



Hidrolizados de pescado – producción, beneficios y nuevos avances en la industria. -Una revisión

Fish hydrolysates – production, profits and new developments in the industry. - A review

José Igor Hleap Zapata* y Claudio Alejandro Gutiérrez Castañeda

Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de investigación Manejo y Agroindustrialización de Productos de Origen Biológico. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Colombia. Autor para correspondencia: jihleapz@unal.edu.co

Rec.:21.08.2015 Acep.: 15.12.2015

Resumen

La Agroindustria Pesquera representa una cadena de producción de gran importancia en la economía mundial, sin embargo, grandes cantidades de subproductos se generan anualmente, lo que redundará en pérdidas económicas y en impactos negativos sobre el medio ambiente. No obstante, los residuos pueden ser utilizados de manera eficiente para múltiples propósitos: mejorar las propiedades funcionales de los alimentos, como potentes antioxidantes, proteger la salud de las personas y proporcionar los nutrientes esenciales. La tecnología de la hidrólisis permite el procesamiento integral del pescado con el fin de lograr estos propósitos. Esto ha despertado el interés de los investigadores y las industrias de todo el mundo mediante el estudio de nuevas especies, procesos y tecnologías que conduzcan a materializarse en productos con potencial de mercado. El objetivo de esta revisión es presentar la producción, beneficios y nuevos desarrollos sobre los hidrolizados de pescado desde un aspecto tecnológico, nutricional y funcional.

Palabras clave: Hidrólisis, Industria pesquera, proteína hidrolizada, subproductos de la industria pesquera.

Abstract

The fishing industry represents a chain of production of great importance in the world economy, without however; large quantities of by-products are generated annually, resulting in economic losses and negative impacts on the environment. However, the waste can be used efficiently for multiple purposes: improve the functional properties of foods, such as powerful antioxidants, protect the health of people and provide essential nutrients. Hydrolysis technology allows the integral processing of the fish in order to achieve these purposes. This has aroused the interest of researchers and industries around the world through the study of new species, processes and technologies leading to materialize into products with market potential. The aim of this review is to present production, benefits and new developments on fish hydrolysates from a technological, nutritional and functional appearance.

Key words: Hydrolysis, fisheries industry, hydrolyzed protein, by-products of the fishing industry.

Introducción

La agroindustria de los recursos pesqueros se ha convertido en uno de los eslabones más importantes en la economía de varios países alrededor del mundo. Se estima que la producción mundial de recursos pesqueros es de 157969 millones de toneladas, de las cuales 86.2% (136200 millones de toneladas) son para

consumo humano, considerándose el restante 13.8% (21700 millones de toneladas) para usos no alimentarios (FAO, 2014).

La industria pesquera produce grandes volúmenes de subproductos, que generalmente son descartados o utilizados para ser procesados como harina de pescado (Matak, Tahergorabi & Jaczynski, 2015), frecuentemente de baja calidad,

ya sea por su bajo contenido de proteína y/o alto de cenizas. Sin embargo, estos subproductos contienen proteínas y lípidos, los cuales son una importante fuente de nutrientes; por lo tanto, pueden ser utilizados en el desarrollo de productos alimenticios destinados al consumo humano (Tahergorabi Matak & Jaczynski, 2014). El manejo de subproductos genera actualmente un costo sobre la industria pesquera en términos de eliminación de residuos, con poco beneficio generado (He, Franco & Zhang, 2013), lo cual hace necesario su aprovechamiento para minimizar los impactos económicos y ambientales.

La demanda del uso sostenible de los subproductos generados en la industria pesquera, por ejemplo con los hidrolizados de pescado, ha llevado al desarrollo de procesos para la recuperación y la hidrólisis de las proteínas, la evaluación de sus funcionalidades, los efectos en la salud y la aplicación en diferentes productos (Chalamaiah *et al.*, 2012).

La hidrólisis enzimática aplicada tanto al músculo como a los subproductos del pescado ha sido sugerida para transformar estos materiales en comercializables y generar productos de valor añadido, con propiedades funcionales o biológicas (Chabeaud *et al.*, 2009).

El procesamiento de los residuos de pescado ha dado lugar a productos alimentarios más baratos, con alto valor nutritivo, de buen gusto y estables durante el almacenamiento (Benhabiles *et al.*, 2012). El objetivo de esta revisión es presentar la producción, beneficios y nuevos avances de los hidrolizados de pescado desde un aspecto tecnológico, alimenticio y funcional.

Hidrolizados de pescado

Los hidrolizados de pescado se definen como proteínas de pescado que se descomponen en péptidos de diferentes tamaños (Shan, Franco & Zhang, 2013). Una hidrólisis proteica es un proceso químico o enzimático que busca generar a partir de una proteína, una serie de péptidos de menor tamaño. Un proceso de hidrólisis es más efectivo cuando se logra romper la mayor cantidad de enlaces peptídicos posibles, a esta propiedad se le conoce como grado de hidrólisis (GH) (Benítez, Ibarz & Pagan, 2008).

Las enzimas de tipo proteolítico pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis, generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros beneficios al producto final que bien pueden ser a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos. Las proteasas papaína, bromelina, ficina y cucumisina, aisladas de papaya (*Carica papaya* L.), piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.), higo (*Ficus carica* L.) y melón (*Cucumis melo* L.),

respectivamente, (Feijoo-Siota & Villa, 2011); han sido utilizadas para el ablandamiento de carne y modificaciones de la textura, así como también para la solubilización de las proteínas, lo cual es una ventaja tecnológica ya que se pueden separar la fase acuosa y la oleosa (Ha *et al.*, 2012; Sullivan & Calkins, 2010).

Las proteínas miofibrilares del músculo de pescado se unen mediante interacciones hidrofóbicas débiles denominadas proteína-proteína. Las proteínas poseen además de diversas composiciones y formas de pliegue, características moleculares como peso molecular, hidrofobicidad y grupos polares, que en conjunto afectan directamente las propiedades de un producto (Liu *et al.*, 2014).

La hidrólisis puede ser efectuada ya sea químicamente (mediante ácido o álcali) o biológicamente (utilizando enzimas) (Pasupuleti & Braun, 2010). Sin embargo, los dos primeros tratamientos afectan la calidad nutricional de los péptidos resultantes, siendo la vía enzimática la más ventajosa debido a que en el proceso hay mayor control y selectividad, además, éste es menos drástico y genera un producto de mayor valor nutricional (Cecopesca, 2012). El proceso de hidrólisis enzimática ha surgido recientemente como el proceso de elección debido a sus suaves condiciones de reacción, a la calidad superior del producto y a su funcionalidad, estos procesos enzimáticos se han demostrado a escala de laboratorio y a pequeñas escalas, pero no en pleno funcionamiento a escala industrial, debido probablemente a los altos costos de las enzimas (He *et al.*, 2013). Sin embargo, los métodos biológicos, basados en el uso de enzimas que hidrolizan los enlaces peptídicos (Li, Youravong & H-Kittikun, 2010), denominadas proteasas, proteinasas, peptidasas o enzimas proteolíticas que pueden ser endógenas o exógenas, se consideran un desarrollo prometedor en la producción de hidrolizados proteicos de pescado.

La oxidación lipídica y el sabor un tanto desagradable son el mayor desafío en la comercialización de los hidrolizados de pescado. Investigadores de las universidades de Islandia y de la Florida analizaron la inclusión de un antioxidante natural, obtenido de las algas marrones islandesas (*Fucus vesiculosus*), en hidrolizados fabricados por vía enzimática a partir de material de desecho de bacalao. Los resultados mostraron que dicho antioxidante, denominado Fv-e, contribuyó a mejorar el sabor de los hidrolizados con respecto al amargo y al sabor jabonoso y rancio de los mismos (Halldorsdottir *et al.*, 2014). De la misma forma, un estudio desarrollado en Portugal, en el cual se evaluó la posibilidad de eliminar ácidos grasos de los hidrolizados obtenidos, permitió, por medio de

la solubilización del hidrolizado en ácido cítrico, la reducción de los fosfolípidos y la obtención de productos finales con buenas propiedades funcionales (Pires *et al.*, 2015).

Entre los diferentes parámetros bioquímicos, el grado de hidrólisis es una de las características más importantes, ya que influye directamente en la longitud del péptido y en sus propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales. Por otro lado el grado de hidrólisis está directamente relacionado con la solubilidad y la digestibilidad de los mismos. La recuperación de la proteína y la distribución de la masa molecular de los péptidos solubles son importantes, ya que proporcionan información sobre el posible uso de los hidrolizados (Thiansilakul, Benjakul & Shaidi, 2007).

La funcionalidad de los hidrolizados y su actividad biológica depende de la naturaleza y composición de los péptidos generados durante la hidrólisis (Chabanon *et al.*, 2007), así como también del método de obtención y producción de los mismos (Khora, 2013). Los hidrolizados se distinguen de sus proteínas de origen en términos de tamaño molecular y de sus propiedades nutricionales y biológicas. Aunque algunos estudios han hecho comparaciones entre el peso molecular del hidrolizado y su capacidad antioxidante, las relaciones entre ellos no están claras y la incertidumbre aún se conserva (Bougatef *et al.*, 2009; Klompong *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2012). Un grado de hidrólisis (GH) bajo, es decir, entre el 1% y el 10% mejora las propiedades funcionales de los productos alimenticios como la solubilidad, el poder espumante y el emulsificante; un grado extensivo, es decir mayor al 10%, genera péptidos que tienen elevada solubilidad y presentan mayor absorción gastrointestinal, por lo cual pueden usarse para aplicación en alimentos líquidos y para dietas de personas ancianas, deportistas, enfermos hepáticos y dietas hipocalóricas (Cecopesca, 2012). Según un estudio desarrollado por Belén *et al.* (2007), experimentando con pescado caribe colorado (*Pygocentrus cariba*) la hidrólisis enzimática permitió la formación de nuevos productos con propiedades funcionales superiores a las de la materia prima original sin hidrolizar. Los valores de absorción de agua, solubilidad y capacidad espumante se incrementaron al aumentar el GH, mientras que la capacidad emulsificante resultó favorecida con GH > 10,5% (Belén *et al.*, 2007). Tanto la solubilidad como las propiedades emulsificantes y espumantes han servido como parámetro de análisis para la caracterización funcional de los hidrolizados. Un estudio desarrollado en México, en el cual se evaluaron hidrolizados obtenidos a partir de músculo de merluza del pacífico

(*Merluccius productus*) utilizando la proteasa comercial Alcalasa® a diferentes valores de pH, mostró que las propiedades emulsificantes no se vieron afectadas al igual que la capacidad de formación de espuma; sin embargo, la estabilidad de esta última si se ve afectada a valores de pH cercanos a 4.0. Los resultados sugieren que los hidrolizados de músculo de este pescado se pueden producir con propiedades funcionales similares o mejores que los ingredientes alimentarios tradicionalmente utilizados como el caseinato de sodio (Pacheco-Aguilar, Mazorra-Manzano & Ramírez-Suárez, 2008).

Producción de hidrolizados de pescado por vía enzimática

El proceso de producción de hidrolizado de pescado consta de tres etapas principales: un pre-tratamiento el cual consiste en formar una mezcla homogenizada agua-músculo (o subproducto) con bajo contenido de grasa para evitar la rancidez (Khantaphant, Benjakul & Ghomi, 2011); una segunda etapa, la hidrólisis, en la cual se mezclan la pasta y la enzima en una relación conocida a un tiempo, pH y temperatura determinados; la enzima es luego inactivada por calor, generalmente a 90°C durante 30 minutos. Finalmente, se centrifuga separando la fase grasa de la proteica y ésta última se seca obteniendo así el hidrolizado (He *et al.*, 2013).

En general, los rendimientos en la producción de hidrolizados proteicos son bajos, ya que para la etapa de deshidratación solo se emplea la fracción soluble, que es la que contiene a los productos de interés de la reacción (Khantaphant *et al.*, 2011).

Las aplicaciones y usos de un hidrolizado de proteína, con una determinada composición final de péptidos dependerán de la materia prima de donde proviene la proteína, la enzima o enzimas utilizadas, los parámetros de la reacción de hidrólisis y el grado alcanzado de esta.

La hidrólisis proteolítica no se desarrolla en una sola reacción. Se trata de una serie de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio, lo que da una gran complejidad a este tipo de procesos. Se propone un proceso de hidrólisis constituido por tres reacciones consecutivas. Primero, la formación de un complejo enzima-sustrato (proteína), y después la rotura del enlace amídico dando como resultado la liberación de un péptido. Finalmente, el péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua. El proceso puede reiniciarse sobre los dos nuevos péptidos o sobre uno solo de ellos (Benítez *et al.*, 2008).

La utilización de enzimas para la fabricación de hidrolizados de subproductos de pescado ha sido objeto de investigación desde hace muchos años. La presencia de proteína en estos recursos es bastante alta y susceptible de ser aprovechada para beneficio del ser humano. Investigadores de la Syiah Kuala University de Indonesia evaluaron la utilización de dos enzimas Alcalasa® y Flavourzyme® aplicadas a subproductos pesqueros, y encontraron que la solubilidad y las propiedades emulsionantes y espumantes, así como el nivel de proteína en los productos finales fueron altos con valores cercanos a los valores de la proteína muscular, presentando mayor rendimiento y mejores propiedades funcionales los hidrolizados obtenidos con Alcalasa®. Como conclusión, aportan que estos hidrolizados pueden servir potencialmente como fuente de proteína (Muzaifa, Safriani & Zakaria, 2012). Otro estudio, en el cual se trabajó con subproductos del procesamiento industrial del atún, elaborando hidrolizados por vía enzimática, utilizando como enzima activa la proteasa Protamex®, mostró que a partir de la cabeza, vísceras y cola de este pescado se pueden obtener hidrolizados de excelente calidad y que dicha proteólisis puede ser útil para la producción de dos diferentes fracciones: una rica en péptidos de media a pequeña masa molecular y pobre en lípidos y la otra con proteínas insolubles y la mayoría de los lípidos (Nguyen *et al.*, 2011).

Actividad antioxidante y antimicrobiana

Uno de los principales problemas presentados durante el proceso de hidrólisis enzimática es la oxidación de los lípidos presentes en el músculo del pescado, esta reacción se ve catalizada por pro-oxidantes como el hierro, la enzima lipooxigenasa y las hemoproteínas (Yarnpakdee *et al.*, 2012), siendo estas últimas las principales causantes de las reacciones de lipoxidación en los fosfolípidos presentes en la membrana celular (Liang & Hultin, 2005).

La frescura del pescado destinado a procesos de hidrólisis enzimática es fundamental para retardar el hedor a pescado causado por la producción de peróxidos y de ácido tiobarbitúrico (Yarnpakdee *et al.*, 2012), de igual forma, la separación de la membrana de las células del músculo de pescado seguida de un lavado es eficaz para producir hidrolizados antioxidantes con la menor cantidad de prooxidantes y de membrana fosfolípida libre (Khantaphant *et al.*, 2011).

Uno de los factores recientemente descubiertos sobre las propiedades intrínsecas que hacen a los hidrolizados de pescado un producto con propiedades antioxidantes, es el peso molecular de las fracciones peptídicas. Pesos moleculares

menores a 3 KDa han sido efectivos para obtener una buena actividad celular antioxidante (Malaypally *et al.*, 2014). De igual forma, el uso de enzimas específicas mejora el potencial antioxidante de los hidrolizados proteicos de pescado. El uso de Alcalasa®, por ejemplo, mejora esta propiedad al actuar como captadora de radicales libres (Intarasirisawat, Benjakul, Visessanguan & Wu, 2012), además hace que el hidrolizado obtenido presente alta solubilidad y buenas propiedades interraciales. Además, los resultados de muchos estudios han demostrado que la Alcalasa® ha producido hidrolizados de proteínas (FPCP), generalmente de la misma especie de peces, con la misma actividad antioxidante (Zhong-Ji, Won-Kyo & Se-Kwon, 2008; Sarmadi & Ismail, 2010).

El tipo de proteasa utilizada para hidrólisis enzimática es una variable determinante para generar péptidos con actividad antioxidante eficaz. La extracción de peptidasas gastrointestinales ha resultado una opción efectiva para esto, ya que por un lado evita la peroxidación incluso a valores muy bajos y por otro promueve la acción quelante (Nasri *et al.*, 2013). Un estudio desarrollado en la Zhejiang Ocean University de China mostró que algunos péptidos obtenidos a partir de hidrolizados de anchoa media aleta (*Setipinna taty*) pueden ser utilizados como potenciales antioxidantes en alimentos funcionales y nutracéuticos (Song *et al.*, 2015). Otro estudio referente a la actividad antioxidante realizado por fracciones separadas mediante Sephadex G-15 por filtración en gel, así como de hidrolizados obtenidos a partir de gelatina de piel de tiburón azul (*Prionace glauca*), mostró que la fracción III compuesta básicamente por cuatro péptidos y cuatro aminoácidos incluyendo Glu-Gly-Pro, Gly-Pro-Arg, Gly-Tir, Gly-Phe, Leu, Arg, Tyr y Phe posee excelente actividad antioxidante, aportada principalmente por el dipéptido Gly-Tyr y por el aminoácido Tyr (Weng *et al.*, 2014). Igualmente, se ha trabajado con hidrolizados fabricados a partir de los huevos de las hembras de pescado cabeza de serpiente (*Channa striata*) (CRPH) y pescado rohu (*Labeo rohita*) (LRPH), analizando las propiedades funcionales y antioxidantes *in vitro*. La solubilidad de la proteína en *Channa striata* fue casi el doble comparada con *Labeo rohita*, así como también se observó una mayor capacidad de absorción de aceite y estabilidad de la espuma en CRPH y mayor capacidad emulsionante en LRPH. La actividad antioxidante *in vitro* fue mayor en CRPH que en LRPH, lo cual permite concluir que podrían ser útiles como péptidos bioactivos para aplicación en bebidas, panadería y alimentos tradicionales (Galla *et al.*, 2012). Finalmente, un estudio reportado por investigadores de Tailandia mostró que los hidrolizados de proteínas obtenidos a partir de

los subproductos de la fabricación de surimi de *Nemipterus virgatus* tienen un potencial importante como ingredientes antioxidativos nutraceuticos (Wiryaphan, Chitsomboon & Yongsawadigul, 2012).

La encapsulación ha sido una de las alternativas para conservar y aumentar la efectividad de los péptidos bioactivos presentes en los hidrolizados de pescado. Este proceso ha presentado resultados satisfactorios debido a que las cápsulas mantienen la actividad antioxidante en el tiempo, lo que ha resultado en un uso potencial para la producción de compuestos bioactivos de bajo valor comercial al acercarse en su poder antioxidante al del α -tocoferol (Zavarese *et al.*, 2014).

Se han analizado las propiedades antibacteriales de los hidrolizados de pescado. Una investigación realizada recientemente mostró que en hidrolizados elaborados a partir de sardinilla (*Sardinella aurita*), horozbina (*Salaria basilisca*), goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) y raya látigo común (*Dasyatis pastinaca*) se obtuvieron propiedades antioxidantes importantes dependientes de la dosis utilizada para tal fin. Igualmente, los hidrolizados elaborados exhibieron actividad antimicrobiana y los elaborados a partir de sardinilla fueron los más eficaces, particularmente contra bacterias Gram positivas (Jemil *et al.*, 2014). Igualmente, se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los complejos péptido-zinc (PZCs) preparados a partir de hidrolizados de carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) tratados con cuatro enzimas. Los sometidos a la acción del Flavourzyme® exhibieron las mejores condiciones de actividad microbiana. Las conclusiones de este estudio confirmaron la efectividad frente a los microbios de este tipo de hidrolizados y sugirieron la posibilidad de utilizarlos como proveedores de zinc natural para agentes antimicrobianos en las industrias de alimentos (Jiang *et al.*, 2014).

Efectos de los hidrolizados de pescado sobre la salud

La nutraceutica es una de las actividades benéficas de los hidrolizados de pescado que más ha despertado el interés de los investigadores en los últimos años. Se han comprobado efectos antiinflamatorios en hidrolizados de muchas fuentes y partes del pescado, por ejemplo, de la aleta pectoral del salmón, se ha encontrado un tripéptido que estimula la acción inhibitoria del óxido nítrico y la prostaglandina, estimulando la regulación de la respuesta inflamatoria alérgica (Chang-Bum, Young-Sook & Jae-Young, 2014). Este efecto es común en los hidrolizados con potencial antiinflamatorio: la prostaglandina es una sustancia que ejerce potentes efectos

sobre la musculatura lisa y disminuye la presión sanguínea; el óxido nítrico regula varios procesos fisiológicos, como la neurotransmisión, la contractilidad del músculo liso, la reactividad plaquetaria y las actividad citotóxica de las células inmunes; sin embargo, elevados niveles de óxido nítrico se relacionan con patologías como artritis reumatoidea, inflamatoria crónica intestinal, shock séptico, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, isquemia cerebral e infarto del miocardio (Gómez, González & Medina, 2011). Un estudio reciente analizó la actividad antioxidante potencial exhibida por los hidrolizados obtenidos a partir de cinco especies de peces del mar Mediterráneo: sardina (*Sardinops pilchardus*), jurel (*Trachurus mediterraneus*), dorada axilar (*Pagellus acarne*), boga (*Boops boops*) y pintarroja (*Scyliorhinus canicula*), encontrando que es factible obtener productos de valor añadido tales como antioxidantes naturales, los cuales pueden ser utilizados en los campos nutraceutico y farmacéutico (García-Moreno *et al.*, 2014). Igualmente, otro estudio desarrollado en Tailandia, mostró resultados muy importantes en la aplicación de hidrolizados de gelatina, obtenida de la piel de pescado por vía enzimática a partir de pez gato gigante (*Pangasianodon gigas*), como fuente potencial de ingredientes de alimentos funcionales para la promoción de la salud (Ketnawa *et al.*, 2016).

Por otro lado, los potenciales efectos sobre la salud de los hidrolizados de pescado en los humanos se están investigando. Algunos experimentos en ratas han mostrado que las dietas que contienen el hidrolizado del pez carbonero (*Pollachius virens*) – ricas en taurina y glicina – elevan notablemente los niveles de ácidos biliares en plasma en ayunas con respecto a ratas alimentadas con proteína de soya o caseína. Además, reducen los lípidos del hígado y los niveles de triacilglicerol en el plasma sanguíneo, impactando considerablemente en la reducción de la masa del tejido adiposo visceral (Liaset *et al.*, 2009). Igualmente, se ha encontrado que la combinación de aceite de pescado y proteína hidrolizada de la misma fuente reduce drásticamente el nivel de colesterol plasmático debido a la disminución de colesterol realizada sobre las lipoproteínas de alta densidad, por el contrario, el total de colesterol hepático se eleva en comparación con ratas control y ratas alimentadas con dietas que contienen hidrolizados de pescado solo (Wergedahl *et al.*, 2009).

Con relación a la diabetes y a las complicaciones renales que dicha enfermedad presenta en la mayoría de los casos, se han estudiado los efectos de los hidrolizados de pescado sobre la disminución en el contenido de creatinina,

ácido úrico y urea en ratas inducidas a diabetes utilizando Alloxan (2, 4, 5,6-pyrimidinetetrone) como agente inductor. Los resultados mostraron que utilizando hidrolizados de proteína fabricados a partir de *Salaria Basilisca* obtenidos por vía enzimática, la actividad antioxidativa y el efecto antihipertensivo de dichos hidrolizados pueden retrasar la aparición de complicaciones diabéticas y pueden ser considerados como ingredientes alimentarios funcionales en productos nutraceuticos o productos farmacéuticos (Ktari *et al.*, 2014).

Tradicionalmente, las drogas sintéticas tales como Captopril® y Enalapril® se han utilizado como inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) a pesar de sus efectos secundarios, pero el hallazgo de nuevas fuentes para la generación de péptidos bioactivos naturales tales como los encontrados en los hidrolizados de gelatina de la raya de clavos (*Raja clavata*) es muy importante en el conocimiento de péptidos antihipertensivos eficaces y menos agresivos (Lassoued *et al.*, 2015).

Con relación al metabolismo lipídico hepático, un grupo de investigadores de la Universidad de Bergen en Noruega investigó la acción de las fracciones peptídicas de los subproductos del salmón (*Salmo salar*) obtenidas mediante diferentes métodos de hidrólisis enzimática sobre dicho metabolismo. El trabajo desarrollado mostró que estos péptidos bioactivos pueden ser aislados de los hidrolizados del salmón y contribuyen al control del metabolismo lipídico del hígado (Vik *et al.*, 2015).

La ciencia de los productos pesqueros igualmente se ha interesado en los avances científicos frente a epidemias de connotación mundial tales como el cáncer. Los hidrolizados de diferentes especies de pescado como platija, bacalao y salmón han resultado eficaces como inhibidores de crecimiento significativo en dos líneas celulares de cáncer (Picot *et al.*, 2006). Dichos hidrolizados se componen de una mezcla compleja de aminoácidos libres, péptidos con diferentes tamaños que van hasta 7 KDa y en una menor proporción lípidos y cloruro de sodio. El fraccionamiento de estos productos es una tecnología que se aplica actualmente para purificar péptidos bioactivos contra el cáncer, siendo útil para el desarrollo de productos con propiedades anti-proliferativas. Por ejemplo, se ha demostrado el efecto protector en el intestino por parte del hidrolizado de merluza del pacífico, así como la reducción de la apoptosis (Marchbank, Elia & Playford, 2009).

A partir de péptidos obtenidos de hidrolizados de anchoa media aleta (*Setipinna taty*) aislados mediante cromatografía usando Bio-Gel® P-4 y

Sephadex® G 25, se estudió la actividad anti-proliferativa sobre las células cancerígenas de próstata humana PC-3, concluyendo que dichos péptidos, denominados YALPAH, YALRAH, YALPAR y YALPAG pueden servir como sustancia activa contra la proliferación de dichas células malignas (Song *et al.*, 2014).

Algunos hidrolizados de pescado se han utilizado como agentes anticoagulantes. El trabajo desarrollado por Nasri *et al.* (2014), mostró resultados importantes en hidrolizados obtenidos a partir del músculo de gobio (*Zosterisessor ophiocephalus*) por tratamiento con diversas proteasas bacterianas. El hidrolizado generado por la proteasa de *Bacillus licheniformis* mostró la más alta actividad anticoagulante medida a través del tiempo de trombina (TT) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) a una concentración de 5 mg.ml⁻¹.

En el área de comportamiento animal y humano, se observa un estudio en el cual se concluyó que la inclusión de un hidrolizado de pescado, obtenido de una especie de pez blanco (tipo Gadidae) capturado en el Atlántico Norte, como suplemento dietético proporciona apoyo inicial para reducir el medio y la ansiedad (Landsberg *et al.*, 2015).

Los hidrolizados de pescado en la tecnología de los alimentos

Los hidrolizados de pescado han venido siendo una fuente con importante potencial para el mejoramiento de los productos y los procesos a nivel tecnológico. El hidrolizado de proteínas de hueva de atún ha sido utilizado para mejorar las propiedades emulsionantes de las salchichas de bagre, su adición por ejemplo, mejora las propiedades físico-mecánicas del producto, aumentando su firmeza, su cohesión y su resistencia, además genera glóbulos de grasa más finos, haciendo la emulsión más estable y sin ningún efecto sobre las propiedades organolépticas, ya que podría prevenir el desarrollo de rancidez debido a que también posee propiedades antioxidantes (Intarasirisawat *et al.*, 2014).

La adición de hidrolizado de proteína de pescado en geles de actomiosina de bacalao ha demostrado proteger eficazmente la actomiosina durante los tratamientos de congelación-descongelación, así como también ha aumentado la termoestabilidad de las proteínas reflejándose en el aumento de la temperatura de desnaturalización, todo esto minimizando los cambios estructurales y mejorando las propiedades texturales del producto (Korzeniowska, Cheung & Li-Chan, 2013).

Los hidrolizados de los subproductos resultantes del procesamiento del surimi se han estudiado desde sus propiedades estructurales y funcionales. El grado de hidrólisis repercute significativamente sobre éstas, por ejemplo, la hidrofobicidad de la superficie de los hidrolizados se ve afectada por este valor, igualmente el uso de enzimas sinérgicas como Alcalasa® y Protamex® aumentan la solubilidad del producto a más de un 65% en rangos de pH que van desde 2 hasta 10, igualmente los hidrolizados de cadenas más largas presentan mejores propiedades interfaciales, pero a medida que aumenta la hidrólisis se afectan las propiedades térmicas del producto (Liu *et al.*, 2014). Cabe destacar que el hidrolizado debe tener buenas propiedades funcionales para poder ser utilizado de una forma exitosa en alimentos. Se ha detectado que en la funcionalidad de las proteínas hidrolizadas influyen el tamaño y las propiedades químicas de las mismas. De esta forma para producir un hidrolizado con mejores propiedades es necesario ejercer control sobre la especificidad de la enzima utilizada y el grado de hidrólisis de la reacción. Tres niveles de grado de hidrólisis sobre las propiedades físico-químicas de hidrolizados, obtenidos a partir de cobia (*Rachycentron canadum*), fueron estudiados por investigadores de Malasia utilizando Alcalasa® como enzima activa. Los resultados mostraron diferencias en el contenido de grasas y cenizas y el producto con mayor grado de hidrólisis (96%) aportó un perfil de aminoácidos esenciales conveniente para los requerimientos nutricionales humanos a excepción de la metionina y la isoleucina. Los tres tipos de hidrolizados gozaron de muy buen color, capacidad emulsionante y excelentes propiedades espumantes, así como también mostraron mejorías en la capacidad de retención de agua y aceite y en la solubilidad del hidrolizado (Amiza, Kong & Faazaz, 2012).

Los péptidos proteicos de pescado tienen además de sus propiedades nutricionales, propiedades biológicas. Se han aislado y caracterizados péptidos de hidrolizados de pez barbo con potencial antimicrobiano contra bacterias Gram-positivas (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* y *Bacillus cereus*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter sp.*), esto resulta de gran importancia para la tecnología de alimentos, ya que los péptidos podrían resultar útiles como conservantes en el almacenamiento y distribución de productos cárnicos, reduciendo así el uso de conservantes de síntesis química (Sila *et al.*, 2014).

En un trabajo recientemente reportado, se presenta la utilización del hidrolizado de proteína obtenido a partir de la piel del esturión de Amur como elemento antioxidante y crioprotector en picadillo de pescado sin lavar, lo cual puede significar una nueva alternativa para la conservación del pescado fresco o con niveles mínimos de transformación (Nikoo, Benjakul & Xu, 2015).

Los hidrolizados de pescado en la alimentación

Los productos elaborados a base de pescado representan una de las fuentes alimentarias proteicas más completas. En la alimentación de animales de abasto, por ejemplo, las harinas de pescado han sido ampliamente utilizadas debido a su elevado contenido proteico (por encima del 65%) y a su completa composición de aminoácidos esenciales, siendo inferior solo a la proteína de la leche y los huevos, y muy superior a la de cualquier otro producto vegetal fuente de proteínas (Graü, Marval & Zerpa, 2007).

Los hidrolizados de proteínas a partir de los subproductos animales, incluyendo sustancias antimicrobianas y antioxidantes, como los opioides y/u otras moléculas bioactivas, tienen interesantes aplicaciones prometedoras sobre los animales de compañía y de producción. Los subproductos de las industrias de transformación de los animales, por lo tanto, son una fuente prometedora de péptidos bioactivos de gran interés para el cuidado y la alimentación de los animales, siempre dentro del marco de la legislación vigente (Martínez-Álvarez, Chamorro & Brenes, 2015).

Las fuentes proteicas son la base primordial para evitar la desnutrición causada por la pérdida de masa muscular, en respuesta a esto, se han desarrollado una serie de productos que equivalen principalmente a asilados, dejando a los productos hidrolizados a base de pescado en un segundo plano. Un ejemplo de estos es Amizate®, una preparación que ha resultado efectiva para evitar la pérdida de peso y los cambios en la altura e índice de masa corporal de niños en estado de desnutrición, sin afectar cambios bioquímicos en sus metabolismos (Nesse *et al.*, 2014).

Los hidrolizados de pescado han tenido un mejor efecto en las dietas suministradas a cerdos, comparadas con alimentos tradicionales a base de soya y de harina de pescado, mostrando que no existen diferencias sobre la ganancia de peso entre las dietas, pero aumentando el consumo entre un 12% y 14% por porción (Norgaard, Blaabjerg & Poulsen, 2012), por lo tanto podrían ser efectivas para aumentar el apetito de los cerdos y por ende aumentar su masa muscular y rendimiento en la canal.

En un estudio realizado por Martínez-Montaña *et al.* (2010), se concluyó que la harina de soya hidrolizada era absorbida a una menor velocidad que sus pares hidrolizados de la harina de sardina. Ambas fuentes proteicas tienen una alta concentración de aminoácidos esenciales, sin embargo se ha demostrado que aún cuando la concentración de aminoácidos como Asp, Leu y Tyr sea la misma tanto en hidrolizados de músculo de sardina, como en hidrolizados de soya, éste último siempre es absorbido en menor cantidad (Martínez-Montaña *et al.*, 2010).

Datos referentes a alimentación de peces reportaron investigadores en Korea del Sur al alimentar pargo japonés (*Pagrus major*) y halibut japonés (*Paralichthys olivaceus*) con hidrolizados de Krill y de atún. Al finalizar los estudios en los cuales midieron el crecimiento, la utilización del alimento, la digestibilidad de los nutrientes, la inmunidad innata y la resistencia a enfermedades, encontraron que el pargo japonés alimentado con la dieta a base de hidrolizado de atún mostró mayor resistencia a las enfermedades provocadas por *Edwardsiella tarda*, que la suplementación de 2% de hidrolizado de krill puede mejorar el crecimiento y la eficiencia alimenticia y que la respuesta inmune innata puede ser afectada positivamente tanto por el hidrolizado de krill, como por el de atún (Khosravi *et al.*, 2015).

En crustáceos y moluscos, se ha evaluado el efecto de la suplementación con hidrolizados de la cabeza de atún en la alimentación del camarón blanco del Pacífico. Cuando se sustituye el 50% de harina de cabeza de atún por su versión hidrolizada, se logra obtener un efecto positivo sobre la supervivencia y el crecimiento de los camarones, en comparación con la alimentación tradicional con harina de pescado (Nguyen, Pérez-Gálvez & Berge, 2012). Dietas con el 10% de proteína hidrolizada de pescado han resultado eficientes en el crecimiento, la supervivencia y el desarrollo intestinal de larvas de lubina, encontrándose que las diferentes fracciones de peso molecular y las concentraciones de los péptidos en la dieta pueden afectar el crecimiento, el rendimiento y el estado inmunológico de éstas (Kotzamanis *et al.*, 2007). En otro estudio reportado por Hernández *et al.* (2013), compararon la inclusión de harina de desechos de atún (TBM) y estabilizados a partir de subproductos hidrolizados del mismo pescado (TSH) como sustitutos de harina de soya en dietas para alevines de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*. Los análisis permitieron concluir que con la dieta preparada con TBM se presentó mayor ganancia de peso, mayor consumo de alimento y factor de conversión más eficiente que con la preparada con TSH25 y TSH50 (reemplazo de 25 y 50% de harina de soya, respectivamente).

Una de las actividades más interesantes de los hidrolizados de pescado que ha sido demostrada en la alimentación es la propiedad saciante. El hidrolizado del músculo de bacaladilla, por ejemplo, reduce la ingesta de alimentos. Esto se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* utilizando ratones, y es debido a la presencia de colecistoquinina y glucagón en el plasma sanguíneo de los biomodelos utilizados, ya que éstos son péptidos que regulan la motilidad intestinal (Cudennec *et al.*, 2012). Este mismo estudio muestra que la administración constante de este hidrolizado conduce significativamente a una disminución en la ganancia de peso corporal.

Nuevas tecnologías en la producción de hidrolizados

Uno de los retos de las nuevas tecnologías está encaminado a la optimización del proceso de hidrólisis mediante la búsqueda de nuevas enzimas que resulten más económicas que las que se consiguen comercialmente; las enzimas de los estómagos de animales siguen siendo estudiadas debido a su excelente capacidad hidrolítica (Benhabiles *et al.*, 2012). Otro método estudiado en la optimización de procesos es la concentración de los hidrolizados mediante el uso de nuevas tecnologías como las membranas, un proceso altamente prometedor para la separación de péptidos.

El efecto de las enzimas (endógenas y exógenas), se ha estudiado, junto con la aplicación de pre-tratamientos térmicos sobre los rendimientos y composición de péptidos y aminoácidos de los hidrolizados. Uno de estos trabajos encontró que en aquellos obtenidos a partir de subproductos del salmón (*Salmo salar*) no se presentaron diferencias significativas al utilizar diferentes enzimas (papaina + bromelina) y las propias de los subproductos utilizados. Sin embargo, el calentamiento a temperaturas superiores a 70°C influye negativamente en la obtención de los péptidos, lo cual no se presenta a temperaturas de calentamiento de 40°C, igualmente concluyeron que las diferencias entre las condiciones de obtención de los hidrolizados a nivel de laboratorio comparado con el nivel industrial pueden deberse a una menor eficiencia en la hidrólisis, en los procesos de separación y en las condiciones de almacenamiento (Opheim *et al.*, 2015).

La tecnología de membranas es una tecnología eficaz para la concentración, extracción y fraccionamiento de moléculas, siendo ambientalmente amable y manejando costos efectivos en el proceso; en ésta se usan membranas de ultrafiltración como una herramienta práctica para la separación de proteínas o membranas de nanofiltración para la

concentración de aminoácidos y péptidos (Saidi *et al.*, 2013). Las membranas de ultrafiltración se pueden utilizar ventajosamente para mejorar la bioactividad de una proteína hidrolizada que contiene péptidos con tamaños inferiores a 7KDa, bien sea por fraccionamiento o concentración de algunas clases de péptidos de peso molecular específicos (Chabeaud *et al.*, 2009).

En los últimos años se ha notado un florecimiento de la literatura sobre los péptidos derivados de alimentos y los hidrolizados de proteínas con diversas actividades biológicas, pero hasta la fecha, los estudios empíricos y la bioinformática han proporcionado principalmente, en datos *in vitro* y en evidencias clínicas limitadas, justificaciones para el desarrollo de estos péptidos bioactivos e hidrolizados como nutraceuticos y alimentos funcionales para la promoción de la salud. Varios obstáculos se deben superar en el camino hacia la comercialización de estos productos. Junto con la necesidad de implementar estrategias eficientes y rentables para la producción a escala industrial, la transferencia exitosa de la tecnología al mercado requiere la estandarización de métodos analíticos para el aseguramiento de la calidad del producto, la evaluación de las propiedades sensoriales para la aceptación del consumidor, y lo más importante, ensayos clínicos para proporcionar pruebas sólidas para apoyar las exigencias de la salud (Li-Chan, 2015).

Referencias

- Amiza, M.A., Kong, Y.L., & Faazaz, A.L. (2012). Effects of degree of hydrolysis on physicochemical properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) frame hydrolysate. *Int Food Res J*, 19 (1), 199 – 206.
- Belén, D. R., Moreno, M. J., García, D., Medina, C., & Sidorovas, A. (2007). Caracterización de un hidrolizado proteico enzimático obtenido del pez caribe colorado (*Pygocentrus cariba* HUMBOLT, 1821). *Interciencia*, 32 (3), 188 – 194.
- Benhabiles, M.S., Abdi, N., Drouiche, N., Lounici, H., Pauss, A., Goosen, M.F.A., & Mameri, N. (2012). Fish protein hydrolysates production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Mater Sci Eng*, 32 (4), 922 – 928. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2012.02.013>
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteina: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 42 (2), 227 – 236.
- Bougatef, A., Hajji, M., Baltri, H., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antiooxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem*, 114 (4), 1198 – 1205. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075>
- Cecopesca. (Centro Técnico Nacional de Conservación de Productos de la Pesca). (2012). El aprovechamiento de los subproductos de pescado para la obtención de productos funcionales y bioactivos. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. http://www.magrama.gob.es/es/pesca/temas/calidad-seguridad_alimentaria/06-Guia_Subproductos_tcm7-248616_tcm7-320453.pdf
- Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S., & Marc, I. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. *Process Biochem*, 42 (10), 1419–1428. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.07.009>
- Chabeaud, A., Vandanjon, L., Bourseau, P., Jaouen, P., & Guérard, F. (2009). Fractionation by ultrafiltration of a saithe protein hydrolysate (*Pollachius virens*): Effect of material and molecular weight cut-off on the membrane performances. *J. Food Eng*, 91 (3), 408 – 414. <http://doi.org/10.1016/j.foodeng.2008.09.018>
- 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 Chem*, 135 (4), 3020 – 3038. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>
- Chang-Bum, A., Young-Sook, C., & Jae-Young, J. (2014). Purification and anti-inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin byproduct protein hydrolysate. *Food Chem*, 168, 151 – 156. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.112>
- Cudennec, B., Fouchereau, M., Ferry, F., Duclos, E., & Ravallec, R. (2012). In vitro and in vivo evidence for a satiating effect of fish protein hydrolysate obtained from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle. *J Fun Foods*, 4 (1), 271 – 277. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2011.12.003>
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). (2014). The state of world fisheries and aquaculture. Opportunities and challenges. Rome.: Food and Agricultural Organization. <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>
- Feijoo-Siota, L., & Villa, T.G. (2011). Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. *Food Bioprocess Technol*, 4 (6), 1066 – 1088. <http://doi.org/10.1007/s11947-010-0431-4>
- Galla, N.R., Pamidighantam, P.R., Akula, S., & Karakala, B. (2012). Functional properties and in vitro antioxidant activity of roe protein hydrolysates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. *Food Chem*, 135 (3), 1479 – 1484. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.098>
- García-Moreno, P.J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N.M., Espejo-Carpio, F.J., Gaudix, A., & Guadix, E.M. (2014). Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. *Food Res Int*, 65, 469 – 476. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.061>
- Gómez, H.A., González, K.N., & Medina, J.D. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10 (3), 182 – 217.
- Graü, C., Marval, H., & Zerpa, A. (2007). Utilización de la harina de pescado en la formulación de alimentos para crecimiento y engorde animal. *INIA Divulga*, 10, 93 – 95.

- Ha, M., Bekhit, A., Carne, A., & Hopkins, D. (2012). Characterization of commercial papain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. *Food Chem*, 134 (1), 95 – 105. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.071>
- Haldorsdottir, S., Sveinsdottir, H., Gudmundsdottir, A., Torkkelsson, G., & Kristinsson, H. (2014). High quality fish protein hydrolysates prepared from by-product material with *Fucus vesiculosus* extract. *J Fun Foods*, 9, 10 – 17. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.009>
- He, S., Franco, S., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Res Int*, 50 (1), 289 – 297. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
- Hernández, C., Olvera-Novoa, M., Voltolina, D., Hardy, R., González-Rodríguez, B., Domínguez-Jiménez, P., & Agramon-Romero, S. (2013). Use of tuna industry waste in diets for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings: effect on digestibility and growth performance. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41 (3), 468 – 478. <http://doi.org/10.103856/vol41-issue3-fulltext-10>
- Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Wu, J. (2012). Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (*Katsuwonus pelamis*) roe. *Food Chem*, 135 (4), 3039 – 3048. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.076>
- 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 Sci Technol*, 58 (1), 280 – 286. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.036>
- Jemil, I., Jridi, M., Nasri, R., Ktari, N., Bem-Salem, R., Mehiri, M., ... Nasri, M. (2014). Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from fish meat fermented by *Bacillus subtilis* A26. *Process Biochem*, 49 (6), 963 – 972. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.03.004>
- Jiang, L., Wang, B., Li, B., Wang, Ch., & Luo, Y. (2014). Preparation and identification of peptides and their zinc complexes with antimicrobial activities from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) protein hydrolysates. *Food Res Int*, 64, 91 – 98. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.008>
- Ketnawa, S., Martínez-Álvarez, O., Benjakul, S., & Rawdkuen, S. (2016). Gelatin hydrolysates from farmed Giant catfish skin using alkaline proteases and its antioxidative function of simulated gastrointestinal digestion. *Food Chem*, 192, 34 – 42. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.087>
- Khantaphant, S., Benjakul, S., & Ghomi, M. (2011). The effects of pretreatments on antioxidative activities of protein hydrolysate from the muscle of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *LWT – Food Sci Technol*, 44 (4), 1139 – 1148. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.009>
- Khora, S. S. (2013). Marine fish derived bioactive peptides and proteins for human therapeutics. *Int J Pharmacy Pharm Sci*, 5 (3), 31 – 37. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00016-0>
- Khosravi, S., Dieu, B. H.T., Rahimnejad, S, Herault, M., Fournier, V., Kim S... Lee, K. (2015). Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 435, 371 – 376. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.019>
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chem*, 102 (4), 1317 – 1327. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>
- Korzeniowska, M., Cheung, I., & Li, E. (2013). Effects of fish protein hydrolysate and freeze-thaw treatment on physicochemical and gel properties of natural actomyosin from Pacific cod. *Food Chem*, 138 (2-3), 1967 – 1975. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.150>
- Kotzamanis, Y. P., Gisbert, E., Gatesoupe, F. J., Infante, J. Z., & Cahu, C. (2007). Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 147 (1), 205 – 214. <http://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.12.037>
- Ktari, N., Nasri, R., Mnafigui, K., Hamden, K., Belguith, O., Boudaouara, T., ... Nasri, M. (2014). Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria bacillisca*) in alloxan-induced diabetic rats. *Process Biochem*, 49 (5), 890 – 897. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.01.032>
- Landsberg, G.M., Mougeot, I., Kelly, S., & Milgram, N.W. (2015). Assessment of noise induced fear and anxiety in dogs: modification by a novel fish hydrolysate supplemented diet. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 10 (5), 391 – 398. <http://doi.org/10.1016/j.jveb.2015.05.007>
- Lassoued, I., Mora, L., Barkia, A., Aristoy, M., Nasri, M., & Toldrá, F. (2015). Bioactive peptides identified in thornback ray skin's gelatin hydrolysates by proteases from *Bacillus subtilis* and *Bacillus Amyloliquefaciens*. *J Proteom*, 128, 8 – 17. <http://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.06.016>
- Li, Z.Y., Youravong, W., & H-Kittikun, A. (2010). Protein hydrolysis by protease isolated from tuna spleen by membrane filtration: A comparative study with commercial proteases. *LWT – Food Sci Technol*, 43 (1), 166 – 172. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.07.002>
- Li-Chang, E. (2015). Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Curr Opin Food Sci*, 1, 28 – 37. <http://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.09.005>
- Liang, Y., & Hultin, H. O. (2005). Separation of membranes from acid-solubilized fish muscle proteins with the aid of calcium ions and organic acids. *J Agr Food Chem*, 53 (8), 3008 – 3016. <http://doi.org/10.1021/jf048458y>
- Liaset, B., Madsen, L., Hao, Q., Criales, G., Mellgren, G., Marschall, H.U., ... Kristiansen, K. (2009). Fish protein hydrolysate elevates plasma bile acids and reduces visceral adipose tissue mass in rats.

- Biochim Biophys Acta*, 1791 (4), 254 – 262. <http://doi.org/10.1016/j.bbali.2009.01.016>
- 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 Chem*, 151, 459 – 465. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.089>
- Malaypally, S. P., Liceaga, A.M., Kim, K., Ferruzzi, M., San Martin, F., & Goforth, R.R. (2014). Influence of molecular weight on intracellular antioxidant activity of invasive silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) protein hydrolysates. *J Fun Foods*, 18, 1158 - 1166. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.011>
- Marchbank, T., Elia, G., & Playford, R.G. (2009). Intestinal protective effect of a commercial fish protein hydrolysate preparation. *Regul Peptides*, 155 (3), 105 – 109. <http://doi.org/10.1016/j.regpep.2009.02.003>
- Martínez-Álvarez, O., Chamorro, S., & Brenes, A. (2015). Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: a review. *Food Res Int*, 73, 204 – 212. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>
- Martínez-Montaña, E., Peña, E., Focken, U., & Viana, M. T. (2010). Intestinal absorption of amino acids in the Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*): In vitro uptake of amino acids using hydrolyzed sardine muscle at three different concentrations. *Aquaculture*, 299 (1-4), 134 – 139. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.003>
- Matak, K., Tahergorabi, R., & Jaczynski, 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*, 77 (4), 697 - 703. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.048>
- Muzaifa, M., Safriani, N., & Zakaria, F. (2012). Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 5 (1), 36 – 39. http://www.bioflux.com.ro/docs/AACL_5.1.8.pdf
- Nasri, R., Younes, I., Jridi, M., Trigui, M., Bougatef, 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 Res Int*, 54 (1), 552 – 561. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.001>
- Nasri, R., Amor, I.B., Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P., Gargouri, J. ..., Nasri, M. (2014). Anticoagulant activities of goby muscle protein hydrolysates. *Food Chem*, 133 (3), 835 – 841. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.101>
- Nesse, K.O., Nagalakshmi, A.P., Marimuthu, P., Singh, M., Bhetariya, P. J., Ho, M., & Simon, R. R. (2014). Safety evaluation of fish protein hydrolysate supplementation in malnourished children. *Regul Toxicol Pharm*, 69 (1), 1 – 6. <http://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.02.009>
- Nguyen, H., Babacar, B., Randriamahatody, Z., Donnay-Moreno, C., Moreau, J., Tran, L., & Berge, J.P. (2011). Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using Protamex protease. *Food Technol Biotech*, 49 (1), 48 – 55.
- Nguyen, H.T., M., Pérez-Gálvez, R., & Bergé, J. P. (2012). Effect of diets containing tuna head hydrolysates on the survival and growth of shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 324 – 325, 127 – 134. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.11.014>
- Nikoo, M., Benjakul, S., & Xu, X. (2015). Antioxidant and cryoprotective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince. *Food Chem*, 181, 295 – 303. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.095>
- Norgaard, J.V., Blaabjerg, K., & Poulsen, H. D. (2012). Salmon protein hydrolysate as a protein source in feed for young pigs. *Anim Feed Sci Tech*, 177 (1-2), 124 – 129. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.08.003>
- Opheim, M., Šližytė, R., Sterten, H., Provan, F., Larssen, E., & Kjos, N.P. (2015). Hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) rest raw materials – Effect of raw material and processing on composition, nutritional value, and potential bioactive peptides in the hydrolysates. *Process Biochem*, 50 (8), 1247 – 1257. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.017>
- Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M.A., & Ramírez-Suárez, J.C. (2008). Functional properties of fish protein hydrolysates from pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chem*, 109 (4), 782 – 789. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.047>
- Pasupuleti, V.K., & Braun, S. (2010). State of Art Manufacturing of Protein Hydrolysates. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11 – 32. http://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2
- Picot, L., Bordenave, S., Didelot, S., Fruitier, I., Sannier, F., Thorkelsson, G., ... Pio, J. M. (2006). Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochem*, 41 (5), 1217 – 1222. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.11.024>
- Pires, C., Teixeira, B., Cardoso, C., Mendes, R., Nunes, M.L., & Batista, I. (2015). Cape hake protein hydrolysates prepared from alkaline solubilized proteins pre-treated with citric acid and calcium ions: functional properties and ACE inhibitory activity. *Process Biochem*, 50 (6), 1006 – 1015. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.03.010>
- Saidi, S., Deratani, A., Ben- Amar, R., & Belleville, M. P. (2013). Fractionation of a tuna dark muscle hydrolysate by a two-step membrane process. *Sep Purif Technol*, 108, 28 – 36. <http://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.01.048>
- Sarmadi, B.H., & Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, 31 (10), 1949 – 1956. <http://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>
- Shan, H., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPKP). *Food Res Int*, 50 (1), 289 – 297. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.031>
- Sila, A., Nedjar, N., Hedhili, K., Chataigné, G., Balti, R., Nasri, M., ... Bougatef, A. (2014). Antibacterial peptides from barbel muscle protein hydrolysates: Activity against some pathogenic bacteria. *LWT – Food Sci Technol*, 55 (1), 183 – 188. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.07.021>

- Song, R., Wei, R., Luo, H., & Yang, Z. (2014). Isolation and identification of an antiproliferative peptide derived from heated products of peptic hydrolysates of half-fin anchovy (*Setipinna taty*). *J Fun Foods*, 10, 104 – 111. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.010>
- Song, R., Wei, R., Ruan, G., & Luo, H. (2015). Isolation and identification of antioxidative peptides from peptic hydrolysates of half-fin anchovy (*Setipinna taty*). *LWT – Food Sci Technol*, 60 (1), 221 – 229. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.043>
- Sullivan, G.A., & Calkins, C.R. (2010). Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Sci*, 85 (4), 730 – 734. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.033>
- Tahergorabi, R., Matak, K. E., & Jaczynski, J. (2014). Fish protein isolate: Development of functional foods with nutraceutical ingredients. *J Fun Foods*, 18 (1), 746 – 756. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.006>
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S., & Shaidi, F. (2007). Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chem*, 103 (4), 1385 – 1394. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.055>
- Vik, R., Tillander, V., Skorge, J., Vihervaara, T., Ekroos, K., Alexson, S.,... Bjørndal, B. (2015). Three differently generated salmon protein hydrolysates reveal opposite effects on hepatic lipid metabolism in mice fed a high-fat diet. *Food Chem*, 183, 101 – 110. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.011>
- Weng, W., Tang, L., Wang, B., Chen, J., Su, W., Osako, K., & Tanaka, M. (2014). Antioxidant properties of fractions isolated from blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin hydrolysates. *J Fun Foods*, 11, 342 – 351. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.021>
- Wergedahl, H., Gudbrandsen, O.A., Rost, T.H., & Berge, R. K. (2009). Combination of fish oil and fish protein hydrolysate reduces the plasma cholesterol level with a concurrent increase in hepatic cholesterol level in high fat fed Wistar rats. *Nutrition*, 25 (1), 98 – 104. <http://doi.org/10.1016/j.nut.2008.07.005>
- Wiryaphan, Ch., Chitsomboon, B., & Yongsawadigul, J. (2012). Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. *Food Chem*, 132 (1), 104 – 111. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.040>
- Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Nalinanon, S., & Kristinsson, H. (2012). Lipid oxidation and fishy odour development in protein hydrolysate from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle as affected by freshness and antioxidant. *Food Chem*, 132 (4), 1781–1788. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.139>
- Zavarese, E. R., Telles, A. C., El Halal, S. L. M., Rocha, M., Colussi, R., Assis L., ... Prentice, C.P. (2014). Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) muscle and byproduct. *LWT – Food Sci Technol*, 59 (2), 841 – 848. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.013>
- Zhong-Ji, Q., Won-Kyo, J., & Se-Kwon, K. (2008). Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw. *Bioresource Technol*, 99 (6), 1690 – 1698. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.005>
- Zhou, D., Tang, Y., Zhu, B., Qin, L., Li, D., Yang, J., Lei, K., & Murata, Y. (2012). Antioxidant activity of hydrolysates obtained from scallop (*Patinopecten yessoensis*) and abalone (*Haliotis discus hannai* Iino) muscle. *Food Chem*, 132 (2), 815 – 822. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.041>