwhanensis*). *Food Chemistry*, *14*, 991–996. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.099>
- Zapata, J. E., Moya, M., & Figueroa, O. A. (2019). Hidrólisis enzimática de la proteína de vísceras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): Efecto del tipo de enzima, temperatura, pH y velocidad de agitación. *Información Tecnológica*, *30*, 63–72. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000600063>
- Zhong, S., Ma, C., Lin, Y. C., & Luo, Y. (2011). Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. *Food Chemistry*, *126*(4), 1636–1642. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.046>