

UNIVERSIDAD NACIONAL
JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALÚRGICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



TESIS

“Estudio comparativo de la obtención de péptidos para la reutilización de los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) mediante la hidrólisis enzimática”

PRESENTADO POR:

BACH. CRISTOFER DIONICIO GALLEGOS ALOR

PARA OPTAR EL TITULO PROFESSIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

ASESOR:

M(o). VÍCTOR RAÚL COCA RAMÍREZ

CIP 48044

HUACHO – PERÚ

2020

JURADO EVALUADOR



Dr. Ruiz Sánchez, Berardo Beder
PRESIDENTE



M(o). Guerra Lazo, Cayo Eduardo
SECRETARIO



Ing. Torres Corcino, Edelmira
VOCAL



M(o). Coca Ramirez, Victor Raul
ASESOR

DEDICATORIA

El actual proyecto de indagación está dedicado con un gran afecto de amor a mis progenitores, los cuales permanecieron en todo momento y situación apoyándome y brindándome la orientación vital y necesaria para la culminación de mis estudios dentro de mi querida Alma Mater, en la cual pase los mejores momentos de aprendizaje y educación.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, debo manifestar mi más sentida gratitud a mi parentela, los cuales me brindaron su sustentáculo en todo momento durante mi estadía en la universidad, posteriormente debo agradecer a mi consultor de indagación , quien me brindo la orientación indispensable e idónea para la culminación de mi proyecto de investigación, seguidamente debo agradecer a la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión por brindarme la pertinencia de instruirme como versado en Ingeniería Química, finalmente debo agradecer de manera pertinente al lector, por brindarme la pertinencia de compartir mi intelecto e experiencia con ustedes.

Demasiados individuos me convidaron su ayuda para alcanzar mis metas y objetivos, pero sin dubitación una de las más destacadas eres tú, papá.

Estudio comparativo de la obtención de péptidos para la reutilización de los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) mediante la hidrólisis enzimática

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema General.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos de la investigación.....	4
1.3.1. Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivo Específicos.....	4
1.4. Justificación de la investigación.....	4
1.4.1. Justificación Teórica.....	4
1.4.2. Justificación Práctica.....	5
1.5. Delimitación del estudio.....	5
1.5.1. Delimitaciones Teóricas.....	5

1.5.2. Delimitaciones espaciales.....	5
1.6. Viabilidad del estudio.....	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de la investigación.....	6
2.1.1. Antecedentes Internacionales	6
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	7
2.2. Bases Teóricas	11
2.2.1. Anchoqueta (Engraulis ringens).....	11
2.2.2. Péptidos de anchoqueta	12
2.2.3. Reacciones principales dentro de la Hidrolisis enzimática.....	17
2.2.4. Producción de péptidos a través del mecanismo enzimático	17
2.2.5. Método para determinar el °GH.....	19
2.2.6. Acción no oxidante y no microbiana.....	20
2.2.7. Resultados de los péptidos respecto a la salud.....	22
2.2.8. Los péptidos en el sector alimentario.....	25
2.2.9. Novedosas tecnologías respecto a la obtención de péptidos	27
2.3. Definiciones Conceptuales	28
2.4. Formulación de Hipótesis.....	29
2.4.1. Hipótesis General	29
2.4.2. Hipótesis Especificas.....	30
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	31
3.1. Diseño.....	31

3.1.1. Tipo de investigación	31
3.1.2. Nivel de investigación	31
3.1.3. Diseño	31
3.1.4. Enfoque.....	32
3.2. Población y Muestra	32
3.2.1. Población	32
3.2.2. Muestra	33
3.3. Operalización de las variables	33
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	35
3.4.1. Tecnologías por aplicar	35
3.4.2. Descripción de los instrumentos.....	35
3.5. Técnicas para el procesamiento de información.....	35
3.6. Métodos empleados para el análisis fisicoquímico de las muestras.....	36
3.6.1. Método empleado para el cálculo de Humedad.....	36
3.6.2. Método empleado para el cálculo de Cenizas	36
3.6.3. Método empleado para el cálculo de Grasas	37
3.6.4. Método empleado para el cálculo de Proteínas	37
CAPITULO IV: RESULTADOS	42
4.1. Análisis Fisicoquímico de los residuos de pescado.....	42
4.1.1. Valores calculados en función a la proporción de Humedad	42
4.1.2. Valores calculados en función a la proporción de Ceniza.....	43
4.1.3. Valores calculados en función a la proporción de Grasas	44

4.1.4. Valores calculados en función a la proporción de proteínas	45
4.2. Determinación del Grado de Hidrolisis (DH %)	47
4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Huacho.....	47
4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Vegeta.....	50
4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Carquin	51
4.3. Análisis Fisicoquímico de los péptidos	53
4.3.1. Valores calculados en función a la proporción de Humedad	54
4.3.2. Valores calculados en función a la proporción de Cenizas	55
4.3.3. Valores calculados en función a la proporción de Grasas	56
4.3.4. Valores calculados en función a la proporción de proteínas	57
4.3.5. Valores calculados en función a la proporción de Carbohidratos	58
5.1. Discusiones.....	61
5.2. Conclusiones.....	61
5.3. Recomendaciones	63
CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN	64
5.1. Fuentes Bibliográficas	64
Bibliografía.....	64
ANEXOS	66
Anexo 01 :Procedimiento de la obtención de péptidos	66

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Diseño metodológico detallado de la investigación	32
Ilustración 2. Cálculo de la humedad expresada en porcentaje	42
Ilustración 3. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.	43
Ilustración 4. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.	44
Ilustración 5. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.	45
Ilustración 6. Análisis Físicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Huacho	46
Ilustración 7. Análisis Físicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Vegeta	46
Ilustración 8. Análisis Físicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Carquin	47
Ilustración 9. Curva patrón aplicado a los valores obtenidos de la zona de Huacho	48
Ilustración 10. Curva patrón de la zona de Vegeta	50
Ilustración 11. Curva patrón para la zona de Carquin	51
Ilustración 12. Concentración de proteínas respecto al tiempo de Hidrolisis	53
Ilustración 13. Grado de Hidrolisis vs tiempo de Hidrolisis	53
Ilustración 14. Cálculo de la humedad expresada en porcentaje	54
Ilustración 15. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje	55
Ilustración 16. Cálculo de las grasas expresada en porcentaje	56
Ilustración 17. Cálculo de las proteínas expresada en porcentaje	57
Ilustración 18. Cálculo de carbohidratos expresado en porcentaje	58
Ilustración 19. Análisis físicoquímico respecto a la zona de Huacho	59
Ilustración 20. Análisis Físicoquímico respecto a la zona de Vegeta	59

Ilustración 21. Análisis fisicoquímico respecto a la zona de Carquin.....	60
Ilustración 22. Muestras de anchoveta	66
Ilustración 23. Pesado de la materia prima.....	66
Ilustración 24. Colado de las escamas	67
Ilustración 25. Clasificación de la materia prima.	68
Ilustración 26. Licuado de los residuos	68
Ilustración 27. Esterilización de la muestra	69
Ilustración 28. Enzima Alcalaza	69
Ilustración 29. Hidrolisis enzimática	70
Ilustración 30. Enfriado de la muestra a temperatura ambiente	70
Ilustración 31. Muestras sometidas al centrifugador	71
Ilustración 32. Muestras después del centrifugador	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de operacionalización de variables	34
Tabla 2. Instrumentos a utilizar	35
Tabla 3. Valores calculados en función a la proporción de Humedad	42
Tabla 4. Valores calculados en función a la proporción de Cenizas	43
Tabla 5. Valores calculados en función a la proporción de Grasas	44
Tabla 6. Valores calculados en función a la proporción de Proteínas	45
Tabla 7. Datos calculados de la zona de huacho empleando el método Kjeldahl	47
Tabla 8. Concentración calculada en función a la curva de calibración.....	48
Tabla 9. Parámetros principales para calcular el grado de Hidrolisis zona Huacho	49
Tabla 10. Datos calculados de la zona de Vegeta empleando el método Kjeldahl	50
Tabla 11. Concentración calculada en función a la curva de calibración.....	50
Tabla 12. Datos calculados de la zona de Carquin empleando el método Kjeldahl.....	51
Tabla 13. Concentración calculada en función a la curva de calibración.....	51
Tabla 14. Grado de Hidrolisis de las zonas de Huacho, Vegeta y Carquin.....	52
Tabla 15. Cálculos en función a la humedad (%).....	54
Tabla 16. Cálculos en función a las cenizas(%)	55
Tabla 17. Cálculos en función a las grasas(%)	56
Tabla 18. Cálculos en función a las proteínas(%)	57
Tabla 19. Cálculos en función a los carbohidratos(%)	58

RESUMEN

La presente investigación posee como énfasis principal la realización de un estudio comparativo de péptidos obtenidos de las diversas industrias pesqueras ubicadas en la provincia de Huaura, las cuales son Pesquera Bahía S.A.C (Carquín) Industria Don Martin S.A.C (Huacho) y Pesquera Hayduk S.A.C (Vegeta); reaprovechando de manera adecuada y óptima los residuos emitidos por estas industrias del sector pesquero, mejorando de manera considerable la calidad de vida del poblador y reduciendo la polución generada por los residuos en la provincia de Huaura.

De acuerdo con la metodología empleada se basó en la recolección de residuos de anchoveta de cada zona de la provincia de Huaura, aproximadamente 20 kg, posteriormente se lavó, cortó, seco y licuo(acentó) las diversas muestras de cada zona, seguidamente se sometieron a hidrólisis enzimática, empleando de manera pretratada la enzima Alcalasa, la temperatura de hidrólisis fue de 50°C, posteriormente se inactivó la enzima a 90°C y se sometió a centrifugación durante un tiempo de 20 minutos y una velocidad de 4000 rpm, finalmente se realizó los análisis físicoquímicos respectivos.

Los parámetros obtenidos respecto al grado de hidrólisis (DH %) indican que los valores óptimos se presentaron en un tiempo de 25 minutos, así mismo los residuos obtenidos de la industria (Pesquera Hayduk S.A.C) ubicada en Végueta presentó un mayor grado de hidrólisis, con un porcentaje de 12.39%; respecto a la caracterización físicoquímica de las muestras finales obtenidas indicaron que el porcentaje de proteínas fue de 36.47%; porcentaje de grasas 4.86%; porcentaje de cenizas 2.48%, porcentaje de humedad 55.06% y finalmente el porcentaje de carbohidratos de 1.13%.

Palabras claves: Alcalasa; polución; Hidrólisis enzimática; análisis físicoquímicos.

ABSTRACT

The main emphasis of the present investigation carried out is to carry out a comparative study of peptides obtained from the various fishing industries located in the province of Huaura, which are Pesquera Bahía SAC (Carquin) Industria Don Martin SAC (Huacho) and Pesquera Hayduk SAC (Vegeta) ; reusing in an adequate and optimal way the waste emitted by these industries of the fishing sector, considerably improving the quality of life of the population and reducing the pollution generated by waste in the province of Huaura.

According to the methodology used, it was based on the collection of anchovy residues from each area of the province of Huaura, approximately 20 kg, later the various samples from each area were washed, short, dry and liquid (accent), then they were subjected After enzymatic hydrolysis, using the Alcalase enzyme in a pretreated manner, the hydrolysis temperature was 50 ° C, subsequently the enzyme was inactivated at 90 ° C and subjected to centrifugation for a time of 20 minutes and a speed of 4000 rpm, finally the respective physicochemical analyzes were carried out.

The parameters obtained regarding the degree of hydrolysis (DH%) indicate that the optimal values were presented in a time of 25 minutes, likewise the residues obtained from the industry (Pesquera Hayduk SAC) located in Végueta presented a higher degree of hydrolysis, with a percentage of 12.39%; Regarding the physicochemical characterization of the final samples obtained, they indicated that the percentage of proteins was 36.47%; percentage of fats 4.86%; ash percentage 2.48%, humidity percentage 55.06% and finally the carbohydrate percentage of 1.13%.

Keywords: Alcalasa; pollution; Enzymatic hydrolysis; physicochemical analysis.

INTRODUCCIÓN

La finalidad del presente proyecto de indagación es realizar un estudio comparativo de péptidos obtenidos de las diversas zonas de la provincia de Huaura, así mismo también cumple con la finalidad de reaprovechar los residuos de anchoveta emitidos por las diversas industrias del sector pesquero dedicados a la producción de conservas de anchoveta, estos residuos emitidos por las industrias pesqueras, no son del todo reutilizados, debido a que son desechados al mar, generando contaminación, lo cual es perjudicial para el medio ambiente y por ende a los pobladores de la provincia de Huaura.

La metodología empleada en el presente proyecto de indagación se enfocó en el acopio de materia prima (residuos de anchoveta), los cuales fueron obtenidos de tres zonas diversas de la provincia de Huaura, Caleta de Carquín (Pesquera Bahía S.A.C); Huacho (Industria Don Martín S.A.C); Végueta (Pesquera Hayduk S.A.C); luego se realizó un pre tratamiento que consistió en el lavado, cortado y secado de los residuos, seguidamente se efectuó un análisis fisicoquímico de acuerdo a cada muestra, basado en los métodos de cálculo de Grasas, Cenizas, proteínas, carbohidratos y rendimiento, posteriormente las muestras fueron sometidas a un tratamiento de Hidrólisis enzimática, durante una temperatura constante y tiempos variados, consecutivamente las muestras obtenidas se sometieron a centrifugación; en seguida se obtuvieron las muestras respectivas, las cuales también se sometieron a un estudio fisicoquímico basados en los mismos parámetros de cálculos empleados inicialmente en los residuos de anchoveta, finalmente se procedió a calcular el grado de hidrólisis de cada muestra.

CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Al presente en la provincia de Huaura; coexisten diversas industrias del sector pesquero que emiten grandes cantidades de residuos de pescados, para ser más exactos los residuos de anchoveta, los cuales son arrojados al mar; debido a que no poseen un conocimiento adecuado sobre las propiedades nutricionales que poseen los residuos de anchoveta; así mismo también no cuentan con una tecnología adecuada su reaprovechamiento, lo cual genera una gran contaminación ambiental; marítima y visual; lo cual es perjudicial para los pobladores de la provincia de Huaura.

Una de las alternativas más adecuadas y eficientes para el reaprovechamiento de estos residuos generados posteriormente en el proceso de producción, es la obtención de péptidos, por lo consiguiente se realizará una indagación comparativa de acuerdo con las industrias pesqueras del sector de Huaura, comparando de manera eficaz y directa cuál de los residuos poseen un mayor concentrado de péptidos y por ende mayor calidad.

Actualmente existen diversos tipos de enzimas digestivas cuya finalidad es descomponer las proteínas en sustancias más pequeñas denominadas aminoácidos, la más rescatada de entre todas es la enzima Alcalasa; la cual presenta un elevado poder digestivo respecto a la descomposición de proteínas y así mismo también una afinidad con la materia prima a emplear; los métodos biotecnológicos para convertir la materia prima a emplear en péptidos son diversos; enfocándose en la diversidad de enzimas que se pueden emplear para dicho proceso; de igual manera estos productos obtenidos denominados péptidos pueden emplearse como ingredientes a otros tipos de productos elaborados en otras industrias; como la industria alimentaria o farmacéutica; en la elaboración de suplementos nutricionales; alimentos a base de proteínas; alimentos para animales; entre

otros más; de esa manera se lograría reducir considerablemente el impacto ambiental negativo que provocan estas industrias pesqueras.

De igual manera las industrias que se dedican a la actividad pesquera estarían elaborando estos productos denominados péptidos y posteriormente comercializado como subproductos a otras empresas, garantizando una producción sostenible y sustentable y a su vez mitigando el impacto ambiental negativo provocado por los residuos de anchoveta.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

¿Cómo realizar un estudio comparativo de la obtención de péptidos para la reutilización de los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) mediante la hidrólisis enzimática?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cómo caracterizar Físicoquímicamente los residuos de anchoveta (Cabezas, vísceras, colas y escamas) emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020?
- ¿Como se determinará el grado de Hidrólisis dentro del proceso de reacción de los residuos de anchoveta (Cabezas, vísceras, colas y escamas) emitidos por las diversas industrias de la provincia de Huaura - 2020?
- ¿Cómo caracterizar físicoquímicamente las muestras obtenidas después de la Hidrólisis enzimática aplicada a los residuos emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Realizar un estudio comparativo de la obtención de péptidos para la reutilización de los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) mediante la Hidrolisis enzimática.

1.3.2. Objetivo Específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente los residuos de anchoveta (piel, vísceras , escamas) emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020.
- Determinar el grado de Hidrolisis dentro del proceso de reacción de los residuos de anchoveta (Cabezas, vísceras, colas y escamas) emitidos por las diversas industrias de la provincia de Huaura.
- Caracterizar fisicoquímicamente las muestras obtenidas después de la Hidrolisis enzimática aplicada a los residuos emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020.

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1. Justificación Teórica

La presente investigación se basa con el propósito de dar al conocimiento existente información sobre la reutilización de residuos emitidos por industrias pesqueras para la obtención de péptidos, cuyos resultados podrán sistematizarse en una propuesta, para seguidamente ser añadidos y publicados en diversos artículos científicos, esto es debido a que así se puede estar demostrando la calidad del producto, así como también el porcentaje óptimo de Hidrolizarían, sin olvidarnos de los beneficios principales e fundamentales que tiene este en la alimentación y consumo humano.

1.4.2. Justificación Práctica

La investigación es realizada por la necesidad de aumentar la necesidad alimentaria en nuestra región, así como también en reducir considerablemente los residuos ocasionados por dichas empresas contaminantes del medio ambiente.

1.5. Delimitación del estudio

1.5.1. Delimitaciones Teóricas

Las fuentes teóricas especializadas de nuestro país son muy pocas debido a que describen la exportación, pero no la elaboración ni tampoco el reaprovechamiento de dicho producto, así mismo también las bibliografías internacionales no nos brindan mucha información, por lo que se optaran otros tipos de indagaciones donde se halle o desarrolle el tema.

1.5.2. Delimitaciones espaciales

Por las condiciones geográficas de esta materia prima; la investigación se realizó cerca de la UNJSFC – Huacho.

1.6. Viabilidad del estudio

El proyecto de investigación posee la viabilidad optima, gracias a que el tesista posee los medios necesarios tanto económicos y bibliográficos para su realización; de igual manera el tesista será asesorado por personas de gran trayectoria y experiencia en la materia.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Antecedentes Internacionales

De acuerdo con Huerta (2016) en su investigación denominada “Obtención de péptidos Alimentarios mediante la hidrolisis enzimática con efectos sobre la salud intestinal”, llevada a cabo en la Universidad Complutense Madrid, llego a las siguientes conclusiones:

- El subproducto obtenido en la hidrolisis con tripsina da lugar a la obtención de caseinofosfopeptidos (CPPs), esto es muy significativo ya que dicho producto ayuda de manera considerable a la absorción de minerales en el intestino (Huerta, 2016).
- Así mismo la Hidrolisis obtenida por las proteínas del suero lácteo con Alcalaza permite obtener péptidos con afinidad al Hierro; la presencia de ácido aspártico y glutámico se atribuyó a la capacidad del hierro (Huerta, 2016).
- La elaboración de mucinas y caseína de partida sin hidrolizar presentan una actividad preventiva sobre las úlceras en modelos inducidos por etanol en ratas, así también un hidrolizado trípico de un concentrado de suero enriquecido en B-lacto globulina brinda un efecto protector sobre la mucosa gástrica (Huerta, 2016).
- El aumento de resistencia de la lunasina se debe a el isoINHIBIDOR-1 de Bowman-Birk directamente a la Hidrolisis enzimática debido a las condiciones simuladas en el tracto intestinal, así mismo la disminución de la viabilidad celular en los cultivos de HT-29 y Caco-2 fueron obtenidas por los digeridos conseguidos al final de la digestión gastrointestinal (Huerta, 2016).

Teniendo en cuenta a Carpio (2012) en su investigación denominada “Obtención de hidrolizados de proteínas de leche de cabra con actividad inhibidora de la enzima

convertidora de la angiotensina”, llevada a cabo en la Universidad de Granada, llego a las siguientes conclusiones:

- La técnica empleada para optimizar tanto el porcentaje de inhibición (ACEI) así como también el grado de hidrolisis (DH) fue la de superficie de respuestas; Los valores máximos obtenidos para DH Y ACEI en las condiciones de operaciones fueron para cada enzima los siguientes: enzima subtilisina con DH = 0.218; T=60.5°C; ES= 5% y un ACEI =0.320; así mismo para la enzima tripsina un DH=0.159. T=55°C, ES =5% y un ACEI = 0.399 (Carpio, 2012) .
- No se pudo encontrar ninguna relación entre el DH Y ACE; la utilización de las enzimas de origen animal y bacteriano (tripsina y subtilisina) (Carpio, 2012).

2.1.2. Antecedentes Nacionales

De acuerdo con (Penagos & Vasquez, 2018) en su investigación denominada “Hidrólisis de las proteínas de anchoveta (*Engraulis ringens*) entera por acción de la enzima Protamex” realizada en la Universidad Nacional de Trujillo concluyo:

- Respecto a la acción efectiva de la enzima ProtamexTM indicaron unos resultados de $370.123 \pm 18.283 \text{ U} \cdot \text{mg}$, de igual manera los datos de su cinética como el Km y el Vmax fueron de $27.102 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ y $0.086 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, adecuadamente.
- El hidrolizado peptídico emitidos del proceso de obtención de la anchoveta fue realizada y llevada por la enzima Protamex, los parámetros fueron diversos los cuales se obtuvieron resultados parecidos aproximadamente entre 10 y 15 kDa, empleado el mecanismo de electroforesis, para ser más exactos el SDS-PAGE.
- Los parámetros adecuados hallados y determinados dentro del mecanismo de hidrolisis por medio de la enzima mencionada en el segundo párrafo, y empleando el mecanismo de superficie fueron la correlación entre la enzima y sustrato de 62 UA respecto a cada kilo de proteína, el parámetro de solubilidad es de 0.71 kilos

de anchoveta sobre agua, el periodo de reacción es de una hora, de acuerdo a los parámetros constantes de temperatura que es de 56°C y pH de 7.6. Dando como conclusión final que la mezcla preparada a partir de la enzima posee una eficiencia y eficacia óptima dentro de la hidrólisis de anchoveta.

Conforme con Pachas (2017) en su investigación denominada “Hidrólisis enzimática en una y dos etapas de la proteína de la cañihua (*chenopodium pallidicaule* Aellen) para obtener péptidos bioactivos”, llevada a cabo en la Universidad Nacional de Agraria, llegó a las siguientes conclusiones:

- De acuerdo con las reacciones obtenidas en dos etapas, el mayor grado alcanzado respecto al hidrólisis enzimático fue de 240 minutos, así mismo también la unión de la Alcalasa/Flavourzyme obtuvo un GH de 60.28 % con una desviación de 0.56 (Pachas, 2017).
- La mayor proporción de inhibición de la actividad ECA-I fue de 69.15 % con una desviación de 1.23; así mismo también obtuvo una IC50 de 0.12 mg de proteína/ml con una desviación de 0.04; esto se debió a la unión de las dos enzimas Neutraza y Alcalasa en un tiempo de 180 minutos con un grado de hidrólisis de 42.19 % con una desviación de 0.33 (Pachas, 2017).
- La utilización de la cañihua obtuvo resultados óptimos a la hora de obtener péptidos bioactivos de un alto valor biológico dependiendo del proceso de Hidrólisis enzimática (Pachas, 2017).
- Después del uso de pepsina durante un tiempo de 60 minutos el porcentaje de inhibición ECA-I fue de 71.20 % con un IC50 de 0.08 mg/ml, así mismo el porcentaje de actividad inhibidora ECA-I subió de 66 a 74.8 %, y IC50 de 0.07 mg/ml de proteína, dando como valor de inicio del ECA-I 69.15 % y IC50 de 0.12 mg/ml (Pachas, 2017).

- Se lograron resultados de valores altos con capacidad antioxidante hidrofílica aplicando el método ABTS en un tiempo de 240 min de reacción, seguidamente se obtuvieron valores de 3.50 y 3.13 μmol de TE/mg de proteína ambos con desviaciones de 0.06 con la mezcla Alcalasa/Flavourzyme y Alcalasa/Neutrasa (Pachas, 2017).
- El menor valor obtenido fue de 1.20 con una desviación de 0.01 μmol de TE/mg de proteína, debido a la reacción de Flavourzyme de acuerdo al tiempo de reacción que fue de 240 min (Pachas, 2017).

Concluye Lozano (2014) en su investigación denominada “Obtención de péptidos bioactivos de *lupinus mutabilis* ("tarwi") mediante proteasas de *Bacillus sp*” llevada a cabo en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, lo siguiente:

- El porcentaje obtenido de proteínas y lípidos encontrados en la harina de tarwi es de 46,37 % y 31,57 %, así mismo en el proceso se obtuvo un rendimiento del 37 y 28 por ciento (Lozano, 2014).
- La mayor actividad antioxidante fue presentada por H90EA y H90CE, siendo de 10,09 y 5,58 %, así como también el valor del CI50 que fue de 41,38 y 59,80 μg / mL (Lozano, 2014).
- El porcentaje obtenido con la enzima Alcalasa obtuvieron mayor concentración de péptidos solubles siendo este 1387,17 y 663,55 μg / mL, con un PH de 8 y una temperatura de 50°C (Lozano, 2014).

Indica Daza & Torres (2017) en su investigación denominada “Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima Delvolase” llevada a cabo en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, concluyo lo siguiente:

- El hidrolizado purificado de colágeno de pescado se obtuvo empleando la enzima Delvolase, donde el proceso de hidrólisis fue influenciado por la temperatura, tiempo y concentración de la enzima en diversas combinaciones. Así mismo, el flujo de proceso constó de 7 etapas: preparación de la muestra, hidrólisis (55 - 65 °C, 2 - 6 h, 0.03 - 0.15%), inactivación de la enzima (90 °C por 15 min), enfriado (ambiente por 5 min), centrifugado (3000 rpm por 15 min), envasado y almacenado (Daza & Torres, 2017).
- La severidad del tratamiento térmico, la concentración de enzima y el tiempo de reacción influenciaron en el grado de hidrólisis, encontrándose una relación directa con la calidad de las propiedades funcionales del hidrolizado, determinándose el grado de hidrólisis óptimo en 12.5 por ciento (Daza & Torres, 2017).
- El producto final fue de color beige y olor neutro, con proteína de 12,55 por ciento, grasa de 0,32 g/100 g muestra, ceniza de 1 por ciento todo esto en base húmeda. Los resultados de las propiedades tecno-funcionales fueron, 0,4 (ml H₂O/g m) para la capacidad de retención de agua, 1,342 (ml aceite/0,5 g m) para la capacidad de emulsificación, 20 por ciento para la formación de espuma, 4,54 (ml aceite/ g m) para la absorción de aceite; para la capacidad gelificante se reportaron valores positivos en rangos de 4 a 8 por ciento de concentración de colágeno y de 4 a 8 de pH, así mismo, para un 2 por ciento de concentrado de colágeno a un pH de 8. Finalmente, el rendimiento final del hidrolizado fue de 59 por ciento (Daza & Torres, 2017).

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Anchoveta (*Engraulis ringens*)

La anchoveta es una especie pelágica, cuya habitad son las aguas superficiales sofriás de la costa, no obstante, pueden permanecer en un rango de 190 y 170 km de separación de la costa. Es de talla pequeña, de talla pequeña, que con exactitud puede llegar a medir 20 cm de longitud total. Su alimentación se basa de plancton y su reproducción mayormente se da entre los meses de julio y septiembre. Posee un cuerpo delgado como se observa en la ilustración 1, su color posee variación de azul oscuro a verdoso en la parte posterior y en el vientre de color plateado. El tiempo de vida estimada de la especie es de 3 años y esta posee una elevada cantidad y proporción de grasa compuesta por varios ácidos grasos, entre los principales están el omega-3 y 6.



Ilustración 1. Pescado Anchoveta

2.2.1.1. Taxonomía de la anchoveta

Respecto a la taxonomía del pescado a anchoveta se detalla de manera adecuada en la posterior tabla:

Taxonomía	
Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Actinopterygii
Orden	Clupeiformes
Familia	Engraulidae
Genero	Engraulis
Especies	E. ringens

Ilustración 2. Taxonomía de la anchoveta

2.2.1.2. Características de la anchoveta

Respecto a las características del pescado a anchoveta se detalla de manera adecuada en la posterior tabla:

Componentes	Promedio
Humedad	70.9
Grasa	8.1
Proteína	19.1
Sales minerales	1.2
Calorías (100 g)	185

Ilustración 3. Características de la anchoveta.

2.2.2. Péptidos de anchoveta

En el sector anchovetero, la obtención de los peces de anchoveta es predestinados para la producción de harina de pescado y aceite, por lo contrario, la producción para conservados durante los últimos años ha tenido un elevado crecimiento sostenible y eso

está registrado respecto a la fuente en produce (2013); teniendo como dato un óptimo porcentaje de rendimiento respecto a la cabeza y cola del 58%.

El proceso del mecanismo de obtención de productos derivados de anchoveta genera diversos restos que ocasionalmente pueden ser empleados, debido a que poseen una proporción óptima y alta de proteínas. Dentro de los diferentes mecanismos de obtención de proteínas, una de ellas es la de Hidrolisis a partir de las diferentes enzimas, que sirve como la ruptura de enlaces peptídicos a nivel molecular. Con este mecanismo es posible obtener péptidos con un elevado nivel de proteínas. (Pandía, 2013).

De acuerdo con Benítez (2008), el mecanismo de obtención de péptidos es viable a través tanto de manera química o enzimática. El mecanismo enzimático es un transcurso suave que se obtiene efectos de elevada funcionalidad, óptimas características organolépticas y un adecuado provecho nutritivo sin la originario de compuestos tóxicos. De acuerdo con Pandía (2013) el mecanismo global que presenta la reacción enzimática abarca los siguientes niveles:

1. Inhibición de enzimas
2. Reacciones por el mecanismo de Hidrolisis enzimática.
3. Inhibición de la enzima.
4. División de la etapa líquida y sólida.
5. Reclusión del péptido del estado líquido.

En la primera etapa se obtiene la anchoveta, seguidamente se lava, corta y licua, luego lo somete a una esterilización en una autoclave a una temperatura de 70°C y un tiempo de 10 minutos, luego lo dejamos enfriar durante 30 minutos.

En la segunda etapa se añade por vía separada la disolución de enzima más agua destilada y NaOH en proporciones relativas (1:1), este es un factor muy importante debido

a que la relación correcta ayudara considerablemente a obtener péptidos de un mayor valor.

En la tercera etapa después de haber realizado la Hidrolisis enzimática se sometido a la inactivación de la enzima elevándola a 90°C.

En la cuarta etapa luego enfriado se sometió a centrifugación durante un tiempo de 20 minutos y una velocidad de 4000 rpm.

De acuerdo con Benítez (2008) concluye que el método o medio más común en donde se realiza la reacción enzimática es en un reactor, con un sistema de agitaciones mecánicas y control de los parámetros de temperatura y tiempo. La materia disuelta en agua se ajusta al pH deseado y en breve se le añade la enzima Alcalasa generando de manera instantánea la Hidrolisis. Con el pasar del tiempo el PH baja, esto se debe a la generación de ruptura de enlaces peptídicos que provoca la Alcalasa. En algunos casos el PH de la disolución debe estar regido a los estándares óptimos de las enzimas. Finalmente, la hidrolisis termina cuando la enzima es inactivada, esto puede ser generado al aumento de calor o también con una baja de PH, de igual manera esta es separada a través de filtración.

La generación de proteínas a partir de una hidrolisis proteica no es más que una secuencia de procesos químicos lo cual cumplen la función de obtener una secuencia de péptidos de tamaños reducidos; el objetivo de este proceso es más que todo destrozarse en su gran mayoría la proporción mayor de cadenas peptídicas, y a este mecanismo se le denomina ° de Hidrolisis o también conocido por su sigla (GH). (Benítez, Ibarz & Pagan, 2008).

Uno de los beneficios principales que tiene el producto obtenido puede ser empleado para la alimentación salud o tecnología de alimentos, debido a las enzimas tipo proteolítico ya que son empleadas como catalizadoras en el proceso. Las diferentes

enzimas representativas con las que se trabaja para la obtención de péptidos son la papaína obtenida directamente del fruto de la papaya, la bromelina extraída de manera directa del fruto de la piña, la cucumisina adquirida directamente del melón. (Feijoo-Siota & Villa, 2011); fueron empleadas respectivamente de manera adecuada para la blandura de carne, y de igual manera para la solubilización de proteínas, esto represento una elevada eficacia respecto a la división de la fase aceitosa y acuosa (Ha et al., 2012; Sullivan & Calkins, 2010).

El enlazamiento de proteínas denominadas miofibrilares ubicadas y encontradas en el muslo del pescado a través de diferentes y diversas cohesiones débiles llamadas proteína-proteína. La composición y las formas de pliegue son diferentes y a su vez diversa; la hidrofobicidad, grupos polares y el resto de las características que en grupo perjudican algunas de las peculiaridades de este.

La oxidación lipídica, así como también el sabor desagradable que tiene es el mayor desafío a la hora de comercializar los péptidos. La mayoría de los investigadores de diversas universidades como Islandia, florida y otras examinaron la inserción de un antioxidante nativo, extraído de algas provenientes y originarias de Islandia, conocida también científicamente como *Fucus vesiculosus*, en péptido elaborados por medio enzimático del desecho de bacalao. Algunos resultados obtenidos nos indicaron que el antioxidante, nombrado Fv-e ayudo a la mejora del sabor respecto al sabor de los péptidos referente a lo amargo y rancio de este. (Halldorsdottir et al., 2014).

Así mismo un estudio establecido en Portugal, examino la probabilidad de suprimir ácidos grasos de los péptidos, aplicando el método de la disolución en medio ácido empleando de manera oportuna el ácido cítrico, lo cual ayudo de manera favorable a la disminución de fosfo-lípidos y así mismo la elaboración de sustancias con peculiaridades óptimas y eficaces.

Una de las características más principales e importantes es el grado de hidrolisis, debido a que este influye de manera directa en la amplitud del péptido, así mismo también en las peculiaridades tanto nutricionales como sensoriales del péptido; así mismo este está enlazado con las características solubles y digestivas del mismo, el rescate de proteína y la distribución de la masa molecular de estos son demasiado importante debido a la información del uso posible. (Thiansilakul, Benjakul & Shaidi, 2007).

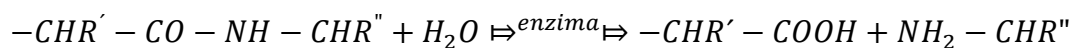
Diversos estudios comparativos de acuerdo con el peso molecular y su capacidad antioxidante indican que la relación entre ambos no está del todo precisa y la duda aun cabe.

De acuerdo al °GH se obtiene las siguientes referencias: Si el grado de Hidrolisis es bajo entre el 1% y el 10% indica que este producto va a mejorar diversas propiedades de sustancias alimenticias como por ejemplo si es o no soluble, la eficacia espumante ahora bien si el grado de hidrolisis es mayor al 10% , nos indica que tiene una elevada solubilidad y absorción gastrointestinal , debido a ellos esto se puede usar en alimentos líquidos para diversas personas como los ancianos , enfermos y deportistas (Cecopesca, 2012).

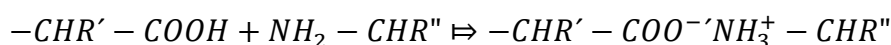
Respecto a la indagación realizada por Belén et al. (2007), realizando diversos ensayos empíricos como materia prima el pescado colorado cuyo nombre científico es *Pygocentrus cariba*, indico que posteriormente de efectuar la hidrolisis con una enzima adecuada brindo la generación de distintas sustancias con optimas características funcionales elevadas respecto al sustrato inicial que no estaba hidrolizado. Los datos respecto a la hidratación, solubilidad y propiedad efervescente se elevaron de manera óptima al subir el GH°, no obstante, la propiedad emulsificante presento datos óptimos teniendo un GH° mayor al 11 %. (Belén et al., 2007).

2.2.3. Reacciones principales dentro de la Hidrolisis enzimática

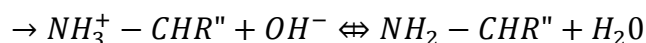
Se pensó en reducir el contenido de aceite por lo que se mezcló con agua destilada 1:1 (m/v), el porcentaje de agua agregada es de vital importancia siendo este una variable de vital importancia en el mecanismo de Hidrolisis, debido a que una baja cantidad de agua tratada añadida, perjudica de manera considerable el paso de la enzima respecto a la materia prima, así mismo la superior presencia de viscosidad pueden generar una reducción de Hidrolisis de la solución generando un bajo rescate de péptidos. (Shetty et al., 2006) A continuación, se muestra la Hidrolisis enzimática de un enlace amino, consistiendo en tres etapas (Guadix et al., 2002):



El grupo carboxilo terminal se disocia por completo



La base agregada neutraliza los protones



2.2.4. Producción de péptidos a través del mecanismo enzimático

La producción de péptidos se basa en tres etapas principales las cuales son: pretratamiento en esta fase consiste en mezclar y obtener una fase de agua-musculo con el menor proporción de grasa con el fin de suprimir la rancidez que origina este; la siguiente fase consta de la combinación entre la pasta y la enzima en una relación optima y parámetros conocidos como el tiempo, PH y temperatura, seguidamente se activa gracias al aumento del calor, normalmente se tiene que considerar que debe estar a una temperatura entre 87 – 92°C por un periodo de media hora.

Por último, se centrifuga y separa las diversas fases para el secado y así mismo obteniendo el Hidrolizado. (He et al., 2013).

El rendimiento obtenido en la producción de péptidos es bajo, debido a que en la deshidratación se efectúa la porción soluble, lo cual es importante debido a que posee sustancias de gran interés respecto a la reacción.

La reacción de hidrolisis se basa en una secuencia de reacciones concurrentes obtenidas en el rompimiento de conexiones de proteínas, con las diversas variedades saturadas que se encuentra en armonía, esto origina una elevada complicación respecto al mecanismo mencionado. Esto brinda un mecanismo que abarca tres tipos de reacciones contiguas que se detalla en breve:

Generación de un complicado mecanismo o conjunto de enzima–sustrato, rompimiento de conexiones peptídicos brindando como respuestas la generación de un péptido. Por último, el péptido sobrante se divide o aleja de la enzima luego de una agresión nucleofílica a partir de 1 molécula de H₂O. El mecanismo se vuelve a dar consecutivamente a los diferentes péptidos (Benítez et al., 2008).

Diversos investigadores de la Syiah Kuala University de Indonesia evaluaron el uso de la Alcalasa® y diversas enzimas empleada de manera directa a restos pesqueros, y determinaron que las características en función a la solubilidad y espumante, como de igual manera también la proporción de proteína respecto a las sustancias adquiridas fueron elevados y parecidos a los datos presentados en una instancia a la proteína nativa que posee el musculo de pescado, brindando un elevado y optimo rendimiento respecto a las características funcionales adquiridos con la enzima Alcalasa®.

Para concluir de manera oportuna, indicando que los péptidos pueden servir de manera potencial como un inicio o fuente de proteínas. (Muzaifa, Safriani & Zakaria, 2012).

Por otro lado, diversos estudios en donde se realizaron la Hidrolisis con enzima Protamex®, indico de manera detallada respecto al mecanismo de reacción del atún, que

la parte de la cabeza y de igual manera la vísceras y colas originan una elevada y óptima calidad de péptidos y que esto puede ser empleado para la producción de diversas proporciones: la primera que sea pura en péptidos respecto al peso molecular y por ende bajo en grasas y la segunda que sea con proteínas no solubles y por último la generalidad de grasas. (Nguyen et al., 2011).

2.2.5. Método para determinar el °GH

El método empleado para calcular el grado de Hidrolisis se enfocó en el método pH-stat debido a las ventajas que ofrece entre ellas tenemos:

El pH esta constante de acuerdo con el mecanismo de digestión.

El grado de Hidrolisis, se estima de manera rápida y eficaz de acuerdo con la curva de titulación obtenida Dimes & Haard (1994).

De acuerdo con Dimes & Haard (1994) indicaron que dicho mecanismo, es una manera óptima, segura y eficaz de estimar la digestividad de proteínas.

En el mecanismo pH-stat, la proporción de la base empleada para brindar un pH constante es de vital importancia para el cálculo optimo del grado de hidrolisis.

El cálculo se puede hallar a partir del volumen de la solución estándar de la base (NaOH a 0.1 N); lo cual es necesario para conservar el PH de 8.0 en la reacción, seguidamente se emplea la ecuación:

$$h = \frac{B * \frac{1}{\alpha} * N_b}{(M * S\%/100)}$$

B = *ml de base utilizados*

$$\alpha = \frac{10^{(pH * pK)}}{1 + 10^{(pH * pK)}}$$

N_b = *normalidad del titulante*

M = *masa en g de la mezcla de reacción*

S = *concentración de la proteína*

El grado de Hidrolisis se calcula de la siguiente manera:

El grado de Hidrolisis se calcula de la siguiente manera:

$$DH \% = \left(\frac{h}{h_{total}} \right) * 100$$

$$h_{total} = \text{numero total de enlaces peptidicos}$$

El número total de enlaces peptídicos de acuerdo con Brauer (1997, pág. 5) se calcula con la media del peso molecular del amino ácido residuales . En su mayoría se asume como el peso promedio para los amino residuales un valor de 120.

Así mismo la bureta de titulación , el medidor de pH y el medidor de temperatura pueden ser conectadas y calculadas a través de un pc y con una base de datos adecuada, el algoritmo para el cálculo del DH% se partió de :

$$Volumen = mv \text{ de la bureta} / 50$$

$$pH = 7 + (mv \text{ del pH metro} / 10)$$

$$pK = 8.275 - 0.0233 * T(^{\circ}C) \text{ de reaccion}$$

2.2.6. Acción no oxidante y no microbiana

Al parecer el problema más evidente y visible durante el mecanismo de hidrolisis enzimática es la oxidación de las grasas visibles en la musculatura del pescado, debido a que esta acción genera una catálisis provocada por el Fe, la enzima y las proteínas que presentan un conjunto proteico hemo. (Yarnpakdee et al., 2012), Las originadoras de lipooxidación dentro de los fosfolípidos actuales en la membrana celular se denominan hemoproteínas, que son relacionadas con el ultimo termino mencionado. (Liang & Hultin, 2005).

El fresco del pescado enfocado a los mecanismos de hidrolisis enzimática es un factor de vital importancia debido a que retrasa el hedor de este, ocasionados por la elaboración tanto de peróxidos presentes y de ácido tío-barbitúrico, del mismo modo, la división de células de la musculatura del pescado se lava en breve esto es de vital

importancia para generar péptidos no oxidantes con una baja proporción de prooxidantes. (Khantaphant et al., 2011).

Unas de las características representativas descubiertas son las de los intrínsecos que permiten que los péptidos sean un compuesto con características no oxidantes, de igual manera la masa molecular de las porciones peptídicas. Las masas moleculares inferiores a 3 KDa presentan una elevada y optima efectividad respecto a la acción no oxidante. (Malaypally et al., 2014).

Del mismo modo, el empleo o la utilización de enzimas concretas aumenta la mejora del no oxidante de los péptidos emitidos del pescado. El empleo de la enzima Alcalasa®, aumenta de manera óptima las características de absorción respecto a los radicales libres, de igual manera permite que el péptido adquirido posea una elevada solubilidad y optimas características interraciales. Así mismo, los datos obtenidos de diversas investigaciones indican de manera objetiva que la Alcalasa® ha generado péptidos óptimos, en su mayoría del mismo tipo de peces y con la misma acción no oxidante.

La clase de enzima empleada para la Hidrolisis es un factor que va a permitir determinar la eficiencia optima y adecuada de la acción no oxidante. Una investigación plasmada y realizada en la Zhejiang Ocean University de China demostraron que diferentes péptidos obtenidos a través de la anchoa cuyo nombre científico es *Setipinna taty*, es posible debe ser empleados como unos buenos y beneficiosos antioxidantes en el sector alimentario y farmacéutico, por las propiedades optimas mencionadas. (Song et al., 2015).

Un método o mecanismo más adecuado para mantener las diversas propiedades y efectividad que poseen los péptidos es la de encapsulación, debido a que permitemantener por un mayor tiempo la eficiencia y efectividad de los péptidos de pescado. El mecanismo

indico datos muy notorios y óptimos, más que todo por el tiempo que mantiene la acción no oxidante, por ende, también posee un bajo precio comercial (Zavarese et al., 2014).

De acuerdo con Jemil et al., (2014). Se ha observado las diversas características anti-bacteriales, de los péptidos. Un reciente estudio indico de manera visual que los péptidos obtenidos a través de la sardinilla cuyo nombre científico es *Sardinella aurita*, y de otras especies como la *Sardinella aurita* que presenta el nombre científico de *Salaria basilisca* o finalmente la raya látigo que presenta el nombre científico de *Dasyatis pastinaca*, indicaron unas optimas características antioxidantes que estaban en función a la dosis empleada para dicha finalidad. De igual modo, los péptidos presentaron una óptima acción antimicrobiana, y en su conclusión respecto a la comparación los de la sardinilla dieron datos más precisos y eficientes, para ser más exactos contra microorganismos Gram positivos.

Del mismo modo, se ha examinado y analizado la acción antimicrobiana de los péptidos, originados a través de una hidrolisis enzimática realizados a la carpa plateada cuyo nombre científico se denomina *Hypophthalmichthys molitrix*; que fue realizado con 4 tipos de enzimas diferentes. Dando como resultado que la enzima Flavourzyme® presentaron las condiciones más optimas y adecuadas respecto a la acción microbiana. Con esta investigación se puede corroborar la óptima efectividad que presenta contra los microorganismos tóxicos, por ende, surgió la idea de emplearlo como distribuidores de zinc nativo respecto a los patógenos antimicrobianos en la Industria alimentaria. (Jiang et al., 2014).

2.2.7. Resultados de los péptidos respecto a la salud.

La acción terapéutica de las sustancias nativas es una de las acciones que brindan beneficios óptimos y esto ha llamado la atención de la mayoría de investigadores durante las últimas décadas. Se han probado y justificado los beneficios antiinflamatorios que

presentan los músculos de pescado, como, por ejemplo, la aleta del Salmon se ha hallado una molécula denominado tripéptido que permite la estimulación inhibidora del NO, lo cual permite y brinda la regulación de respuesta inflamatoria.

Este fenómeno es de lo más normal en los péptidos que presentan un elevado potencial antiinflamatorio; entre ellos se encuentra la prostaglandina que es un compuesto que brinda diversos efectos óptimos sobre el musculo y baja de manera considerable la presión sanguínea; el NO equilibra diversos mecanismos fisiológicos, como por ejemplo la neurotransmisión, constricción del músculo y las acciones citotóxica; no obstante, si existen elevadas proporciones de NO esto normalmente se unen a enfermedades como la artritis, Alzheimer o Parkinson. (Gómez, González & Medina, 2011).

Visto de otro punto de vista los diversos efectos respecto a la salud que generan los péptidos dentro de un individuo aún siguen en investigación. Diversos ensayos y muestreos en ratas han informado que los péptidos extraídos del pez carbonero cuyo nombre científico es *Pollachius virens*, presentan taurina y glicina que brindan una elevación en los diferentes niveles de ácidos biliares en plasma más que todo en ayunas en función a las ratas alimentadas con proteína de soya o caseína.

Respecto a la diabetes y a las dificultades renales presentes u originados por diversos riesgos y en la gran variedad de los casos, las investigaciones realizadas indicaron que los péptidos disminuyen la proporción de creatinina y urea dentro de las ratas infectadas con diabetes empleando Alloxan también denominado 2, 4, 5,6-pyrimidinetetrone, que servía como medio inductor. Estos datos expresaron de manera oportuna que los péptidos originados a través de *Salapia Basilisca* adquiridas a través del medio enzimático, la acción no oxidativa puede generar un atraso respecto a las

dificultades diabéticas y por ende es posible ser admitido como sub-ingrediente en diversos compuestos elaborados por las Industrias farmacéuticas. (Ktari et al., 2014).

Respecto al metabolismo lipídico hepático, un conjunto de investigadores de la Universidad de Noruega demostró que las actividades de las proporciones peptídicas de los compuestos obtenidos del Salmon más conocido científicamente como *Salmo salar* adquiridas a través de diversos mecanismos enzimáticos sobre el metabolismo. La labor avanzada indicó que los péptidos son capaces de ser separados de los hidrolizados de Salmon y que de igual manera benefician de manera proporcional al metabolismo grasoso del hígado. (Vik et al., 2015).

Las investigaciones respecto a los compuestos del sector pesquero ha sido de mucho interés respecto a los logros científicos de acuerdo a las epidemias globales, así como el cáncer. Los péptidos obtenidos de diversos pescados como por ejemplo el bacalao o Salmon han obtenido resultados óptimos y buenos respecto a la propiedad inhibidora del aumento de tamaño adecuado de dos líneas de células respecto al cáncer (Picot et al., 2006). Aquellos péptidos son compuestos de una solución demasiado compleja aminoácidos, estos péptidos van desde tamaños de 7 KDa y de una baja relación de grasas y NaCl. La proporción de las sustancias es una novedosa ciencia que se encarga de purificar péptidos frente al cáncer, siendo una óptima alternativa para emplearlo en el avance de sustancias con características anti-proliferativas. Un ejemplo convencional sería la demostración del fenómeno protector que posee dentro del intestino respecto al péptido extraído de la merluza y de igual manera la disminución de la apoptosis. (Marchbank, Elia & Playford, 2009).

De acuerdo con Landsberg et al. (2015) indica que, en el sector de la conducta mamífera, se aprecia una indagación en donde se añadió péptidos adquiridos del pez

blanco denominado científicamente como tipo Gadidae, empleado como suplemente dietético brinda un gran beneficio respecto a la disminución de la ansiedad.

2.2.8. Los péptidos en el sector alimentario

Los péptidos en los últimos años han sido una fuente con gran significancia respecto a la mejora y valor agregado de otras sustancias, de igual manera los mecanismos tecnológicos respecto a su obtención. Los péptidos obtenidos de la hueva de atún se han empleado con el fin de aumentar las características emulsionantes de diversos alimentos, uno de ellos son las salchichas de bagre, se emplea para aumentar las características físico-mecánicas del producto, brindando mejoría en su fuerza y resistencia, de igual manera brinda burbujas de lípidos más refinados, volviendo su emulsión más equilibrada y por ende no origina alguna consecuencia en las características organolépticas, debido a que podrán evitar el avance de rancidez ya que presenta de igual manera características no oxidantes.(Intarasirisawat et al., 2014).

El añadir péptidos a los geles de actomiosina proveniente del bacalao, se ha justificado de manera oportuna y eficaz la protección de actomisoma en los mecanismos de congelación-descongelación, de igual manera se ha incrementado la estabilidad térmica de las proteínas viéndose óptimamente en el incremento de T° de desnaturalización, lo ocasionado disminuye diversas variabilidades en su estructura cambiando la textura del producto obtenido.

Los péptidos obtenidos de los restos de surimi se han indagado respecto a sus características estructurales. El °GH es un factor de vital importancia que influye de manera directa sobre estas, un ejemplo claro es la repulsión al agua de los péptidos, ya que es perjudicada respecto a ese valor, de igual manera el empleo de Alcalasa® y Protamex® que son conocidas convencionalmente como enzimas sinérgicas, ayudan al incremento de la solubilidad del compuesto en un 70% mas y respecto a los pH de 3

hasta 9, del mismo modo los péptidos de enlaces extensos poseen una optimas características visuales, no obstante, mientras más tiempo se hidroliza la sustancia se perjudican de manera no oportuna las características térmicas del compuesto. (Liu et al., 2014).

También es preciso informar que el péptido obtenido debe poseer unas características funcionales, debido a que si ese factor es óptimo puede ser empleado de forma óptima en diversos alimentos. Se ha podido observar que en la funcionalidad de los péptidos están en función a las dimensiones y las características químicas.

De esa manera para la obtención de péptidos con unos estándares de características apropiados y óptimos es de vital importancia ejecutar el control respecto a la clase de enzima empleada y de igual manera el °GH de la reacción. Tres etapas de °GH respecto a las características fisicoquímicas de péptidos, adquiridos de cobia cuyo nombre científico es *Rachycentron canadum*, fueron analizados e indagados por diferentes científicos de Malasia empleando de manera directa el enzima Alcalasa®.

Los datos obtenidos dieron resultado respecto a las divergencias de acuerdo a las grasas, cenizas y con un elevado °GH siendo este el 96% brindo un historial de aminoácidos respecto a las exigencias nutricionales en los individuos, no obstante, se excluyó a la metionina e isoleucina. Los tres ejemplares de péptidos se caracterizaron por tener un excelente color, propiedad emulsionante y espectaculares características espumantes, de igual manera se observaron aumento de mejoras en la propiedad de retener humedad y grasas, así mismo también en la solubilidad del péptido. (Amiza, Kong & Faazaz, 2012).

Los péptidos presentan aparte de los beneficios en sus características nutricionales, también características biológicas. Esto se observa en la caracterización de los péptidos obtenidos a partir del pez barbo que presento un óptimo potencial no

microbiano frente a las bacterias Gram-positivas entre las cuales se pueden describir de manera detallada por su nombre científico la primera es la *Listeria monocytogenes*, la segunda sería *Staphylococcus aureus*, la tercera sería *Bacillus cereus*, entre otras más, de igual forma también frente a las bacterias Gramnegativas que de igual manera se describe por sus nombres científicos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp.*, con esto se puede observar la vital importancia que presenta respecto al sector alimentario, debido a que los péptidos pueden ser empleados de manera oportuna como conservantes en el acopio de productos cárnicos, disminuyendo de manera óptima el uso de sustancias químicas respecto a la conservación. (Sila et al., 2014).

2.2.9. Novedosas tecnologías respecto a la obtención de péptidos

Actualmente uno de los desafíos más importantes que se presenta en este ámbito es el de crear nuevas tecnologías con la finalidad de optimizar el mecanismo de hidrólisis a partir de diversas y novedosas enzimas que brinden una rentabilidad más económica, una enzima que aún sigue en indagación son las generadas en los estómagos de animales, esto se debe a que poseen un elevado y adecuado contenido hidrolítico (Benhabiles et al., 2012). Así mismo también otro mecanismo en el cual se estudia y enfoca respecto a la optimización de los mecanismos, es el de obtención de péptidos a partir de la tecnología de membranas, lo cual es un método demasiado alentador y prometedor respecto a la división de péptidos.

La acción de las enzimas tanto endógenas como exógenas, las cuales se ha realizado una exhaustiva investigación junto con el empleo de pretratamientos enfocados al calor sobre la eficiencia y estructura de péptidos y aminoácidos. En una de las indagaciones se descubrió que los péptidos obtenidos a partir del *Salmo salar* también conocido por su nombre científico de *Salmo salar*; no se observan divergencias de vital importancia al emplear dos enzimas diferentes, así como la papaína + bromelina. No

obstante, el aumento de una T° mayor a 68°C interviene de manera directa no positiva en la obtención de péptidos, lo que no se observa a T° aproximadas de 39°C , del mismo modo dedujeron que las divergencias de las condiciones respecto a la obtención de péptidos a escala de laboratorio en frente a un nivel industrial, puede ser originado en función a una poca eficacia en la hidrólisis, en los mecanismos de división y en las condiciones de conservación. (Opheim et al., 2015).

Durante las últimas décadas se ha podido observar de manera favorable el aumento de la bibliografía respecto a los péptidos obtenidos de diversos alimentos, no obstante, las indagaciones empíricas y la bio-informática ha brindado información in vitro, dando como justificación el avance de los péptidos como nutracéuticos y alimentos funcionales beneficiosos para el ser humano.

Diversos problemas se han de superar durante la travesía hacia el mercadeo de estas sustancias. Seguidamente de la necesidad de emplear e innovar diferentes métodos económicos para su producción a gran escala, el movimiento óptimo de la tecnología directo al mercado necesita la normalización de diferentes mecanismos analíticos con el fin de asegurar la óptima calidad del producto, el análisis de sus características sensoriales para el consumo humano, y lo más resaltante y de vital importancia, los ensayos clínicos con el fin de brindar pruebas sólidas con el fin de brindar apoyo a las exigencias de la salud. (Li-Chan, 2015).

2.3. Definiciones Conceptuales

Aminoácidos

Es una molécula orgánica constituida de un grupo amino y un grupo carboxilo.

Análisis Físicoquímico

Es el estudio relacionado entre las propiedades físicas y la composición del sistema.

Cenizas

Es el producto de la combustión de un material, formado por compuestos inorgánicos no combustibles, así como las sales minerales.

Grasas

Son diversas clases de lípidos, aunque normalmente se refieren a los acilglicéridos, en donde varios ácidos grasos se unen para formar una molécula de glicerina, obteniendo mono glicéridos, di glicéridos y triglicéridos.

Hidrolisis

Es la ruptura, descomposición o alteración que ocasiona una sustancia química por el uso del agua.

Humedad

Proporción de agua localizada en el interior de un cuerpo.

Péptidos

Clases o tipos de moléculas obtenidas por la conexión de diversos aminoácidos por medio de enlaces peptídicos.

Proteínas

Son macromoléculas constituido por cadenas lineales de aminoácidos.

2.4. Formulación de Hipótesis**2.4.1. Hipótesis General**

Es posible realizar un estudio comparativo de la obtención de péptidos para la reutilización de los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) mediante la Hidrolisis enzimática.

2.4.2. Hipótesis Específicas

- Es posible caracterizar fisicoquímicamente los residuos de anchoveta (piel, vísceras , escamas) emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020.
- Es viable determinar el grado de Hidrolisis dentro del proceso de reacción de los residuos de anchoveta (Cabezas, vísceras, colas y escamas) emitidos por las diversas industrias de la provincia de Huaura.
- Se puede caracterizar fisicoquímicamente las muestras obtenidas después de la Hidrolisis enzimática aplicada a los residuos emitidos por las diversas industrias pesqueras de la provincia de Huaura -2020.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño

3.1.1. Tipo de investigación

Dicho trabajo de indagación efectuado por medio de una indagación descriptiva y empírica.

3.1.2. Nivel de investigación

Conforme el carácter de la indagación el nivel adecuado para esta tesis es cuasiexperimental a nivel de laboratorio.

3.1.3. Diseño

El diseño sistemático se enfoca en el siguiente mecanismo:

Primeramente se recolecto los residuos de anchoveta provenientes de tres diferentes industrias pesqueras ubicadas en la provincia de Huaura, seguidamente hicimos una previa separación de este enfocándonos en las partes donde el Hidrolizado peptídico es mayor; estos fueron Cabezas , vísceras, colas y escamas de acuerdo a la literatura; posteriormentelo mezclamos y licuamos con agua destilada proporción (1:1) ; luego lo sometimos a unaesterilización en un autoclave a una temperatura de 70°C y un tiempo de 10 minutos , luego lo dejamos enfriar durante 30 minutos , después le añadimos el disolución de enzima más agua destilada y NaOH en proporciones relativas (1:1) , este es un factor muyimportante debido a que la relación correcta ayudara considerablemente a obtener péptidos de un mayor valor ; después de haber realizado la Hidrolisis enzimática se sometido a la inactivación de la enzima elevándola a 90°C ,luego enfriado y posteriormente se sometió a centrifugación durante un tiempo de 20 minutos y una velocidad de 4000 rpm , dicha parte experimental se realizó en el laboratorio de planta piloto de procesos orgánicos A-107-108 de la Facultad de Ing. Química y Metalúrgica. En breve se observa el esquema de bloques (BPD) propuesto basado en la elaboración de

péptidos a partir de los residuos emitidos por las industrias pesqueras en la provincia de Huaura y que consta de las siguientes fases o etapas:

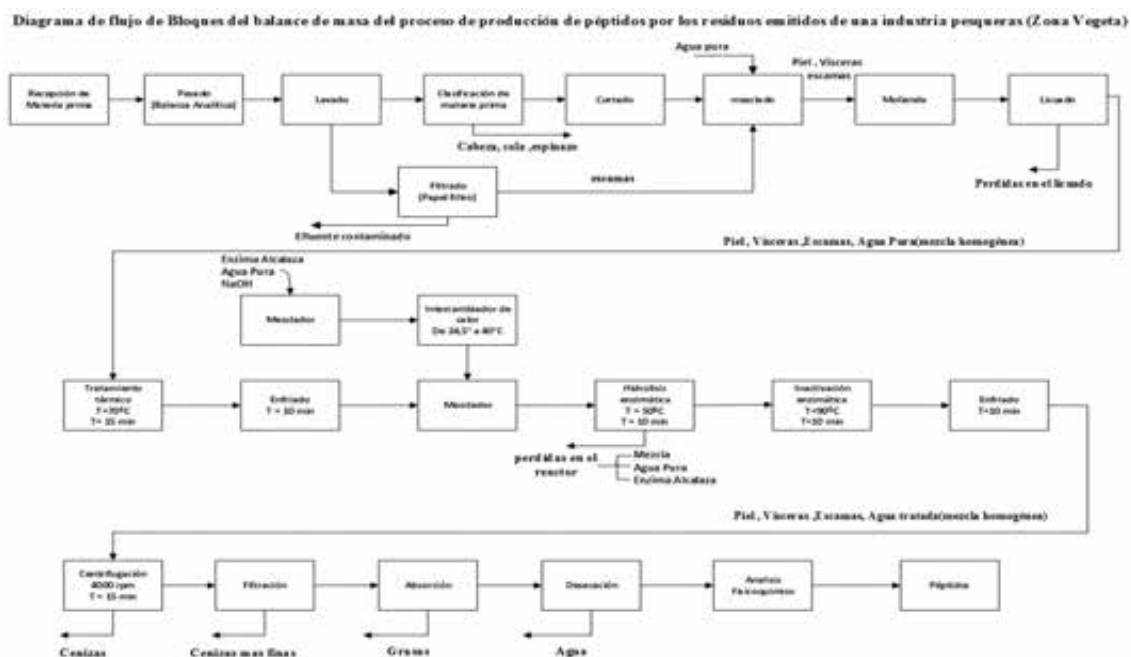


Ilustración 1. Diseño sistemático detallado de la investigación

3.1.4. Enfoque

La indagación se guiará a cabo para lograr obtener información respecto a la calidad y valor de péptidos obtenidos de los residuos de anchoveta emitidos por las industrias pesqueras en la provincia de Huaura, debido a esto se ejecuta de acuerdo con un perspectiva aplicativa-cuantitativa.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

El enfoque poblacional está formado por los residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*) emanados por las industrias pesqueras:

- ✓ Caleta de Carquín (Pesquera Bahía S.A.C)
- ✓ Huacho (Industria Don Martin S.A.C)
- ✓ Végueta (Pesquera Hayduk S.A.C)

3.2.2. Muestra

La muestra empleada en esta investigación fue de 150 gramos de cada residuo, entre ellos (Cabezas, Vísceras, cola), en total sería unos 450 gramos de residuos aproximadamente de cada zona de la provincia de Huaura.

3.3. Operacionalización de las variables

Variable dependiente: Obtención de péptidos

Variable independiente: Residuos de anchoveta (*Engraulis ringens*)

Tabla 1. Cuadro de operacionalización de variables

	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Dimensiones
Obtención de péptidos	Es la secuencia o procedimiento en que una proteína se degrada a través de una enzima, obteniéndose una cadena de aminoácidos enlazados por un enlace peptídico.	Para la obtención de péptidos se utilizó la enzima proteasa en Hidrolisis enzimática con el propósito de romper los enlaces de las proteínas.	Parámetros físicoquímicos Grado de Hidrolisis	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cenizas ✓ Humedad ✓ Proteínas ✓ Grasas ✓ Baja ✓ Media ✓ Alta
Residuos de anchoveta <i>(Engraulis ringens)</i>	Son residuos no utilizados en las industrias, lo cual se desecha al mar ocasionando una polución ambiental, visual y marítima en la provincia de Huaura.	La obtención de los residuos de anchoveta se obtendrá de las diferentes zonas de huacho, vegeta y Caleta de Carquín, con lo cual solo trabajaremos con las escamas, vísceras y piel.	Parámetros Físicoquímicos Tipos de residuos Zonas de obtención	<ul style="list-style-type: none"> ✓ PH ✓ Humedad ✓ Cenizas ✓ Grasas ✓ Cabezas ✓ Vísceras ✓ Cola ✓ Huacho ✓ Vegeta ✓ Caleta de Carquín

Fuente: Elaboración propia

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Tecnologías por aplicar

Las tecnologías adoptadas e utilizadas en función a la recopilación de datos serán de aspecto directo, así como la indagación directa y adquisición de información a través de documentales, artículos y tesis adquiridas con el fin de analizar y extraer datos para posteriormente procesarlos en un diagrama de flujo. Así mismo para la fase empírica se empleará tecnología apropiada y adecuada en donde se usará las normas técnicas y reglamentos vigentes debido a la tecnología empleada y manejo de los residuos sólidos de anchoveta.

3.4.2. Descripción de los instrumentos

Las herramientas respecto al acopio de datos fueron:

Tabla 2. *Instrumentos a utilizar*

Nombre	Modelo	Marca
Balanza analítica	Adventura AR0640	Ohaus
PH metro	Basic 2.0 +	Crison
Multímetro	Lambda EZ 201	Perkin Elmer
Pipeta volumétrica	Pírex	----
Libreta de campo	Mediana	Scribe
Laptop	z-400	Lenovo
Pen drive	2.0	Drive
Hojas Bond	Oficio A-4	Atlas

Fuente: Elaboración propia

3.5. Técnicas para el procesamiento de información

Respecto al proceso de información, se utiliza diversos estudios los cuales serán registrados mediante softwares y programas específicos, así como el Microsoft: Word, Excel, Visio, Visual Basic y Minitab.

3.6. Métodos empleados para el análisis fisicoquímico de las muestras

En breve se muestran los métodos empleados en esta investigación para la obtención de los datos de acuerdo con la caracterización fisicoquímica de las muestras.

3.6.1. Método empleado para el cálculo de Humedad

El régimen empleado he utilizado en este análisis es el secado por estufa; el cual consiste en determinar la humedad por diferencia de peso comprendido entre la sustancia seca y húmeda; seguidamente se emplea la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de humedad}(\%) = \frac{(W - H) - (S - H)}{(W - H)} * 100$$

H = Masa del recipiente desecado e higienizado (gr.)

W = Masa del recipiente + ejemplar húmedo (gr.)

S = Masa del recipiente + ejemplar desecado (gr.)

3.6.2. Método empleado para el cálculo de Cenizas

El régimen empleado para la determinación del porcentaje de cenizas respectoa la gran cantidad de alimentos se denomina Calcinación. Se denomina a la sustanciatotal no orgánico que se va a emplear como muestra. Esto normalmente se efectúa dentro de un crisol que con anterioridad se limpió. Se somete la muestra dentro del crisol directamente en una mufla y se ajusta la temperatura a 580°C durante un periodo de 120 minutos, posteriormente se enfría y deseca, para los cálculos se aplica dicha formula:

$$\text{ceniza} (\%) = \frac{X - Y}{Z} * 100$$

X = Masa del recipiente con el ejemplar (g)

Y = Masa del recipiente con ceniza (g)

Z = Masa del ejemplar (g)

3.6.3. Método empleado para el cálculo de Grasas

Respecto al método efectuado para la determinación de la proporción de grasas, estas se separan con hexano y seguidamente se elimina el solvente a través de la evaporización. Se quita del horno los respectivos matraces encargados a separación sin la necesidad de tocar los matraces con la yema de los dedos, posteriormente se somete a un desecador y se calcula el peso en mg. Se calcula en un dedal de separación empleando instrumentos adecuados como las pinzas, de 4 a 6 g del sustrato desecado y se somete la separación, en este mecanismo de enlaza directamente al extractor el compuesto de hexano manteniendo su proporción de 2/3 del total. Luego se somete a un aumento de temperatura y se observa o prevé que se efectuó 16 reflujos por un periodo de 60 minutos. El tiempo de separación está en función a la proporción de lípidos que posea el sustrato. Terminando de realizar el mecanismo se elimina el hexano por medio de destilación. Lo cual se somete a un horno durante un periodo de 60 minutos para su eliminación. Se deja reposar hasta que llegue a temperatura ambiente y finalmente se calcula el peso en mg.

$$\text{lípidos crudos (\%)} = \frac{B - A}{C} * 100$$

A = Masa del recipiente desecado e higienizado (gr.)

B = Masa del recipiente con grasa

C = Masa del ejemplar

3.6.4. Método empleado para el cálculo de Proteínas

Respecto al mecanismo para hallar el porcentaje de proteínas se efectuaron 3 pasos fundamentales que fueron digestión, destilación simple y valorización.

a. Digestión

En la primera parte se colocó una proporción óptima y adecuada del ejemplar, respecto a la literatura este debe estar de acuerdo a la proporción de nitrógeno, que está

entre el rango de 0.2 y 3.9 g con un margen de error de ± 1 mg. Todo esto es efectuado en un balón Kjeldahl de 450 ml.

En primera instancia se le añadió una pequeña proporción de catalizador y trozos de vidrio, así mismo se le introdujo de 10 a 12 ml de H_2SO_4 puro. Dicho compuesto es de vital importancia que este inmerso dentro del ácido, esto con la finalidad de que no ocurran gastos respecto al nitrógeno.

Posteriormente se conectó el balón a la trampa de H_2O y se sometió a un incremento de temperatura llegando al tope cuando cesa la segregación de espuma; seguidamente se sigue el ciclo hasta terminar con la digestión de la sustancia, cabe recalcar que dentro del matraz no se aprecia partículas no oxidadas y la sustancia toma una apariencia translúcida de color levemente verde. El periodo de digestión esta entre 60 y 120 minutos, finalmente se enfría y se añade de manera cuidadosa una proporción de 80 ml de agua.

b. Destilación

Exhibir el balón con el sustrato ya digerido a un condensador a través de un mecanismo óptimo. Por otro lado, se prepara un Erlenmeyer con 18 – 23 ml de H_3BO_3 3%, en el cual va a servir como recolector del NH_3 que se piensa destilar en este mecanismo, de igual manera se añade fracciones de indicador Mortimer, y se le sitúa a la salida del condensador, teniendo en cuenta que este se coloque inmerso de la disolución Acida. Previamente al enlazar el balón se va añadiendo de manera cuidadosa la proporción adecuado de NaOH 35% disuelta, esto tiene la finalidad de neutralizar el H_2SO_4 .

En primer lugar, sin realizar algún movimiento se vierte el NaOH , posteriormente añadido este se enlaza al balón, se agita de manera precipitada hasta tener una solución

de color pardo oscuro, y al mismo tiempo empieza el aumento de temperatura por convección al balón.

El indicador se torna azul cuando sucede la destilación del NH_3 a través del mecanismo de arrastre de vapor. El mecanismo se sigue efectuando hasta llegar a una cantidad adecuada que son de 90 ml en el Erlenmeyer encargado de la recolección, donde los 60 ml iniciales poseen en su totalidad mayor concentración de NH_3 .

Finalmente logrado el volumen, se separa el Erlenmeyer limpiando de manera cuidadosa el extremo del condensador con AD, esto más que todo para no tener pérdidas minuciosas de nitrógeno y por último se desactiva el mecanismo.

c. Valoración

La muestra obtenida posteriormente del mecanismo de destilación pasa al proceso de valoración con una disolución de H_2SO_4 a 0,2 N.

Finalmente se efectúa un blanco, llevando las indicaciones de estas en los reactivos, pero sin la necesidad de introducir sustrato en el balón.

Ecuación:

$$\text{Proteína total } \% = (V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) * N_{\text{acido}} * 0,014 * F * 100 / g_{\text{muestra}}$$

Siendo:

V_{muestra} = ml de ácido gastados en la valoración de la muestra

V_{Blanco} = ml de ácido gastados en la valoración del blanco

N_{Acido} = normalidad de ácido sulfúrico

0,014 = peso del meq de nitrógeno, en gramos

F = factor de conversión de nitrógeno a proteína

G_{muestra} = peso en gramos de la muestra

Factor de conversión para carnes y pescados = 6,25

3.6.5. Método empleado para el cálculo de grado de Hidrolisis

El método empleado para calcular el grado de Hidrolisis se enfocó en el método pH-stat debido a las ventajas que ofrece entre ellas tenemos:

El pH esta constante de acuerdo con el mecanismo de digestión

El grado de Hidrolisis, se estima de manera rápida y eficaz de acuerdo con la curva de titulación obtenida Dimes & Haard (1994).

De acuerdo con Dimes & Haard (1994) indicaron que dicho mecanismo, es una manera óptima, segura y eficaz de estimar la digestividad de proteínas.

En el mecanismo pH-stat, la proporción de la base empleada para brindar un pH constante es de vital importancia para el cálculo optimo del grado de hidrolisis.

El cálculo se puede hallar a partir del volumen de la solución estándar de la base (NaOH a 0.1 N); lo cual es necesario para conservar el PH de 8.0 en la reacción, seguidamente se emplea la ecuación:

$$h = \frac{B * \frac{1}{\alpha} * N_b}{(M * S\%/100)}$$

B = *ml de base utilizados*

$$\alpha = \frac{10^{(pH * pK)}}{1 + 10^{(pH * pK)}}$$

N_b = *normalidad del titulante*

M = *masa en g de la mezcla de reacción*

S = *concentración de la proteína*

El grado de Hidrolisis se calcula de la siguiente manera:

$$DH \% = \left(\frac{h}{h_{total}} \right) * 100$$

h_{total} = *numero total de enlaces peptidicos*

El número total de enlaces peptídicos de acuerdo con Brauer (1997, pág. 5) se calcula con la media del peso molecular de los aminoácidos residuales. En su mayoría se asume como el peso promedio para los aminoácidos residuales un valor de 120.

Así mismo la bureta de titulación, el medidor de pH y el medidor de temperatura pueden ser conectados y calculados a través de un PC y con una base de datos adecuada, el algoritmo para el cálculo del DH% se partió de:

$$\text{Volumen} = mv \text{ de la bureta} / 50$$

$$pH = 7 + (mv \text{ del pH metro} / 10)$$

$$pK = 8.275 - 0.0233 * T(^{\circ}C) \text{ de reacción}$$

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1. Análisis Físicoquímico de los residuos de pescado

En breve se apreciará los valores obtenidos después de la caracterización físicoquímica sometida a los residuos de anchoveta.

4.1.1. Valores calculados en función a la proporción de Humedad

El método empleado para la obtención de los datos del porcentaje de humedad está plasmado en el diseño sistemático ,apartado 3.6.1, estos datos se verificaron de forma analítica y descriptiva respecto a cada zona de la provincia de Huaura .

Tabla 3. Valores calculados en función a la proporción de Humedad

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	74.48 ± 0.87	73.61	75.35
Vegeta	4	71.05 ± 0.98	70.07	72.03
Carquin	4	75.43 ± 0.60	74.83	76.03

Fuente: Elaboración propia

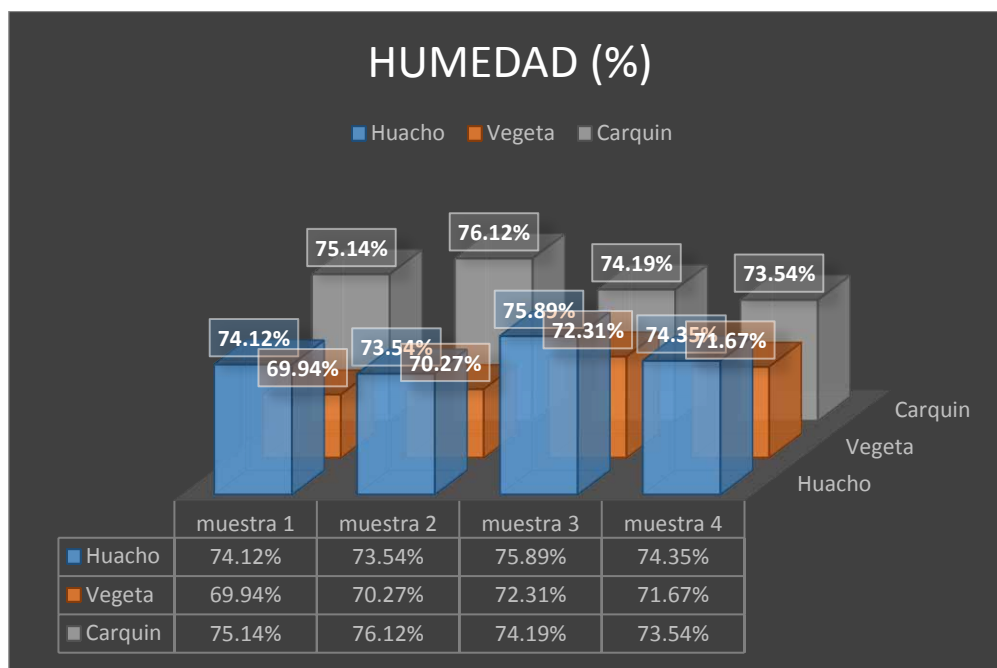


Ilustración 2. Cálculo de la humedad expresada en porcentaje.

4.1.2. Valores calculados en función a la proporción de Ceniza

El método empleado para la obtención de los datos del porcentaje de Ceniza está plasmado en el diseño sistemático apartado 3.6.2 , estos datos se verificaron de forma analítica y descriptiva respecto a cada zona de la provincia de Huaura .

Tabla 4. Valores calculados en función a la proporción de Cenizas

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	5.35 ± 0.45	4.90	5.80
Vegeta	4	5.03 ± 0.63	4.40	5.66
Carquin	4	5.47 ± 0.24	5.23	5.71

Fuente: Elaboración propia

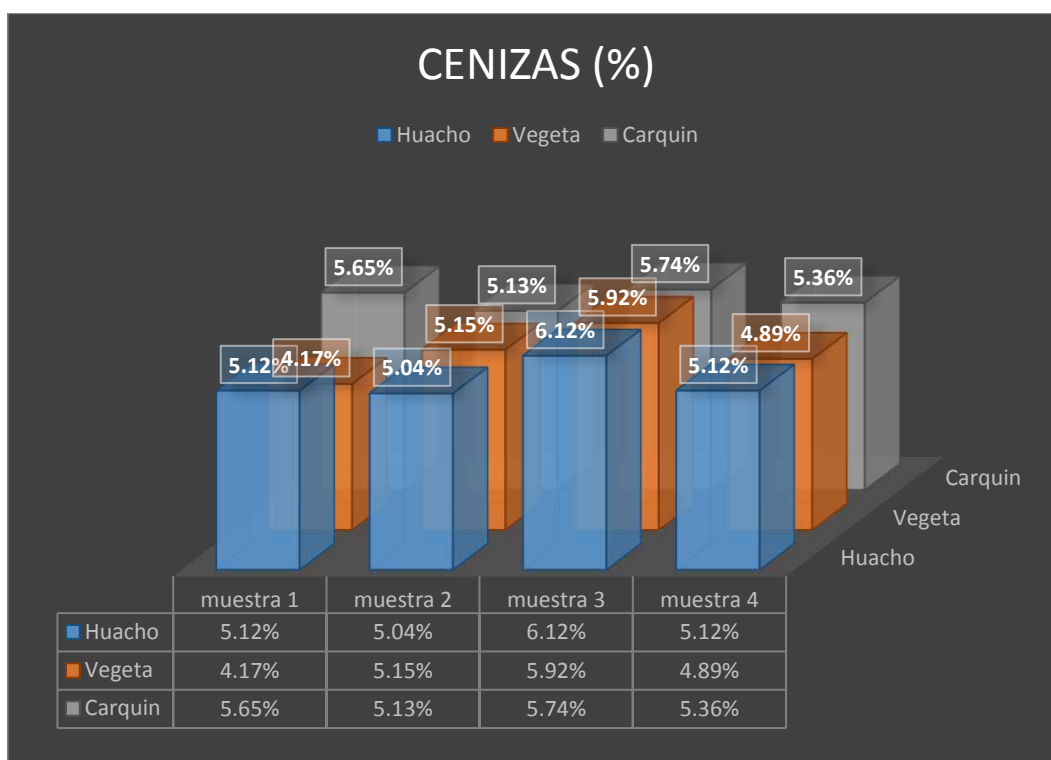


Ilustración 3. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.

4.1.3. Valores calculados en función a la proporción de Grasas

El método empleado para la obtención de los datos del porcentaje de Grasas está plasmado en el diseño sistemático apartado 3.6.3 , estos datos se verificaron de forma analítica y descriptiva respecto a cada zona de la provincia de Huaura .

Tabla 5. Valores calculados en función a la proporción de Grasas

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	7.18 ± 0.06	7.12	7.24
Vegeta	4	7.05 ± 0.20	6.85	7.25
Carquin	4	7.26 ± 0.07	7.19	7.33

Fuente: Elaboración propia

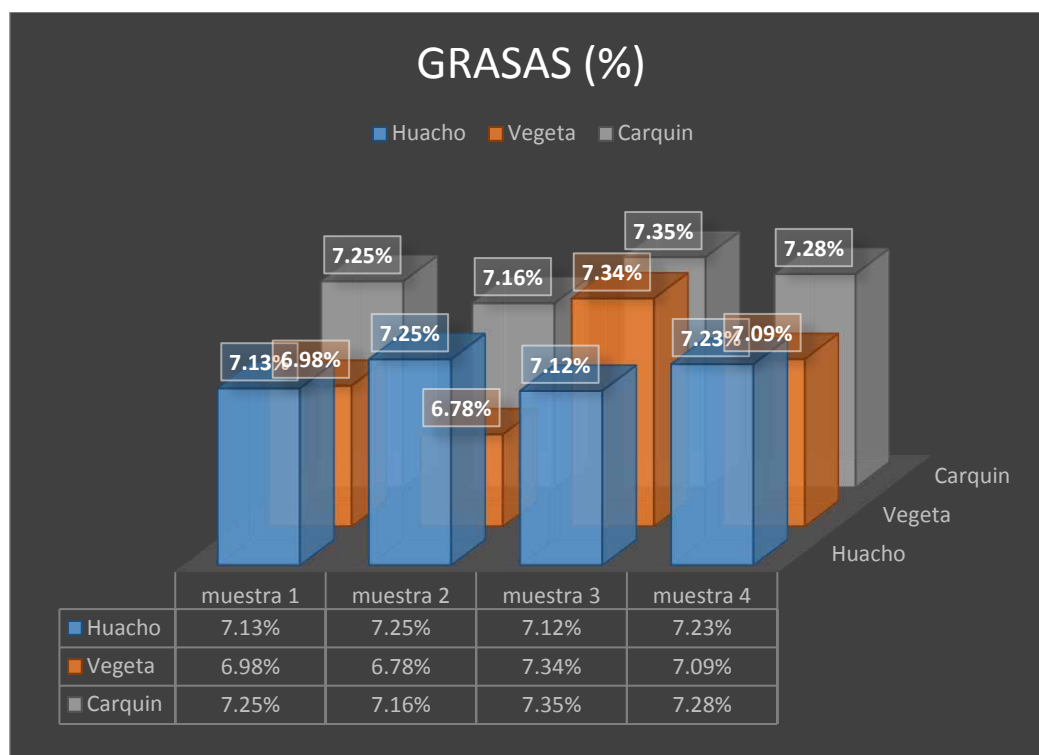


Ilustración 4. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.

4.1.4. Valores calculados en función a la proporción de proteínas

El método empleado para la obtención de los datos del porcentaje de proteínas está plasmado en el diseño sistemático apartado 3.6.4 , estos datos se verificaron de forma analítica y descriptiva respecto a cada zona de la provincia de Huaura .

Tabla 6. *Valores calculados en función a la proporción de Proteínas*

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	13.47 ± 0.35	13.12	13.82
Vegeta	4	16.87 ± 0.14	16.73	17.01
Carquin	4	11.84 ± 0.31	11.53	12.15

Fuente :Elaboración propia

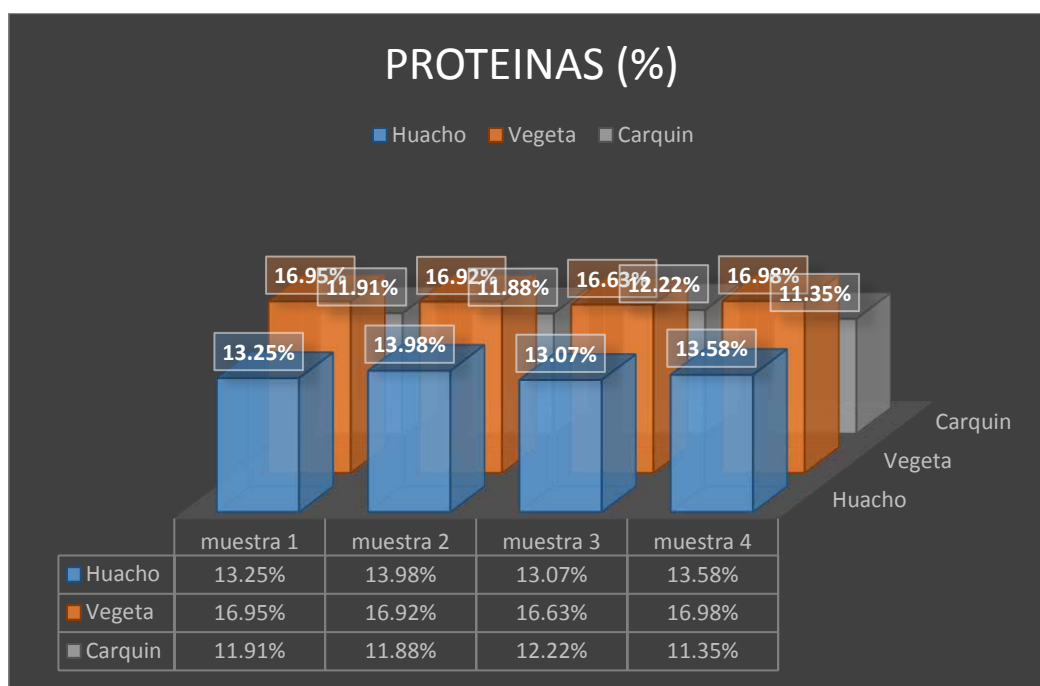


Ilustración 5. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje.

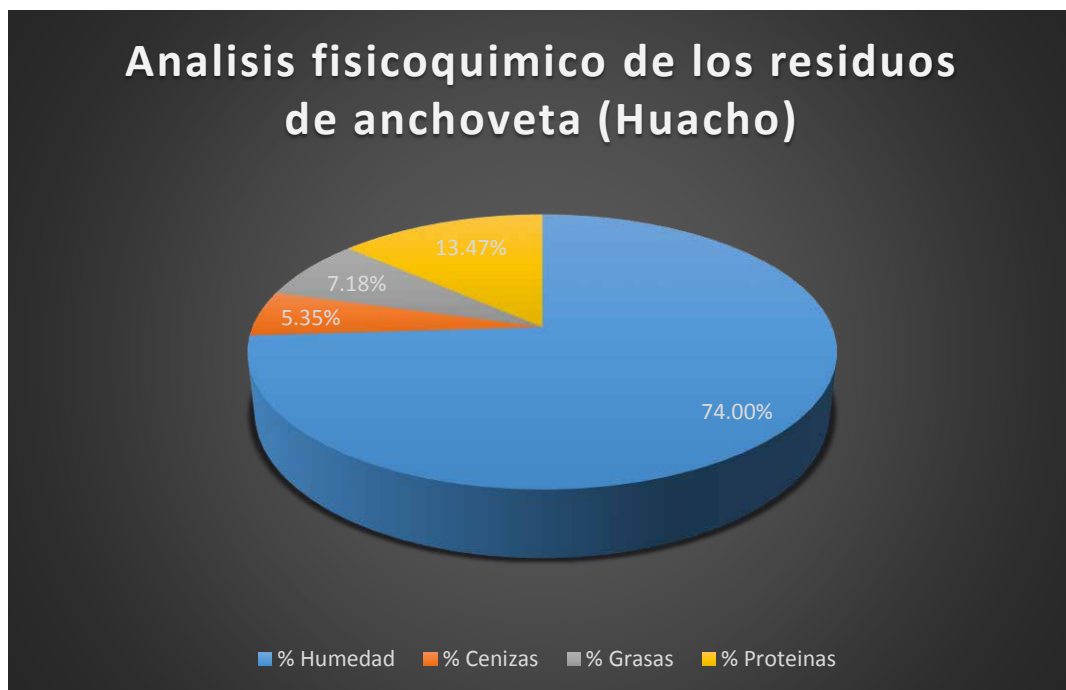


Ilustración 6. Análisis Físicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Huacho

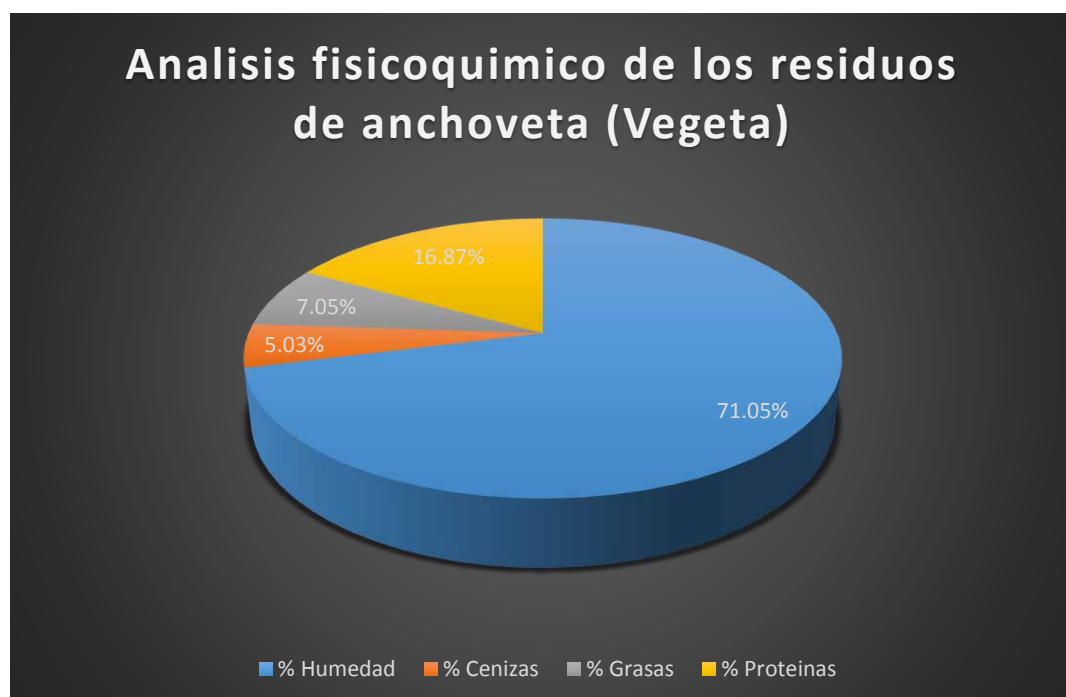


Ilustración 7. Análisis Físicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Vegeta

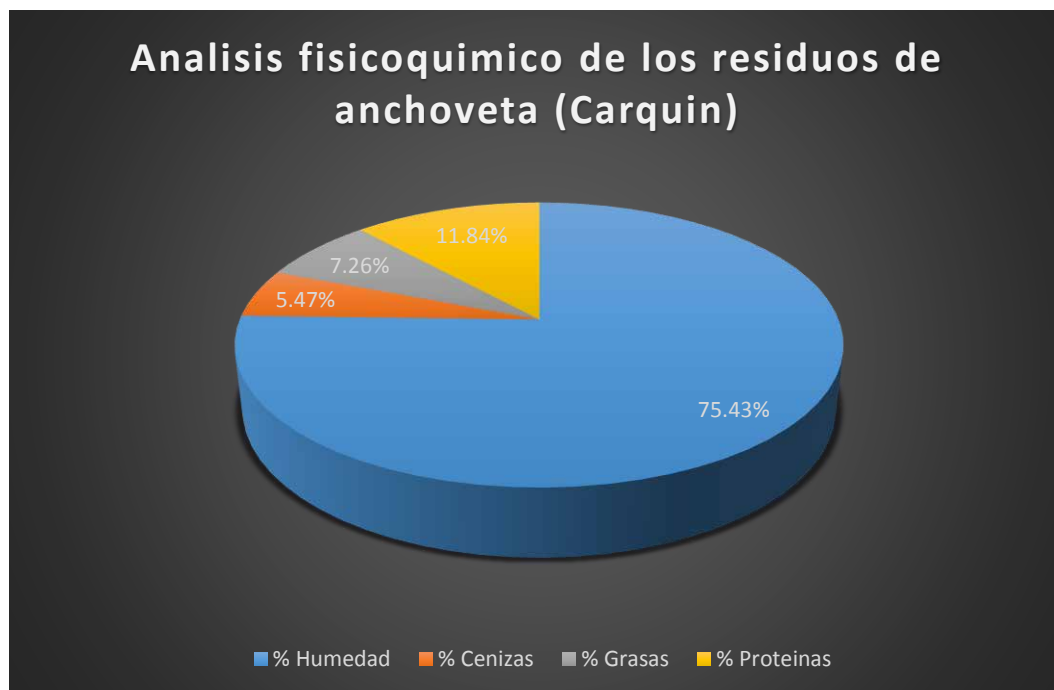


Ilustración 8. Análisis Fisicoquímico de los residuos de anchoveta provenientes de la zona de Carquin

4.2. Determinación del Grado de Hidrolisis (DH %)

4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Huacho

Para la determinación del grado de Hidrolisis se empleó el método pH-stat descrito en el apartado 3.6.7 , se calcularon los valores de concentración a partir del método Kjeldahl , estos valores obtenidos fueron convertidos a mg/ml ; posteriormente se calculó su absorbancia mediante un espectrofotómetro , para seguidamente realizar una curva de calibración entre la concentración obtenida y la absorbancia para así poder estimar los datos para el cálculo de grado de Hidrolisis.

Tabla 7. Datos calculados de la zona de huacho empleando el método Kjeldahl

Tiempo	Huacho (concentración) g/ml	Absorbancia
0	0.1347	1.252
10	0.1978	1.321
20	0.2412	2.076
30	0.3321	2.724

Fuente: Elaboración propia

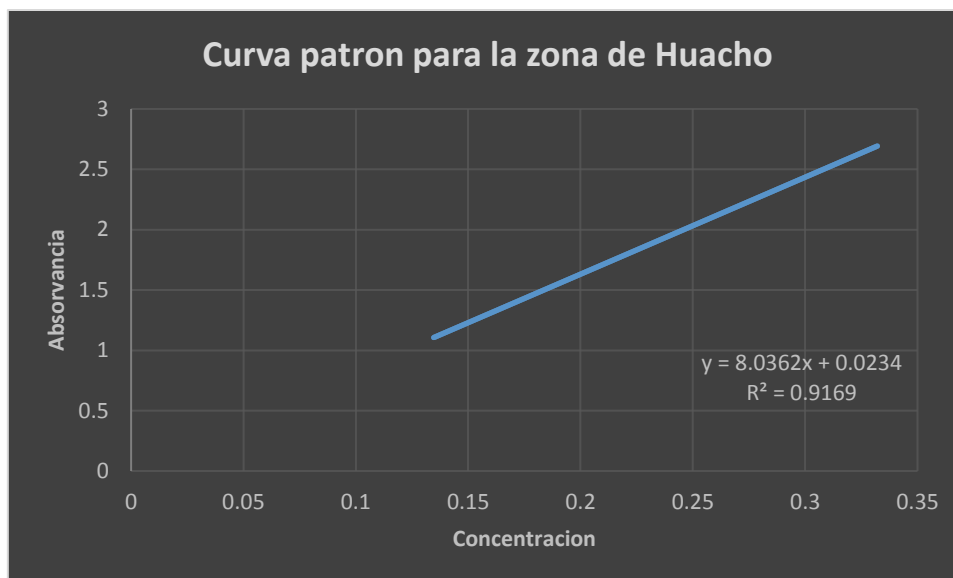


Ilustración 9. Curva patrón aplicado a los valores obtenidos de la zona de Huacho

Datos estimados empleando la curva patrón o curva de calibración para la zona de Huacho para tiempo de Hidrolisis de 5 , 15, 25, 35 y 40 minutos .

Tabla 8. Concentración calculada en función a la curva de calibración

Tiempo	absorbancia	Concentración
5	1.295	0.164
15	1.854	0.228
25	2.476	0.299
35	2.890	0.346
40	3.487	0.414

Fuente: Elaboración propia

Seguidamente empleando la formula dada por el método pH-stat se calcula el grado de Hidrolisis ,teniendo en cuenta que la solución de base para mantener el pH contante a 8 dentro de la reacción es de 0.1 N de NaOH , así mismo empleado la ecuación:

$$h = \frac{B * \frac{1}{\alpha} * N_b}{(M * S\%/100)}$$

En donde α se halla con :

$$\alpha = \frac{10^{(pH * pK)}}{1 + 10^{(pH * pK)}}$$

$$pH = 7 + (mv \text{ del } pH \text{ metro} / 10)$$

$$pK = 8.275 - 0.0233 * T(^{\circ}C) \text{ de reaccion}$$

El grado de Hidrolisis se calcula de la siguiente manera:

$$DH \% = \left(\frac{h}{h_{total}} \right) * 100$$

$$h_{total} = \text{numero total de enlaces peptidicos}$$

El número total de enlaces peptídicos de acuerdo con Brauer (1997, pág. 5) se calcula con la media del peso molecular del amino ácido residuales. En su mayoría se asume como el peso promedio para los amino residuales un valor de 120.

Tabla 9. *Parámetros principales para calcular el grado de Hidrolisis zona Huacho*

Tiempo	B	α	Nb (N)	M (g)	S (%)	h
0	0.9	1	0.1	15	13.47	4.45
5	1.4	1	0.1	15	16.39	5.69
10	1.9	1	0.1	15	19.78	6.40
15	2.3	1	0.1	15	22.77	6.73
20	2.7	1	0.1	15	24.12	7.46
25	4.2	1	0.1	15	29.86	9.38
30	4.4	1	0.1	15	33.21	8.83
40	5.1	1	0.1	15	41.40	8.21

Fuente: Elaboración propia

4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Vegeta

Tabla 10. *Datos calculados de la zona de Vegeta empleando el método Kjeldahl*

Tiempo	Vegeta (concentración) g/ml	Absorbancia
0	0.1687	1.298
10	0.2129	1.409
20	0.2936	2.689
30	0.3647	3.122

Fuente: Elaboración propia

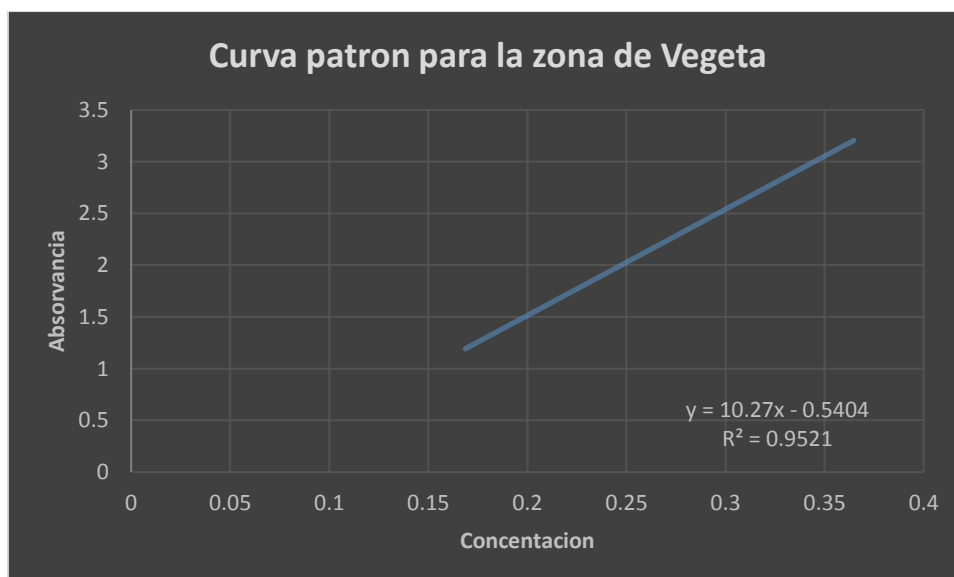


Ilustración 10. Curva patrón de la zona de Vegeta

Tabla 11. *Concentración calculada en función a la curva de calibración*

Tiempo	absorbancia	Concentración
5	1.321	0.185
15	1.874	0.236
25	2.954	0.336
35	3.673	0.403
40	3.987	0.432

Fuente: Elaboración propia

4.2.1. Grado de Hidrolisis zona Carquin

Tabla 12. Datos calculados de la zona de Carquin empleando el método Kjeldahl

Tiempo	Carquin (concentración) g/ml	Absorbancia
0	0.1184	1.042
10	0.1972	1.345
20	0.2716	2.532
30	0.3173	2.987

Fuente: Elaboración propia

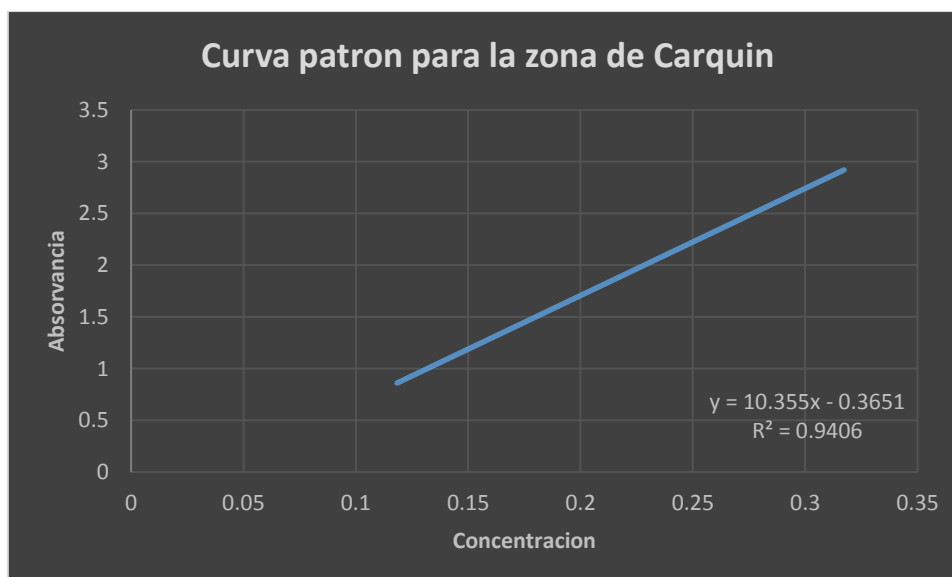


Ilustración 11. Curva patrón para la zona de Carquin

Tabla 13. Concentración calculada en función a la curva de calibración

Tiempo	absorbancia	Concentración
5	1.198	0.155
15	1.983	0.227
25	2.734	0.204
35	2.983	0.318
40	3.432	0.358

Fuente: Elaboración propia

En breve se muestra una tabla donde indica los grados de Hidrolisis respectivos para cada tiempo y para cada muestra de las diversas zonas de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 14. *Grado de Hidrolisis de las zonas de Huacho, Vegeta y Carquin*

Muestra	Zona	Tiempo (min)	Grado de Hidrolisis (%)
01		0	3.71
02		5	4.75
03		10	5.34
04		15	5.61
05	Huacho	20	6.22
06		25	7.81
07		30	7.36
08		40	6.84
09		0	6.26
10		5	7.81
11		10	8.09
12		15	8.24
13	Vegeta	20	8.33
14		25	12.39
15		30	11.72
16		40	10.80
17		0	7.04
18		5	7.86
19		10	9.57
20		15	9.80
21	Carquin	20	10.02
22		25	10.17
23		30	9.80
24		40	8.99

Fuente: Elaboración propia

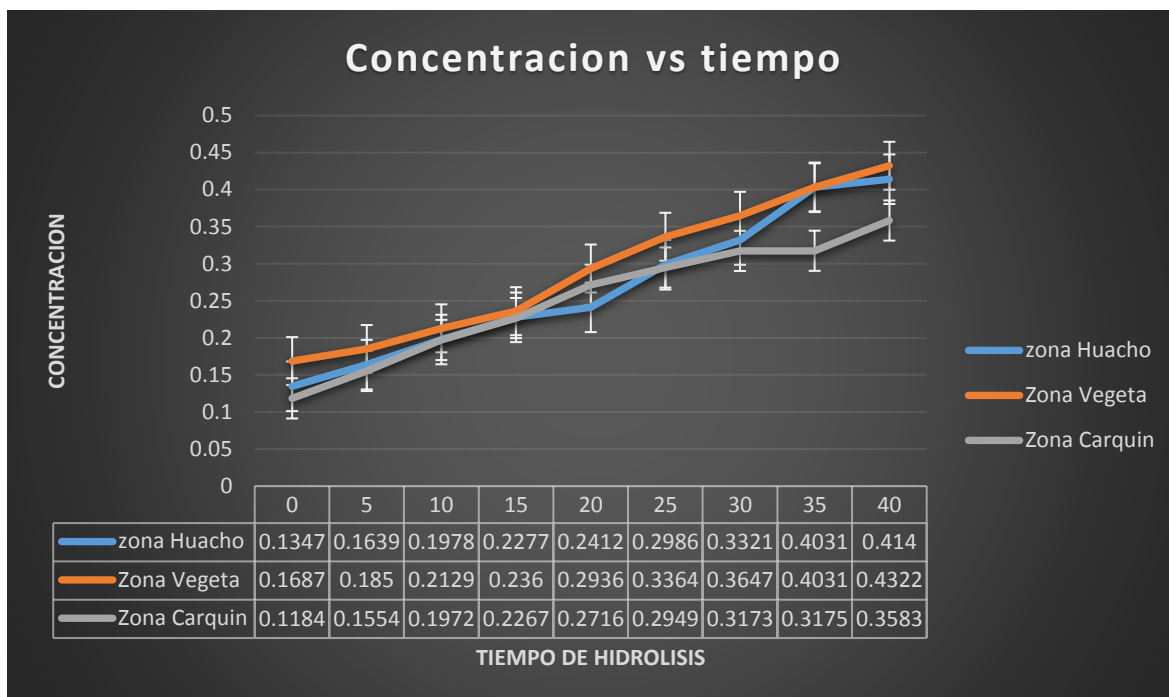


Ilustración 12. Concentración de proteínas respecto al tiempo de Hidrolisis

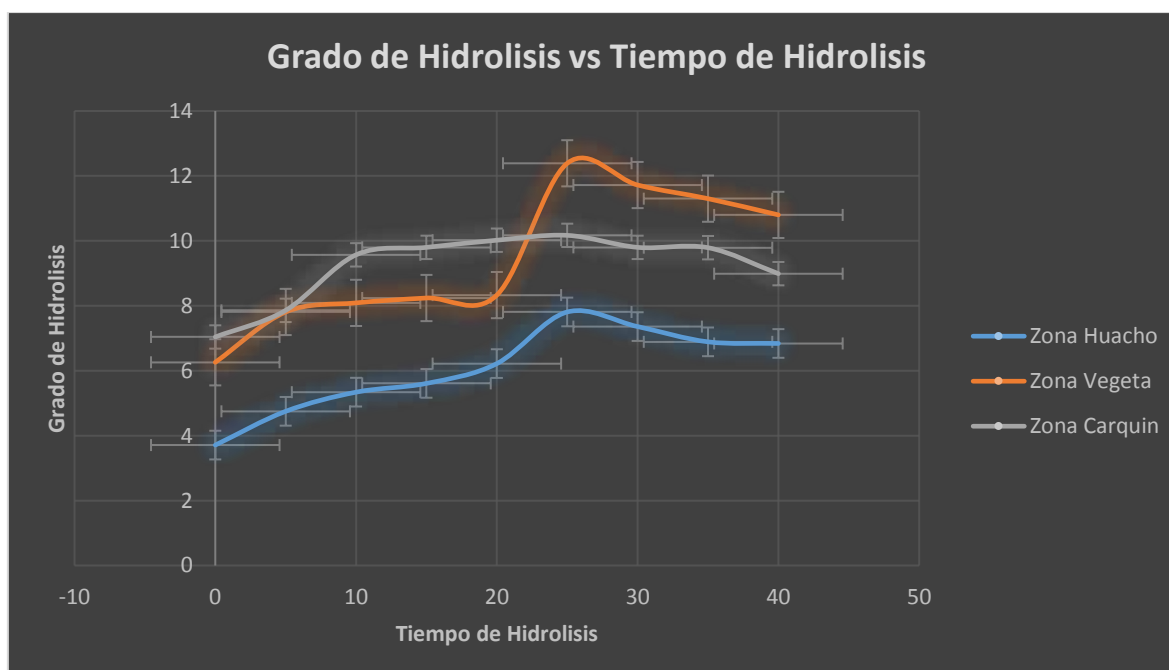


Ilustración 13. Grado de Hidrolisis vs tiempo de Hidrolisis.

4.3. Análisis Fisicoquímico de los péptidos

A continuación, se muestra de forma detallada los resultados obtenidos empíricamente después del proceso de obtención de péptidos.

4.3.1. Valores calculados en función a la proporción de Humedad

Los datos obtenidos empleando el método indicado en el diseño sistemático se prevén de forma sintetizada y ordenada de acuerdo con las muestras obtenidas en función a cada zona de la provincia de Huaura , seguidamente se muestra una grafica comparativa respecto a los valores obtenidos respecto a la proporción de humedad de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 15. *Cálculos en función a la humedad (%)*

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	53.29 ± 0.75	52.54	54.04
Vegeta	4	55.06 ± 0.49	54.57	55.55
Carquin	4	49.66 ± 0.96	48.70	50.62

Fuente: Elaboración propia

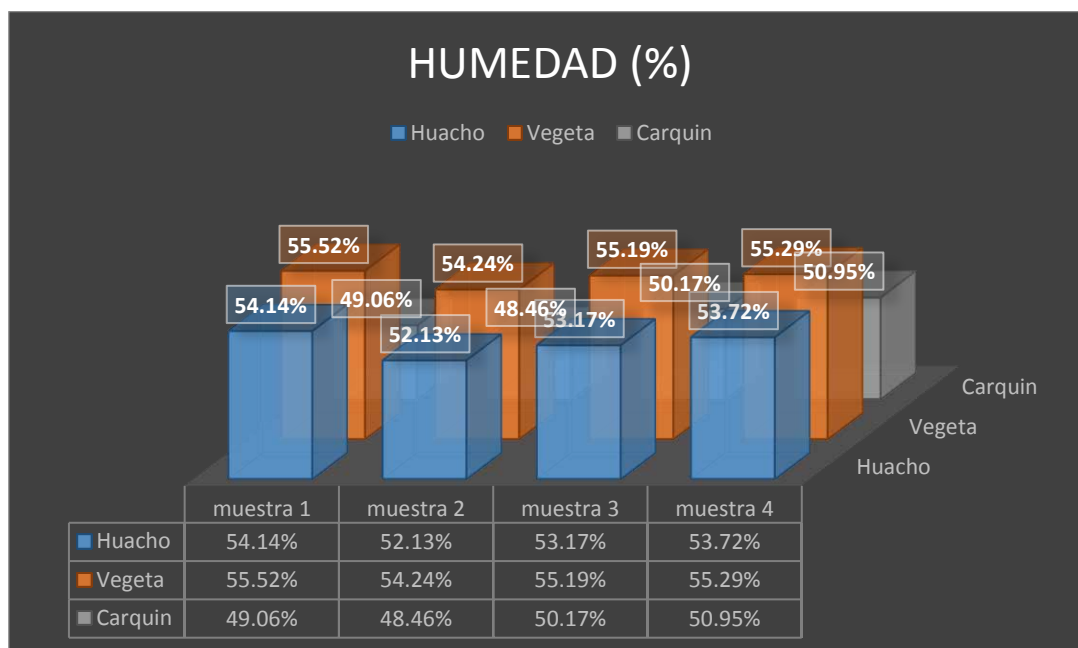


Ilustración 14. Cálculo de la humedad expresada en porcentaje

4.3.2. Valores calculados en función a la proporción de Cenizas

Los datos obtenidos empleando el método indicado en el diseño sistemático se prevén de forma sintetizada y ordenada de acuerdo con las muestras obtenidas en función a cada zona de la provincia de Huaura , seguidamente se muestra una gráfica comparativa respecto a los valores obtenidos respecto a la proporción de Cenizas de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 16. *Cálculos en función a las cenizas(%)*

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	2.93 ± 0.09	2.84	3.02
Vegeta	4	2.48 ± 0.25	2.23	2.73
Carquin	4	3.24 ± 0.37	2.87	3.61

Fuente: Elaboración propia

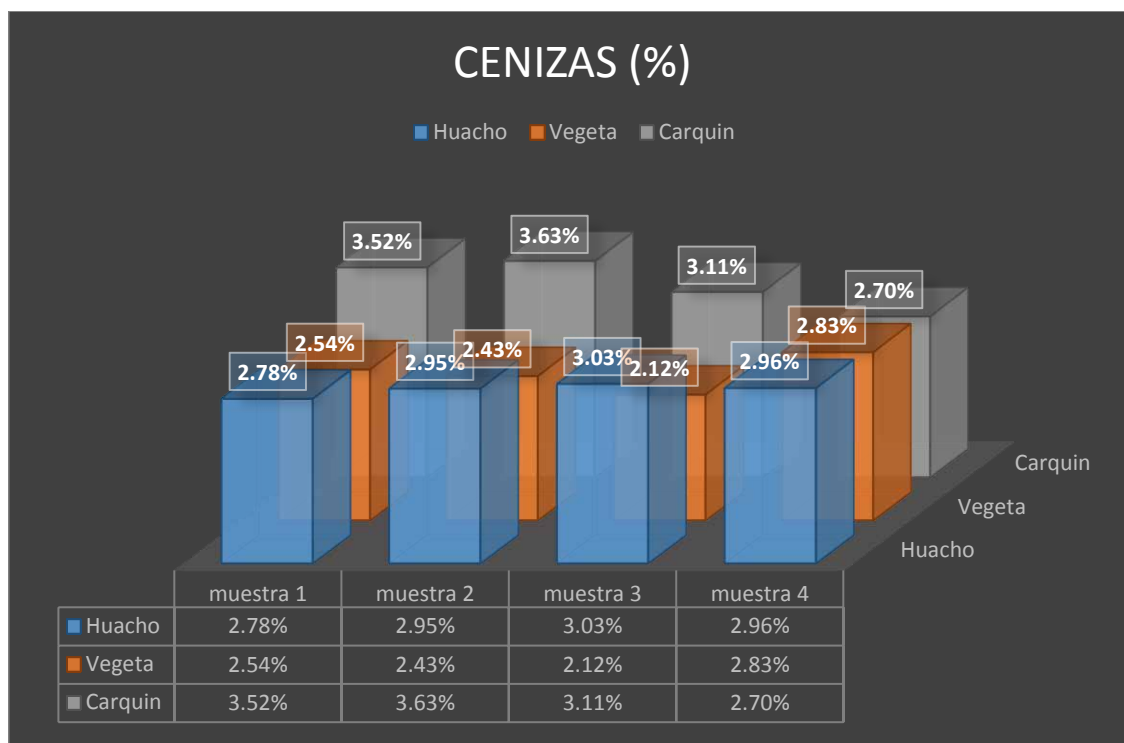


Ilustración 15. Cálculo de las cenizas expresada en porcentaje

4.3.3. Valores calculados en función a la proporción de Grasas

Los datos obtenidos empleando el método indicado en el diseño sistemático se prevén de forma sintetizada y ordenada de acuerdo con las muestras obtenidas en función a cada zona de la provincia de Huaura , seguidamente se muestra una gráfica comparativa respecto a los valores obtenidos respecto a la proporción de Grasas de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 17. *Cálculos en función a las grasas(%)*

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	5.26 ± 0.12	5.14	5.38
Vegeta	4	4.86 ± 0.24	4.62	5.10
Carquin	4	5.18 ± 0.12	5.06	5.30

Fuente: Elaboración propia

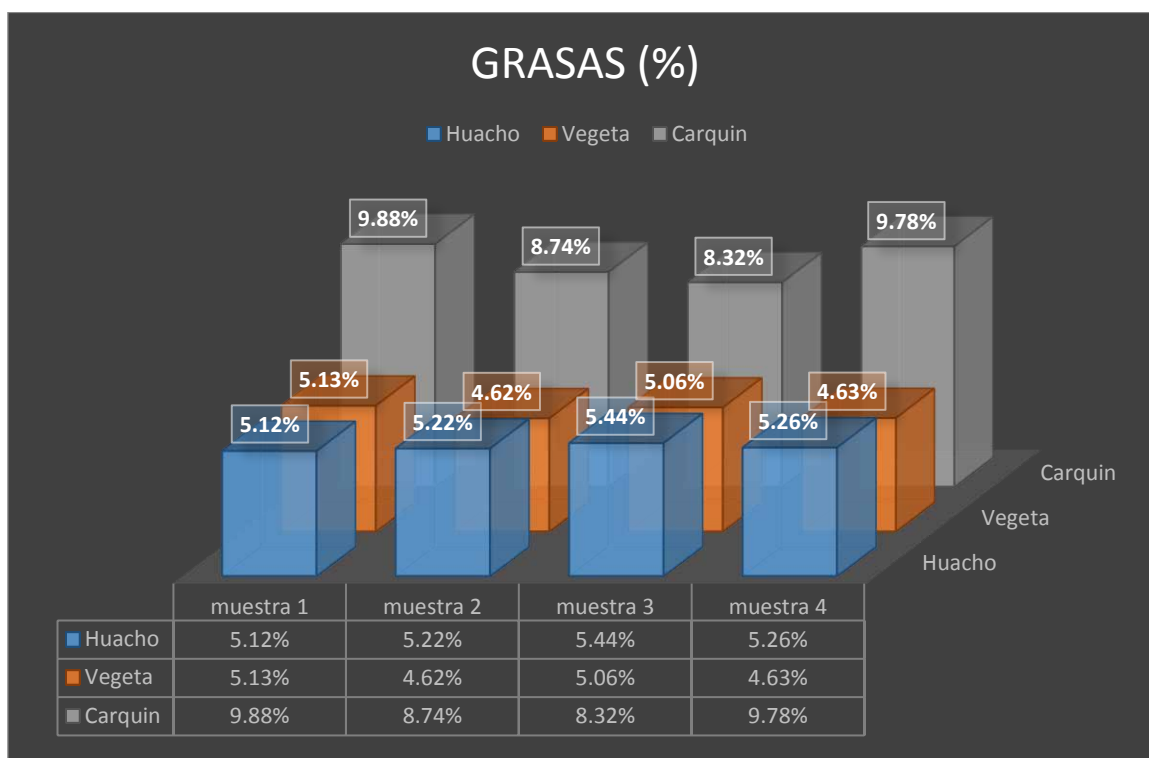


Ilustración 16. Cálculo de las grasas expresada en porcentaje

4.3.4. Valores calculados en función a la proporción de proteínas

Los datos obtenidos empleando el método indicado en el diseño sistemático se prevén de forma sintetizada y ordenada de acuerdo con las muestras obtenidas en función a cada zona de la provincia de Huaura , seguidamente se muestra una gráfica comparativa respecto a los valores obtenidos respecto a la proporción de proteínas de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 18. *Cálculos en función a las proteínas(%)*

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	33.21 ± 0.75	32.46	33.96
Vegeta	4	36.47 ± 0.84	35.63	37.31
Carquin	4	31.73 ± 1.02	30.71	32.75

Fuente: Elaboración propia

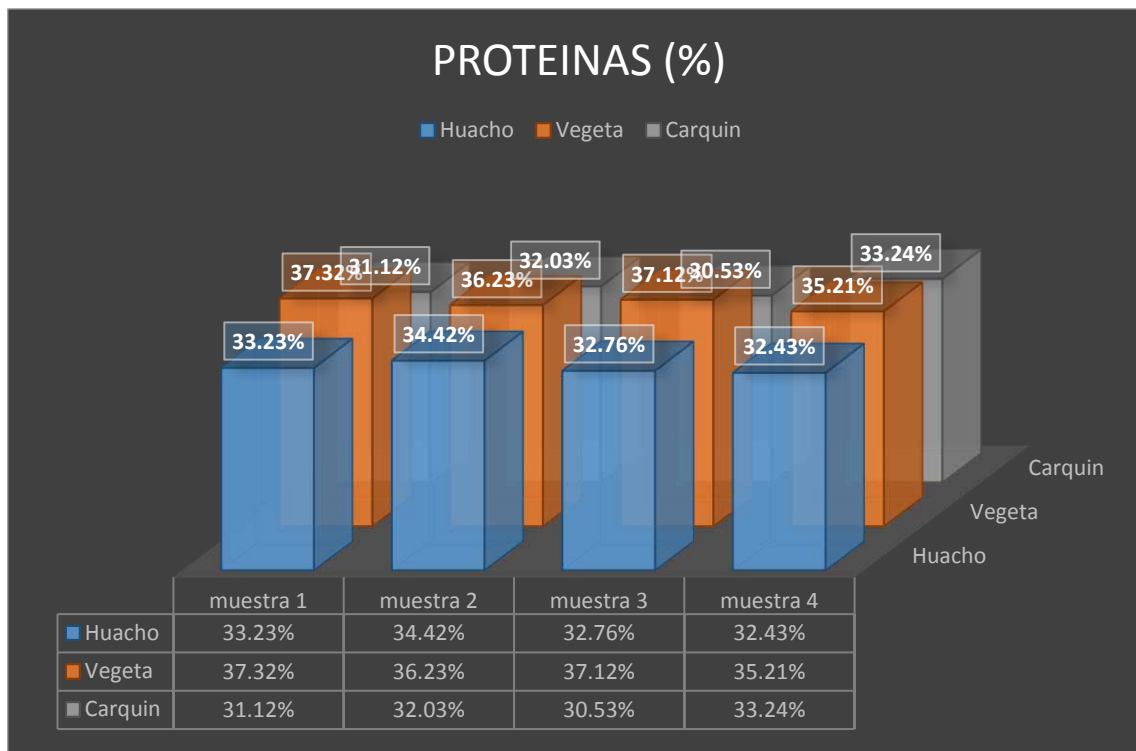


Ilustración 17. Cálculo de las proteínas expresada en porcentaje

4.3.5. Valores calculados en función a la proporción de Carbohidratos

Los datos obtenidos empleando el método indicado en el diseño sistemático se prevén de forma sintetizada y ordenada de acuerdo con las muestras obtenidas en función a cada zona de la provincia de Huaura , seguidamente se muestra una gráfica comparativa respecto a los valores obtenidos respecto a la proporción de Carbohidratos de Huacho, Vegeta y Carquin.

Tabla 19. Cálculos en función a los carbohidratos(%)

	Muestras	Promedio	Min	Max
Huacho	4	5.31 ± 0.45	4.86	5.76
Vegeta	4	1.13 ± 0.07	1.06	1.20
Carquin	4	6.19 ± 0.23	5.96	6.42

Fuente: Elaboración propia

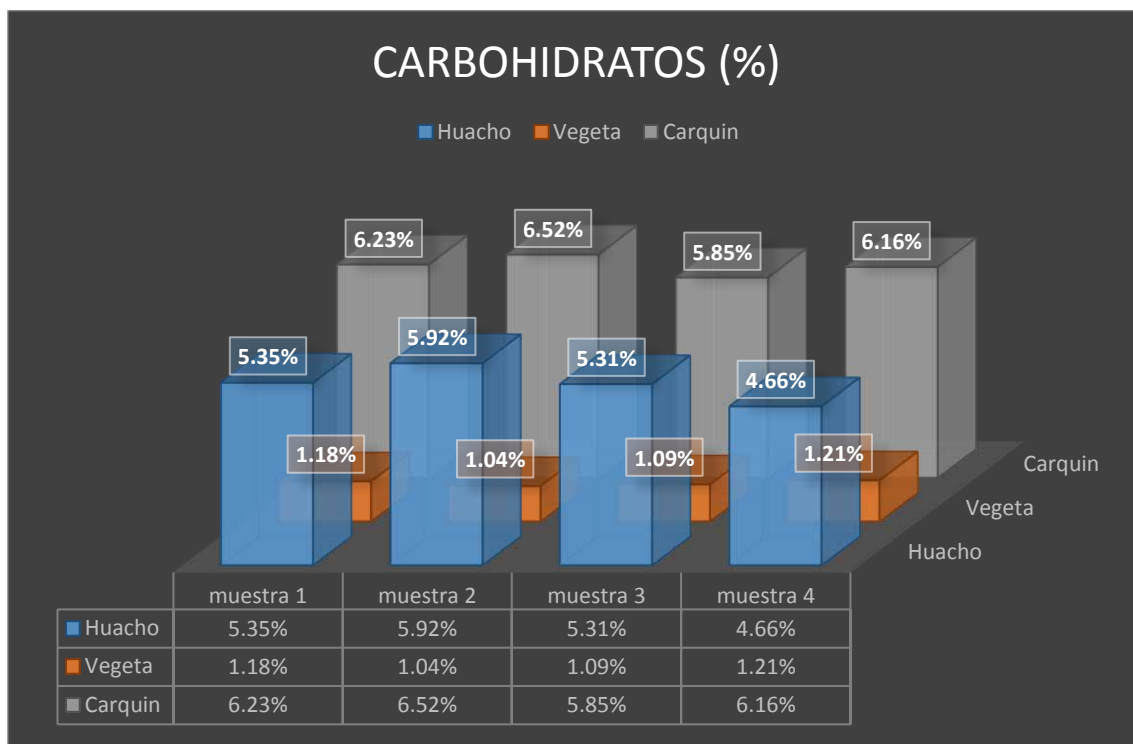


Ilustración 18. Cálculo de carbohidratos expresado en porcentaje

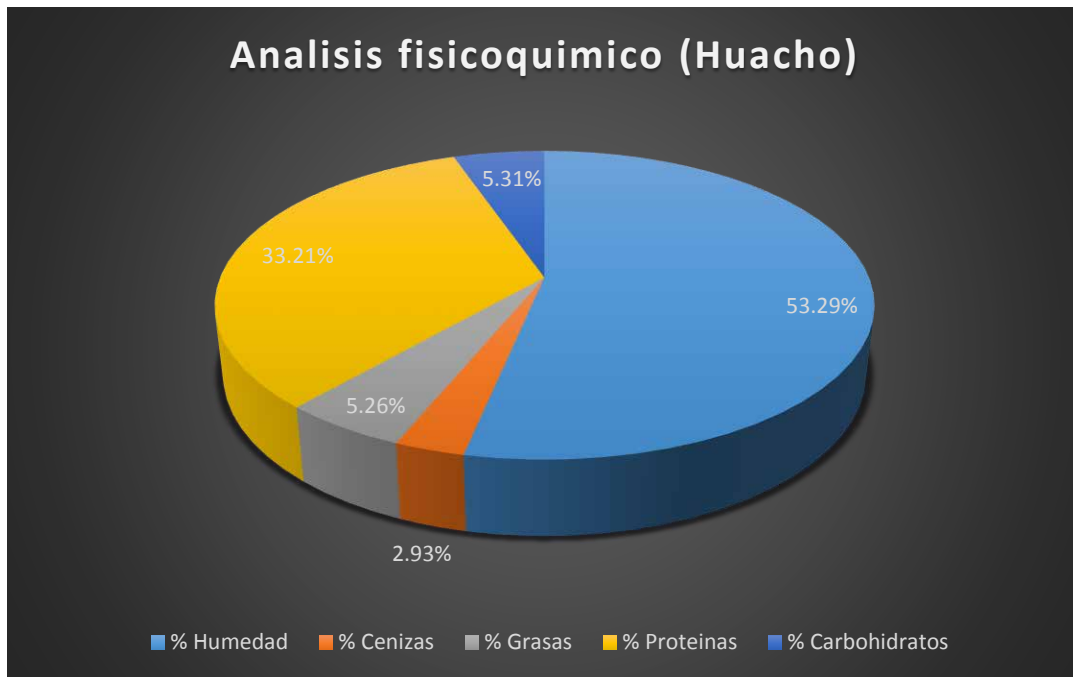


Ilustración 19. Análisis fisicoquímico respecto a la zona de Huacho

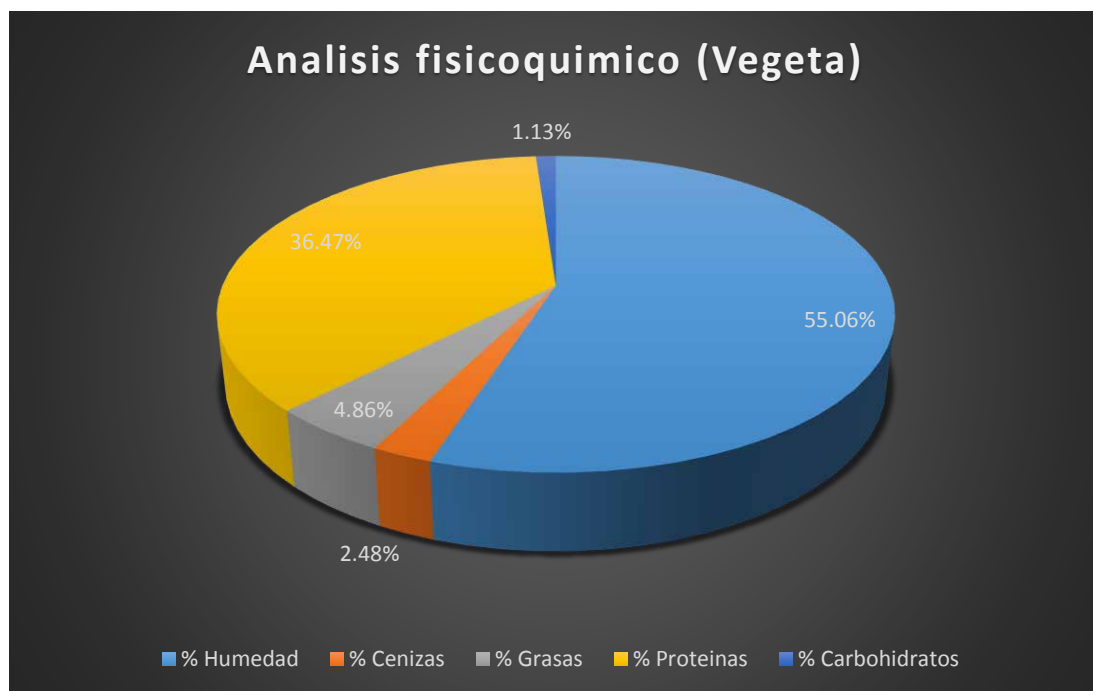


Ilustración 20. Análisis Fisicoquímico respecto a la zona de Vegeta

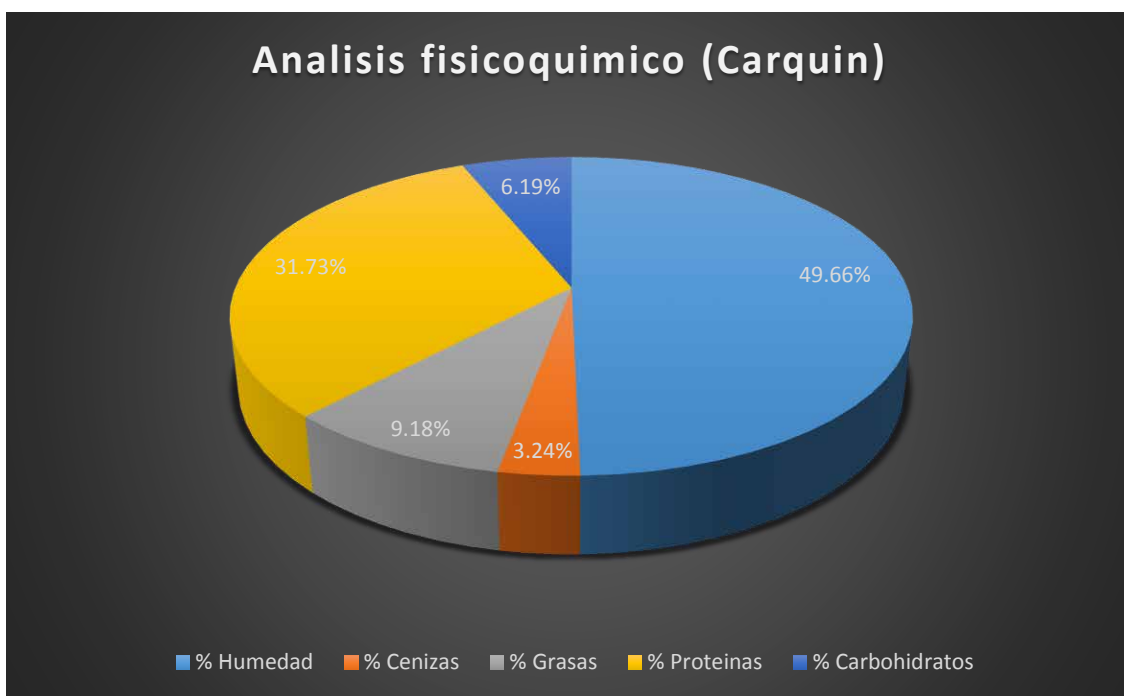


Ilustración 21. Análisis fisicoquímico respecto a la zona de Carquin

CAPITULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

5.1. Discusiones

- De acuerdo con Pandia et al. (2013) se manifiesta una concordancia aproximada de la caracterización fisicoquímica de los residuos de anchoveta cuyos datos de porcentaje de proteínas fueron de 13.12% con un margen de error de 0.47 , grasa cruda de 7.23% con margen de error de 0.63 , Cenizas de 5.56% con margen de error de 0.20 y el porcentaje de humedad de 75.1% con margen de error de 0.01.

5.2. Conclusiones

- La caracterización fisicoquímica de los residuos de anchoveta emitidos por la industria pesquera de Huacho obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 13.47%, porcentaje de grasas de 7.18 % , porcentaje de cenizas de 5.35 % y el porcentaje de humedad de 74.00% .
- La caracterización fisicoquímica de los residuos de anchoveta emitidos por la industria pesquera de Vegeta obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 16.87%, porcentaje de grasas de 7.05 % , porcentaje de cenizas de 5.03 % y el porcentaje de humedad de 71.05 % .
- La caracterización fisicoquímica de los residuos de anchoveta emitidos por la industria pesquera de Caleta de Carquín obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 11.84%, porcentaje de grasas de 7.26 % , porcentaje de cenizas de 7.26 % y el porcentaje de humedad de 75.43 % .
- El grado de Hidrolisis para la Zona de Huacho el rango obtenido del grado de hidrolisis se encuentra entre [4.75-7.81]%; dándose el porcentaje mas bajo en un tiempo de 5 minutos con un valor de 4.75%; mientras el mas alto se obtuvo en un tiempo de 25 minutos siendo este 7.81%.

- El grado de Hidrolisis para la Zona de Vegeta estuvo comprendida por [7.81-12.39]%, indicando que el valor mas bajo se obtuvo en un tiempo de 5 minutos siendo de 7.81 % , mientras que el valor mas alto se obtuvo en un tiempo de 25 minutos siendo este 12.39%.
- El grado de Hidrolisis para la Zona de Carquin estuvo comprendida por [7.86-10.17]%, indicando que el valor mas bajo fue a un tiempo de 5 minutos siendo de 7.86 % y el más alto a un tiempo de 25 minutos cuyo dato obtenido fue de 10.17%.
- Los parámetros obtenidos respecto al grado de Hidrolisis indican que los valores mas óptimos se dieron en un tiempo de 25 minutos , así mismo la zona en la cual se presento un mayor grado de hidrolisis fue la de Vegeta , cuyo grado de hidrolisis fue de 12.39 % siendo esta la mas alta de todas las muestras.
- La caracterización fisicoquímica de las muestras obtenidas durante el proceso de Hidrolisis de la zona de Huacho obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 33.21%, porcentaje de grasas de 5.26% , porcentaje de cenizas de 2.93 % , porcentaje de humedad de 53.29% y porcentaje de carbohidratos de 5.31%.
- La caracterización fisicoquímica de las muestras obtenidas durante el proceso de Hidrolisis de la zona Vegeta obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 36.47%, porcentaje de grasas de 4.86 % , porcentaje de cenizas de 2.48 % , porcentaje de humedad de 55.06 % y porcentaje de carbohidratos de 1.13%.
- La caracterización fisicoquímica de las muestras obtenidas durante el proceso de Hidrolisis de la zona de Carquin obtuvo datos de porcentaje de proteínas de 31.73 %, porcentaje de grasas de 9.18 % , porcentaje de cenizas de 3.24 % , porcentaje de humedad de 49.66 % y porcentaje de carbohidratos de 6.19 %.

5.3. Recomendaciones

Los péptidos extraídos de la anchoveta brindan una excelente nutrición debido a la proporción de proteínas que poseen estos compuestos , así mismo también se sugiere la aplicación de estos productos en diversas fórmulas alimenticias.

Del mismo modo se recomienda probar con diversos productos que posean un valor de proteínas altas , así mismo también que prueben con diversas enzimas y a diversas concentraciones de enzima para una optima respuesta de proteínas respecto a la materia prima a usar.

CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN

5.1. Fuentes Bibliográficas

Brauer, J. M. (1997). *Evaluacion in vitro de la digistibilidad enzimatica de la proteina dietaria por pH-stat para la optimizacion de dietas de Penaeus vannamei cultivado*. La Paz: Centro de investigaciones Biologicas del Noroeste,S.C. Obtenido de https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/518/3/ezquerra_j.pdf

Carpio, F. J. (2012). *Obtencion de Hidrolizados de proteinas de leche de cabra con actividad inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina*. Obtenido de <https://hera.ugr.es/tesisugr/21597224.pdf>

Daza, T. E., & Torres, W. P. (2017). *Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase*. Lima. Obtenido de <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/acu/article/view/1067>

Huerta, E. C. (2016). *Obtencion de peptidos alimentarios mediante hidrolisis enzimatica con efectos sobre la salud intestinal*. Madrid. Obtenido de <https://digital.csic.es/bitstream/10261/152191/1/tesispeptidosalud.pdf>

Lozano, J. E. (2014). *Obtencion de peptidos Bioactivos de Lupinus mutabilis ("tarwi") mediante proteasas de Bacillus sp."*. Lima. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3924/Borja_lj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Pachas, K. G. (2017). *Hidrolisis enzimatica en una y dos etapas de la proteina de la cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen) para obtener peptidos Bioactivos*. Lima. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3055/Q04-O3-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Pandia, S., Solari, A., Albrecht-Ruiz, M., & Salas, A. (2013). *HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE RESIDUOS DE ANCHOVETA Y ANCHOVETA ENTERA A NIVEL PILOTO Y CARACTERIZACIÓN DE SUS PRODUCTOS*. Lima. Obtenido de <http://repositorio.itp.gob.pe/bitstream/ITP/42/1/publicacion%2011.5.pdf>

ANEXOS

Anexo 01 :Procedimiento de la obtención de péptidos

Obtención de la Materia prima

La materia prima obtenida fue obtenida de las diversas industrias de la provincia de Huaura , para ser exactos fueron 5 kg de cada muestra aproximadamente.



Ilustración 22. Muestras de anchoveta

Pesado

Seguidamente se realizó un pesado de la materia prima para ver y observar para confirmar la cantidad exacta de muestra que tenemos.



Ilustración 23. Pesado de la materia prima

Lavado

Luego se sometió a agua para un lavado, esto tuvo la finalidad de eliminar residuos de arena y partículas no óptimas para que no afecten de manera negativa el proceso de Hidrolisis.

Filtrado

Seguidamente se filtró los residuos esto más que todo se hizo por las escamas debido a su pequeño diámetro puede pasar directamente del lavado , así que el filtro lo que hizo fue retener esas escamas.



Ilustración 24. Colado de las escamas

Clasificación de la materia prima

En esta etapa del proceso se escoge la materia prima principal del producto que son las que poseen mayor cantidad de proteínas según la heurística de la literatura obtenida, siendo estas la piel y las vísceras, en este caso los residuos a emplear en la hidrolisis son las cabezas, colas y espinazos



Ilustración 25. Clasificación de la materia prima.

Cortado , Mezclado , Molienda y Licuado

Una vez seleccionada la materia prima que vienen de la clasificación que en este caso son la piel y la víscera, pasan por un sistema de cortado, posteriormente entran al mezclado donde se mezclan con las escamas y 100 ml de agua pura, se emplea agua destilada, en una proporción aproximadamente de 1:1, seguidamente se pasó por una licuadora donde en primer punto se trituro durante 3 minutos y luego se licua durante 5 minutos hasta tener una mezcla homogénea color marrón café.



Ilustración 26. Licuado de los residuos

Tratamiento térmico y Enfriado

Después de obtener la mezcla homogénea lo siguiente fue someter esa mezcla a un tratamiento térmico en una autoclave durante 10 minutos, esto es para eliminar los

posibles microorganismos presente en la mezcla, seguidamente se deja enfriar por un tiempo de 10 minutos.



Ilustración 27. Esterilización de la muestra

Mezclado e Hidrolisis enzimática

Para la preparación de la enzima Alcalaza, se prepara una mezcla homogénea de Hidróxido de Sodio (1,40%), enzima alcalaza (11,6%) y agua destilada (87%) a una temperatura de 50°C, el por qué se usa agua destilada en vez de agua tratada está en el capítulo, a continuación, lo se lleva al reactor a una temperatura constante de 50°C por un tiempo de 10,15,20,25 y 30 minutos, la conversión de mezcla homogénea a partir de la enzima está en el apartado y así mismo el rediseño del reactor .



Ilustración 28. Enzima Alcalaza



Ilustración 29. Hidrolisis enzimática

Inactivación enzimática y Enfriado

Seguidamente para la inactivación enzimática, por heurística se eleva a una temperatura de 90°C para matar la enzima y así posteriormente se pasa al enfriado hasta llegar a una temperatura ambiente.



Ilustración 30. Enfriado de la muestra a temperatura ambiente

Centrifugación

Para el centrifugado se emplea tubos de ensayo pequeños, donde se agrega aproximadamente 4,5 ml de la mezcla de cada zona, seguidamente se programa el equipo a una velocidad de 4000 rpm y un tiempo de 15, a continuación, después

de pasar ese tiempo se retira y se observa diferentes componentes entre ellos cenizas, agua, grasas y claro esta proteína, ahora el problema estaba en como extraer esas proteínas.

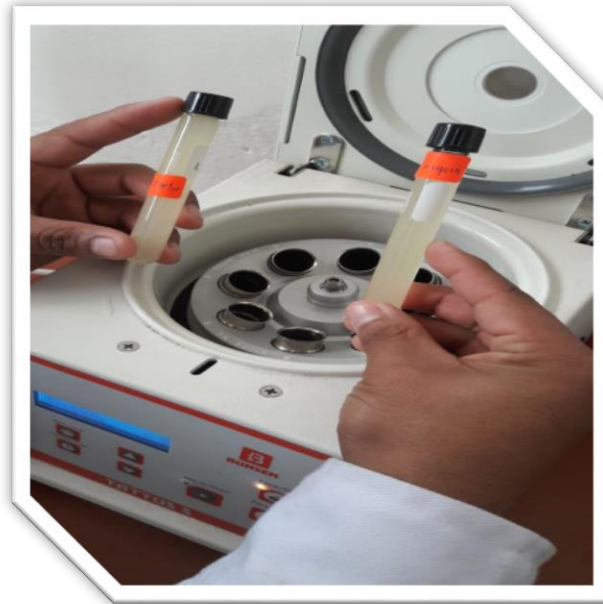


Ilustración 31. Muestras sometidas al centrifugador



Ilustración 32. Muestras después del centrifugador

