

## HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA SANGRE BOVINO GENERADA DEL FAENAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE CONCENTRADO PROTEICO

Richard Marcelo Montanero-Zambrano<sup>1\*</sup>, Genesis Dayana Moreira-Bravo<sup>1</sup>, Ernesto Alonso Rosero-Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. E-mail: [rmontanero1371@utm.edu.ec](mailto:rmontanero1371@utm.edu.ec)

<sup>2</sup>Departamento de Procesos Químicos, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Universidad Técnica de Manabí. Ecuador.

\*Autor para la correspondencia: [rmontanero1371@utm.edu.ec](mailto:rmontanero1371@utm.edu.ec)

Recibido: 23-11-2021 / Aceptado: 30-12-2021 / Publicación: 01-01-2022

Editor Académico: Laura Soto Arrieta

### RESUMEN

La industria del ganado bovino satisface una gran demanda de productos y genera una elevada cantidad de residuos. Uno de los principales residuos es la sangre bovina, que tiene un potencial en la producción de concentrados proteicos. El objetivo de esta investigación es evaluar la hidrólisis enzimática de la sangre bovina para la obtención de un concentrado proteico. La sangre residual de bovino provino del Camal municipal de Portoviejo. Los parámetros para la caracterización de la sangre fueron proteína, grasa, ceniza, humedad y pH. El proceso para la obtención del concentrado proteico consistió en etapas de recolección/estabilización, purificación y filtración, ajuste del pH, hidrólisis, secado y molienda. La estabilización de la sangre empleó ácido etilendiaminotetraacético 0,018N y ajuste de pH con ácido clorhídrico 2M. El proceso hidrolítico empleó la enzima Corolase7089 con un diseño de experimento 3<sup>3</sup>, evaluando el efecto de la temperatura (30-50-65°C), pH (2-3-4) y concentración enzima/sustrato (2-4-6%). Se determinó la concentración de aminoácidos en la sangre y en el concentrado. La optimización del contenido proteico se obtuvo mediante el método de superficie de respuesta. Las pruebas experimentales reflejaron que el pH, temperatura y concentración enzimática tuvieron un efecto significativo, obteniéndose un rendimiento óptimo de proteína en el concentrado proteico de 87,12±4,3%, a pH 2, temperatura de 47,7°C y relación enzima/sustrato de 6%. En conclusión, el concentrado proteico contiene un elevado valor nutricional y un aumento significativo en la concentración de aminoácidos, que oscila entre 49% y 2841% para metionina y arginina, con respecto a la materia prima.

**Palabras clave:** sangre bovina, hidrólisis enzimática, parámetros operacionales, proteínas, aminoácidos.

## ENZYMATIC HYDROLYSIS OF BOVINE BLOOD GENERATED FROM SLAUGHTERING TO OBTAIN PROTEIN CONCENTRATE

### ABSTRACT

The cattle industry satisfies a great demand for products and generates a high amount of waste. One of the main wastes is bovine blood, which has a potential in the production of protein concentrates. The aim of this research is to evaluate the enzymatic hydrolysis of bovine blood to obtain a protein concentrate. The residual bovine blood came from the municipal slaughterhouse of Portoviejo. The parameters for the characterization of the blood were protein, fat, ash, humidity and pH. The process for obtaining the protein concentrate consisted of collection/stabilization, purification and filtration, pH adjustment, hydrolysis, drying and grinding. Blood stabilization used 0.018N ethylenediaminetetraacetic acid and pH adjustment with 2M hydrochloric acid. The hydrolytic process employed Corolase7089 enzyme with a design of experiment 3<sup>3</sup>, evaluating the effect of temperature (30-50-65°C), pH (2-3-4) and enzyme/substrate concentration (2-4-6%). The amino acid concentration in blood and concentrate was determined. Optimization of protein content was obtained by the response surface method. Experimental tests showed that pH, temperature and enzyme concentration had a significant effect, obtaining an optimum protein yield in the protein concentrate of 87.12±4.3%, at pH 2, temperature of 47.7°C and enzyme/substrate ratio of 6%. In conclusion, the protein concentrate contains a high nutritional value and a significant increase in the concentration of amino acids, ranging from 49% to 2841% for methionine and arginine, with respect to the raw material.

**Keywords:** bovine blood, enzymatic hydrolysis, operational parameters, proteins, amino acids.

## ENZYMATIC HYDROLYSIS OF BOVINE BLOOD GENERATED FROM SLAUGHTERING TO OBTAIN PROTEIN CONCENTRATE

### RESUMO

The cattle industry satisfies a great demand for products and generates a high amount of waste. One of the main wastes is bovine blood, which has a potential in the production of protein concentrates. The objective of this research is to evaluate the enzymatic hydrolysis of bovine blood to obtain a protein concentrate. The residual bovine blood came from the municipal slaughterhouse of Portoviejo. The parameters for the characterization of the blood were protein, fat, ash, humidity and pH. The process for obtaining the protein concentrate consisted of collection/stabilization, purification and filtration, pH adjustment, hydrolysis, drying and grinding. Blood stabilization used 0.018N ethylenediaminetetraacetic acid and pH adjustment with 2M hydrochloric acid. The hydrolytic process employed Corolase7089 enzyme with a design of experiment 3<sup>3</sup>, evaluating the effect of temperature (30-50-65°C), pH (2-3-4) and enzyme/substrate concentration (2-4-6%). The amino acid concentration in blood and concentrate was determined. Optimization of protein content was obtained by the response surface method. Experimental tests showed that pH, temperature and enzyme concentration had a significant effect, obtaining an optimum protein yield in the protein concentrate of 87.12±4.3%, at pH 2, temperature of 47.7°C and enzyme/substrate ratio of 6%. In conclusion, the protein concentrate contains a high nutritional value and a significant increase in the concentration of amino acids, ranging from 49% to 2841% for methionine and arginine, with respect to the raw material.

**Palavras chave:** sangue bovino, hidrólise enzimática, parâmetros operacionais, proteínas, aminoácidos.

Citación sugerida: Montanero, R., Moreira, G. Rosero, E. (2022). Hidrólisis enzimática de la sangre bovino generada del faenamiento para la obtención de concentrado proteico. Revista Bases de la Ciencia, 7(1), 17-36. DOI: [https://doi.org/10.33936/rev\\_bas\\_de\\_la\\_ciencia.v%vi%i.4183](https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v%vi%i.4183)



## 1. INTRODUCCIÓN

La industria agroalimentaria abarca una serie de procesos químicos, físicos y biológicos relacionados directamente con la cadena alimenticia, que incluye las etapas desde la recepción hasta el procesamiento, conservación y los servicios de alimentación (Varelis *et al.*, 2018), que evidentemente son parte de sistemas de mejora continua. Sin embargo, Tutu y Anfu (2019) indican que uno de los principales desafíos que enfrentan las agroindustrias es el manejo de residuos y desechos que acarrearán altas tasas de contaminación. Con frecuencia las estrategias para tratar los residuos de las agroindustrias son rudimentarias y proporcionan un bajo valor económico y ambiental. Los desechos alimentarios contienen numerosos productos químicos con una amplia gama de posibles aplicaciones comerciales que permitirán generar valor agregado, lo que hace que estos materiales puedan revalorizarse (García-García *et al.*, 2019; Morone *et al.*, 2019). Las tasas de desechos agroindustriales son muy significativas a escala global, oscilando entre el 19-39% del desperdicio total en las cadenas de suministro de alimentos (European Commission, 2010; Stenmarck *et al.*, 2016). Por su parte, Kinyua *et al.* (2016) reportan que dentro de la industria alimentaria, la agricultura y ganadería son actividades de alto interés por la cantidad de residuos generados, lo que puede comprometer la sostenibilidad de los recursos medioambientales.

La industria del ganado bovino es muy representativa en la esfera global, fundamentalmente por el alto consumo de los productos y subproductos generados, de modo que los productos de esta agroindustria se pueden categorizar en 4 sectores. En esta clasificación ocupa el primer lugar los componentes de alto valor para la industria (carne); seguido de los componentes con usos en la industria no alimentaria (pieles, huesos, pezuñas y sangre); componentes de bajo valor (despojos y harina de carne) y artículos sin utilidad (barbotina de lana, contenido del tracto digestivo) que se eliminan como residuos (Parrón *et al.*, 2018).

La sangre es un subproducto inevitable de la industria cárnica que representa hasta el 4% del peso del animal vivo o del 6 al 7% del contenido de carne magra, destacándose como un componente de uso no alimentario, aunque con la aplicación de un tratamiento biotecnológico puede convertirse en un alimento funcional para la nutrición animal (Lecrenier *et al.*, 2016), puesto que la sangre de los bovinos está compuesta por 80,9% de agua, 17,3% de proteínas, 0,62% de minerales, 0,23% de grasas y 0,07% de carbohidratos (Alencar, 1983). Además, la sangre bovina es un residuo biodisponible que frecuentemente se descarga junto a las aguas residuales generadas por este sector agroindustrial (Bah *et al.*, 2013).

Según la FAO (2012), aproximadamente 304 millones de bovinos fueron procesados para obtener su carne en el 2010, obteniendo 15 litros de sangre por cada bovino, lo que generó un equivalente a 4560

millones de litros de sangre, que representa un recurso trascendental y una interesante oportunidad de desarrollo. Este desecho puede ser revalorizado mediante el fraccionamiento en plasma (65-70%) y masa celular (35-30%, en volumen) (Lecrenier *et al.*, 2016), a través de la aplicación de anticoagulante. El plasma obtenido contiene 7,9% de proteína, con la presencia de proteínas plasmáticas como albúminas (3,3%), inmunoglobulinas R- y  $\beta$ -globulinas (4,2%) y fibrinógeno (0,4%) (Lafarga *et al.*, 2016). El plasma deshidratado contiene, en promedio, 7% de humedad, 80% de proteína, 7,9% de minerales y ~ 1% de grasa (Bah *et al.*, 2013). No obstante, una de las limitaciones reportadas en el aprovechamiento de la sangre de bovino como concentrado proteico en la alimentación animal es su composición nutricional y el contenido de aminoácidos, puesto que comúnmente se ha detectado la presencia de aminoácidos como leucina, valina, lisina, ácido aspártico y alanina (O'Sullivan *et al.*, 2017). En este sentido, la FAO (1989) y Khaksar y Golian (2009) mencionan que los concentrados proteicos pueden utilizarse en la alimentación de pollos de engorde y peces, respectivamente, garantizando el cumplimiento de los patrones y límites propuestos para la concentración de proteínas y aminoácidos en función de la normativa de la FAO.

La hidrólisis enzimática es un proceso eficaz para extraer proteínas de subproductos cárnicos y obtener ingredientes de alto valor agregado (Lafarga & Hayes, 2017). Sin embargo, un gran desafío que puede afectar la aplicación de los productos a base de hidrolizado de proteínas son sus características sensoriales y el cumplimiento de los patrones sugeridos en la normativa de alimentación animal, principalmente en función del contenido de aminoácidos esenciales (FitzGerald & O'Cuinn, 2006). En la actualidad, existen diversos métodos hidrolíticos que permiten mejorar la calidad nutricional de residuos con bajo valor agregado, aprovechando su disponibilidad y concentración proteica para obtener productos que puedan ser implementados por la industria alimenticia (Liu *et al.*, 2020; Procentese *et al.*, 2017), sin embargo, existen pocos estudios que aborden la eficiencia y optimización del proceso hidrolítico enzimático de la sangre bovina, como mecanismo para optimizar su valor nutricional a partir de un incremento en la concentración de aminoácidos y potenciar su aplicación como alimento funcional en la nutrición de animales de consumo humano (Qi *et al.*, 2007; Saha & Hayashi, 2001). Por consiguiente, el objetivo de la presente investigación es evaluar la hidrólisis enzimática de la sangre bovina para la obtención de un concentrado proteico, con la finalidad de aportar valor a la cadena productiva del faenamiento animal.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

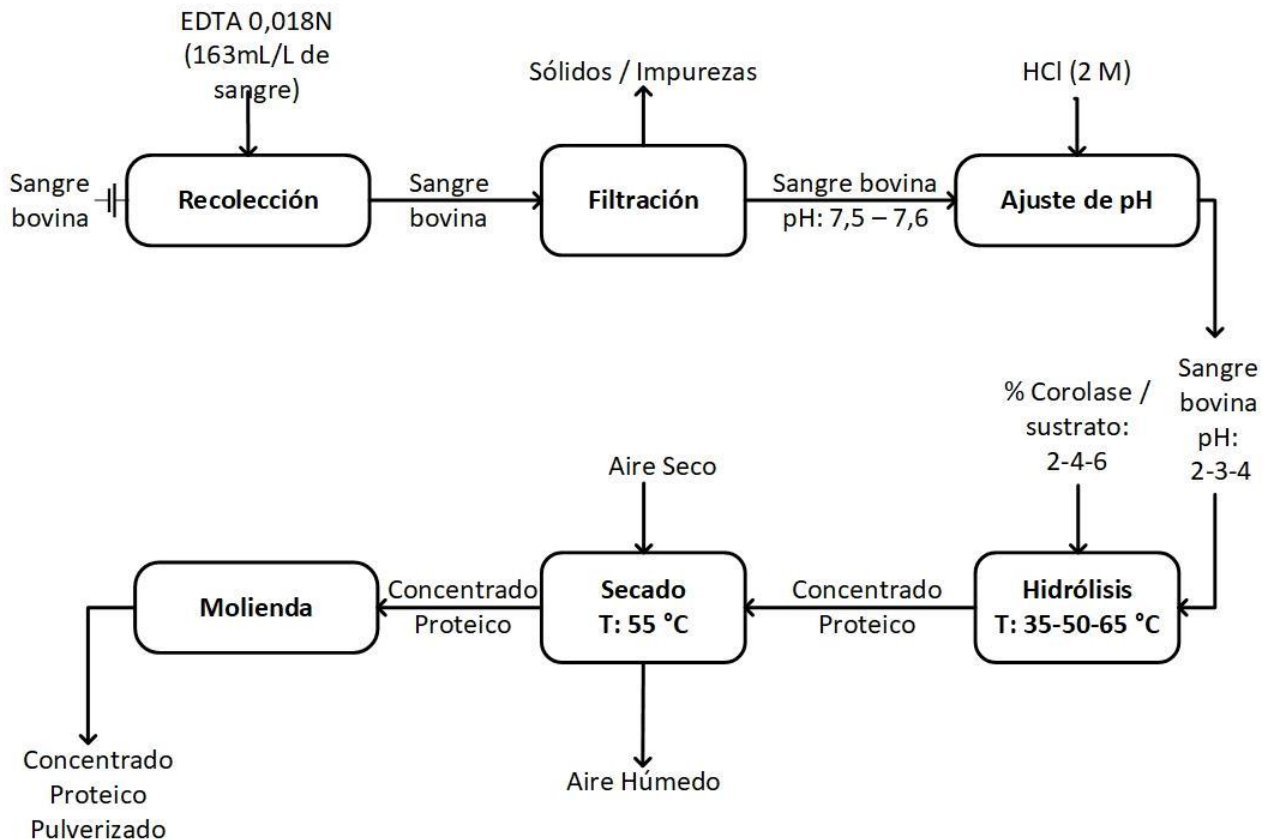
### 2.1. Muestra de sangre bovina

Las muestras de sangre bovina provinieron del Camal Municipal de la ciudad de Portoviejo, Ecuador. Los recipientes para el almacenamiento de las muestras contenían un total de 8 litros de sangre de faenamiento, junto con una solución de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 0,018 N en una

proporción de 163 mL/L de sangre bovina. El vertido de la sangre en recipientes cerrados herméticamente y homogeneizados hasta alcanzar la mezcla completa de la sangre bovina con el estabilizante (EDTA), siguió la metodología descrita por Narva y Romero (2008). Los recipientes con las muestras permanecieron en refrigeración a temperatura de 3-4°C, hasta su procesamiento.

## 2.2. Procedimiento de obtención del concentrado proteico

La **figura 1** muestra la metodología experimental utilizada para obtener el concentrado proteico.



**Figura 1.** Metodología del proceso experimental utilizado para obtener el concentrado proteico

**Fuente:** Elaboración propia.

### Filtración

La filtración de la sangre bovina consistió en la eliminación de impurezas y sólidos de gran tamaño a través de la metodología propuesta por Beltrán Fernández y Perdomo Robayo (2007). Para ello, el filtro Cualitativo Grado F1002 (diámetro: 125 mm) *CHMLab* retuvo las partículas sólidas presentes en la sangre bovina, con la aplicación de una bomba de vacío *Welch modelo 2534B-01*.

## Ajuste de pH

Debido a que el pH inicial de la sangre bovina osciló en el rango 7,5-7,6, el ajuste con ácido clorhídrico (HCl) 2M permitió alcanzar un pH ácido (2, 3, 4), que según Fernández Alonso (2015) es apropiado para el desarrollo del proceso hidrolítico con la enzima Corolase7089.

## Hidrólisis enzimática

Las pruebas experimentales para la obtención del concentrado proteico mediante hidrolizado enzimático fueron realizadas en el laboratorio de Química de la Universidad Técnica de Manabí (UTM). El proceso de hidrólisis fue desarrollado en un biorreactor batch que operó durante 3 horas. Este sistema consistió en un vaso de precipitación (500 mL) en la base de una placa calefactora agitada magnéticamente (*Thermo Scientific™ Cimarec*). La enzima *Corolase® 7089* fue utilizada como medio enzimático para la hidrólisis de la sangre bovina, debido a que investigaciones previas han demostrado la efectividad de esta enzima (Guan *et al.*, 2020). La enzima *Corolase® 7089* fue suministrada por un proveedor comercial de insumos biotecnológicos en Ecuador.

El diseño del experimento consistió en un diseño factorial multinivel 3<sup>3</sup> (3 factores con 3 niveles cada uno). Los factores evaluados fueron pH inicial, temperatura de hidrólisis, y concentración de la enzima para establecer su efecto en las características del concentrado proteico. Los niveles evaluados en el pH inicial fueron: 2, 3 y 4 (Arrutia *et al.*, 2017; Fernández Alonso, 2015). En cuanto a la temperatura, los niveles consistieron en: 35, 50 y 65 °C (Arrutia *et al.*, 2017; Fernández Alonso, 2015). Por último, esta investigación propone como niveles para la concentración de enzima 2, 4% y 6%.

## Secado

La disminución del contenido de humedad del concentrado proteico fue desarrollada mediante un proceso de secado a 55°C durante 24 horas. En esta operación, la estufa *Elos Heat* fue utilizada a partir del procedimiento reportado por Ockerman (2000).

## Molienda

La etapa de molienda redujo el tamaño de partícula del concentrado proteico (Ockerman, 2000). El molino empleado fue el *High-Speed Multi-function Comminutor Grinder RRH-A1000*, operado durante 20 segundos. Por último, un tamiz aseguró que el tamaño de partícula fuera menor al pasar el producto por un tamiz 300 µm.



### 2.3. Análisis fisicoquímicos

La caracterización de las muestras de sangre bovina (materia prima) y concentrado proteico consistió en el análisis comparativo de los parámetros humedad (%), cenizas (% masa seca), contenido de grasa (% masa seca), contenido de proteína (% masa seca) y concentración de aminoácidos (mg/g), antes y después del proceso expuesto en la figura 1. Los procedimientos para la medición de estos parámetros están disponibles en el trabajo de Beltrán Fernández y Perdomo Robayo (2007).

La investigación evaluó el efecto de los parámetros operacionales temperatura, pH inicial y concentración de la enzima sobre el comportamiento de la variable de interés, que consistió en el rendimiento del proceso hidrolítico. El rendimiento del proceso evaluó el cambio registrado en la concentración inicial y final de aminoácidos totales, así como en los principales aminoácidos reportados en la sangre bovina y en el producto final.

### 2.4. Análisis estadísticos y optimización

El paquete informático *Statgraphics Centurion XVI* 2013 permitió analizar estadísticamente los datos obtenidos, a través de un análisis de varianza y diagramas de Pareto que determinaron si existen diferencias significativas entre las variables estudiadas. El proceso de optimización consistió en el método de superficie de respuesta.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Caracterización de la sangre bovina

La sangre bovina presentó características similares a las reportadas en otras investigaciones, de modo que los resultados obtenidos solo presentaron diferencias significativas en el parámetro %grasa. La **tabla 1** plantea los resultados obtenidos en la determinación de parámetros como proteína, grasa, ceniza y pH final. En este sentido, Alencar (1983) reportó que la sangre de los bovinos contuvo un 80,9% de agua, 17,3% de proteínas, 0,23% de grasas. Se evidencia que la sangre bovina presenta un alto contenido de humedad, lo que podría acelerar la degradación de la materia prima, por lo que el agente antioxidante y estabilizante EDTA permitió la conservación óptima de la sangre hasta su procesamiento hidrolítico (Barut *et al.*, 2020). Así mismo, el contenido de grasas y cenizas en la sangre bovina tiene estrecha relación con el perfil de aminoácidos, debido a que es un reflejo del estado nutricional y de la alimentación del bovino. Por lo tanto, concentraciones de lípidos mayores a las reportadas tradicionalmente pueden significar un desbalance en el contenido de proteínas y aminoácidos en la sangre bovina; lo que en consecuencia afecta la calidad de los productos derivados del aprovechamiento de la sangre (Dafferner *et al.*, 2017).

Del mismo modo, la **tabla 1** evidencia un pH de la sangre bovina en la escala de 7,4; que confirma los datos reportados en otros estudios, donde la caracterización reflejó un pH promedio de 7,5 (Barut *et al.*, 2020; Dafferner *et al.*, 2017). Evidentemente, el pH es un parámetro importante en el equilibrio proteico y nutricional de la sangre bovina, puesto que un pH neutro garantiza un metabolismo adecuado para la producción de proteínas en el organismo bovino (Beltrán Fernández & Perdomo Robayo, 2007).

**Tabla 1.** Composición de la sangre bovina (MS)

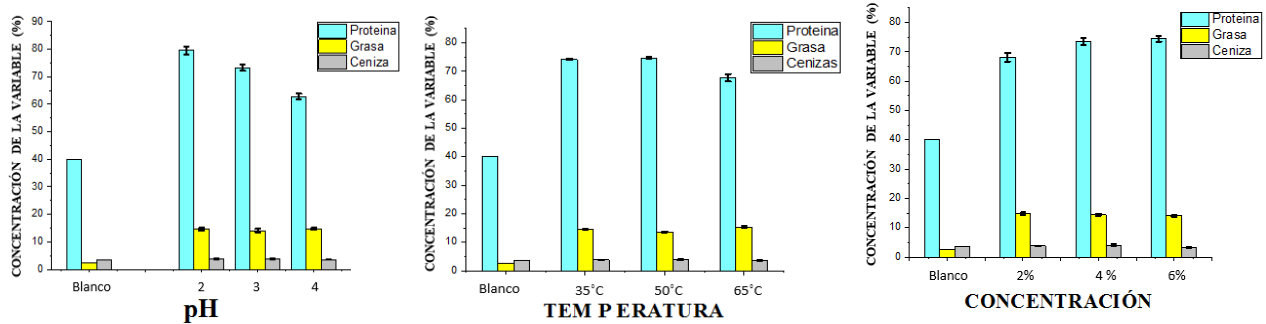
Parámetros	Determinados	Reportados en la literatura
Proteína (%)	14,30 ± 0,77	17,3*
Grasa (%)	1,138 ± 0,12	0,23*
Ceniza (%)	0,81 ± 0,07	-
Humedad (%)	90,90 ± 0,55	80,9*
pH final	7,40 ± 0,00	7,5*

**Fuente:** Alencar (1983), Barut *et al.* (2020) y Dafferner *et al.* (2017).

### 3.2. Efecto del pH, temperatura y concentración de la enzima sobre los parámetros fisicoquímicos de la sangre bovino

Los resultados del diseño de experimentos factorial (**figura 2**) indicaron una tendencia a mayores rendimientos en la concentración de proteínas en el producto final en dependencia de incrementos en la concentración de enzima y decrecimientos en la temperatura y pH del medio hidrolítico. Los mejores rendimientos en la variable concentración de proteínas se presentaron en condiciones de pH 2, temperatura 35°C y concentración de enzima 6%. Asimismo, las condiciones de pH, temperatura y concentración enzimática presentaron un comportamiento diferente en la concentración de grasa y cenizas, denotando una escasa influencia de los parámetros evaluados sobre la concentración de grasa y cenizas en el concentrado proteico.





**Figura 2.** Efecto individual de los factores en estudio (pH, temperatura de hidrólisis y concentración de la enzima) sobre las variables evaluadas.

**Fuente:** Elaboración propia.

Evidentemente, los cambios en el pH presentaron un efecto importante en la concentración de proteína, debido a que a pH 2 la concentración de la proteína fue de  $79,54\% \pm 1,5\%$  y a pH 4 la concentración de proteína alcanzó un máximo de  $62,79\% \pm 0,9\%$ . Las demás variables (grasa y cenizas), no fueron afectadas en mayor medida por cambios en el pH del medio hidrolítico. Estudios previos informaron que el pH generó un efecto significativo en el desarrollo del proceso hidrolítico con la enzima Corolase7089 (Guan *et al.*, 2020). En consecuencia, esta enzima tiene un punto isoeléctrico relativamente bajo y presenta rangos estables de pH entre 2 y 3, por lo que pH superiores al punto isoeléctrico generaron una carga neta negativa en la enzima y conducen hacia variaciones en la velocidad de reacción del proceso bioquímico.

Por otra parte, la temperatura de hidrólisis y la concentración de la enzima generaron un efecto sobre la concentración de proteína en el producto final. Sin embargo, el efecto es menor en comparación con el que generó el pH, debido a que en el caso de la temperatura la concentración de proteína a 35 °C presentó un valor de  $74,11\% \pm 0,25\%$ . Mientras que, cuando la temperatura de hidrólisis fue 65 °C la concentración de proteína fue de  $67,72\% \pm 1,3\%$ .

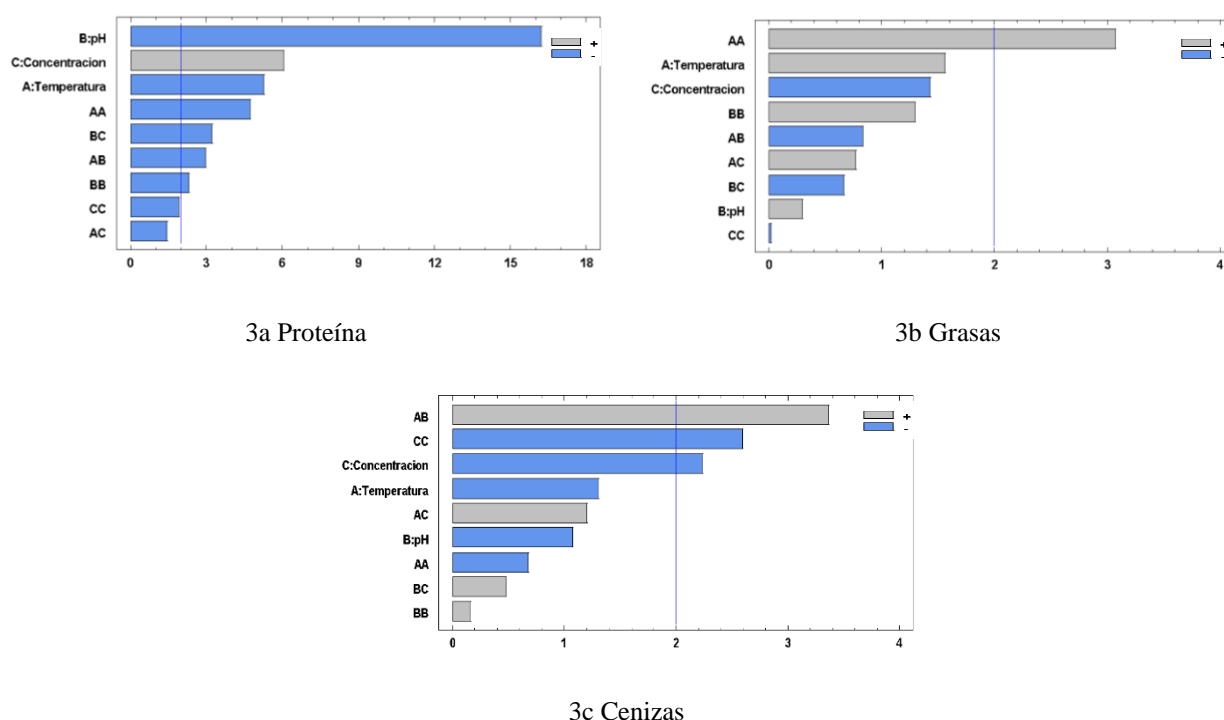
Así mismo, el valor más alto en la concentración de enzima (6%) reflejó una concentración de proteína de  $74,39\% \pm 0,9\%$  y el valor más bajo de enzima (2%) determinó una concentración proteica de  $68,15\% \pm 1,5\%$ . En conclusión, incrementos en la concentración de enzima reflejaron aumentos en la concentración de proteínas y por consiguiente en el rendimiento del proceso hidrolítico.

Sobre esto, Lafarga y Hayes (2017) mencionaron que el parámetro con mayor incidencia en la hidrólisis enzimática es la concentración de la enzima, seguido de factores como la temperatura y pH (Mazloomi *et al.*, 2021), efecto contrario al observado en la presente investigación. Esto puede deberse a que los mencionados autores realizaron un proceso de tratamiento del sustrato para eliminar

su contenido de grasa y además utilizaron enzimas proteasas que presentaron mejor rendimiento en el proceso de hidrólisis.

### 3.3. Análisis de Pareto para las variables en estudio

El análisis de Pareto permitió la evaluación estadística en función de cada una de las variables en estudio. Por lo consiguiente, la figura 3 muestra los diagramas de Pareto para los parámetros proteína (3a), grasas (3b) y cenizas (3c), respectivamente.



**Figura 3.** Efectos significativos de las variables evaluadas sobre los factores en estudio (pH, temperatura de hidrólisis y concentración de la enzima).

**Fuente:** Elaboración propia.

En el **gráfico 3a** se observa que el pH inicial, la concentración de la enzima y la temperatura de hidrólisis, presentan un efecto estadísticamente significativo ( $\alpha=0,05$ ) sobre la variable concentración de proteína, evidenciando que los tres factores mencionados influyen directamente sobre esta variable, sin embargo, en diferente sentido, ya que cuando la temperatura y el pH de hidrólisis son menores la concentración de la proteína es mayor. Caso contrario para la concentración de la enzima, que a mayores valores generó un mayor valor de proteína en el concentrado final. Además, es evidente un efecto significativo entre las interacciones del pH con la temperatura y con la concentración de la enzima. En este sentido, Fenoglio *et al.* (2016) y Kawahara *et al.* (2005) comprobaron que la

temperatura es una variable altamente influyente en la hidrólisis enzimática y que esta requiere un control adecuado para garantizar el desarrollo óptimo del proceso bioquímico.

Para el caso de la concentración de grasa, el único efecto estadístico fue el de la temperatura de hidrólisis (efecto cuadrático), según el **gráfico 3b**. Esto podría explicarse debido a que, durante el proceso hidrolítico, por efecto de la temperatura, los lípidos sufrieron cambios en su estructura química. De manera que Arias *et al.* (2017) reportaron que, a temperaturas superiores a los 60 °C, las grasas pueden sufrir transformaciones como la descomposición de hidroperóxidos de lípidos, que ocasionaron una disminución en la calidad nutritiva y características organolépticas indeseables en el concentrado proteico. Por ejemplo, Gao *et al.* (2017) evaluaron el efecto de la temperatura sobre la calidad de los derivados de la producción con bovinos Holstein lactantes, demostrando que el stress por calor provoca una serie de reacciones químicas como la descomposición de lípidos, lo que afecta el metabolismo de proteínas y por consiguiente la concentración de aminoácidos en la leche y sangre bovina.

Finalmente, en el **gráfico 3c** se observa que la interacción entre la temperatura y el pH, así como la concentración de la enzima, presentan un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de cenizas en el producto final, pero con sentido opuesto, respectivamente. Este comportamiento puede deberse a que, en el proceso hidrolítico, mayores concentraciones de enzima producen una mayor cantidad de proteínas y una disminución en la cantidad de cenizas; por lo que, al aumentar la cantidad de proteínas en el concentrado, la proporción de cenizas disminuye significativamente. La baja concentración de cenizas reportada con respecto a los demás parámetros evaluados (grasa y proteína) puede asociarse a la generación de moléculas de agua en la hidrólisis enzimática. Esto debido a que Muvdi-Nova *et al.* (2021) concluyen que la temperatura es un factor que puede incidir en la evaporación del agua, lo que provocaría aumentos en la concentración de proteínas y una disminución en la concentración de cenizas.

Si bien la sangre bovina presenta características estables en la mayoría de los parámetros evaluados en la caracterización de la materia prima; se estableció durante el proceso hidrolítico con enzima Corolase, parámetros como temperatura, pH y concentración de enzima pueden influir significativamente sobre las características fisicoquímicas del concentrado proteico (producto final). Sin embargo, Mazloomi *et al.* (2021) concluyen que además de los parámetros mencionados los procesos hidrolíticos enzimáticos dependen de factores como la velocidad de agitación, tipo de enzima, diseño de reactor. Adicionalmente, Zapata *et al.* (2019) proponen que intervalos de pH y temperatura “estabilizados” en función de las características del proceso y de la enzima, así como concentraciones elevadas de la misma, provocan altas velocidades de reacción durante los primeros

60 minutos de hidrólisis. Asimismo, la estabilización de los parámetros mencionados puede generar un mayor índice de enlaces peptídicos hidrolizados. En la presente investigación, el uso de la enzima Corolase actuó específicamente sobre los enlaces del exterior de la cadena polipeptídica, lo que a su vez permitió una mayor producción de aminoácidos libres en el concentrado proteico, tales como ácido glutámico, histidina y arginina.

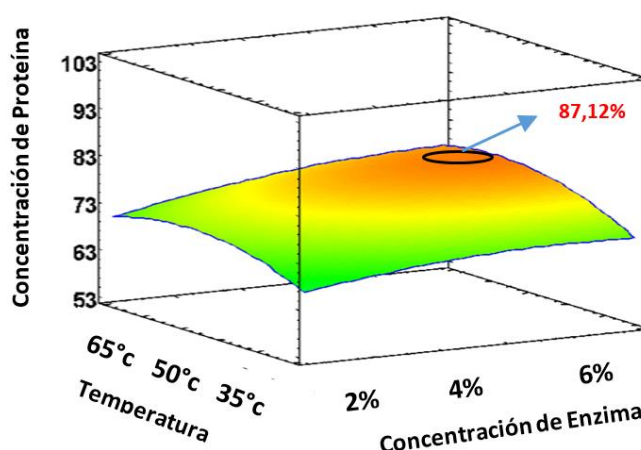
### 3.4.Optimización del proceso de hidrólisis de sangre bovina

La **tabla 2** muestra la combinación de los niveles de las variables en estudio, que a su vez permiten determinar el punto óptimo en función de las 3 variables en estudio (**figura 4**). Consecuentemente, el análisis generó la ecuación de regresión (Ec.1) con los respectivos coeficientes. El ensayo refleja una concentración de proteína en el orden de 87,12%.

**Tabla 2.** Optimización de respuesta del parámetro proteína

VARIABLES EN ESTUDIO	Bajo	Alto	Niveles óptimos	Concentración de proteína final
Temperatura	35°C	65°C	47,7°C	
pH	2,0	4,0	2,0	87,12±4,3%
Concentración	2,0%	6,0%	6,0%	

Fuente: Elaboración propia.



$$\%Proteína = 77,17 - 2,72(T) - 8,38(pH) + 3,12(C) - 4,22(T)^2 - 1,88(T)(pH) - 0,98(T)(C) - 2,05(pH)^2 - 2,04(pH)(C) - 1,72(C)^2 \quad (Ec. 1)$$

**Figura 4.** Superficie de respuesta para la optimización de la concentración de proteína en función de la temperatura de hidrólisis y concentración de enzima (T=temperatura, C=concentración).

Fuente: Elaboración propia.

### 3.5. Caracterización del concentrado proteico optimizado

Los parámetros experimentales obtenidos a partir de la optimización del proceso hidrolítico en función de la superficie de respuesta, muestran la concentración de grasa, ceniza, humedad y proteína en el concentrado proteico (tabla 3).

**Tabla 3.** Parámetros optimizados del concentrado proteico

Grasa (%)	Ceniza (%)	Humedad (%)	Proteína (%)	Error Exp.
11,53±0,23	4,61±0,13	9,90±0,23	*86,09±0,71	1,18%
			87,12±4,30	

\*Valor experimental

**Fuente:** Elaboración propia.

Por su parte, los parámetros físico-químicos del concentrado proteico obtenido experimentalmente demostraron una concentración de proteína, grasa y ceniza que refuerza la calidad y el valor nutricional del producto obtenido; puesto que al comparar estos parámetros con las características de la sangre bovina (materia prima), la concentración de proteína aumenta 6 veces en relación al valor inicial. Esto confirma que el proceso hidrolítico para la obtención del concentrado proteico genera parámetros de calidad interesantes para la obtención de una materia prima de utilidad en la industria alimentaria. Bajo este mismo enfoque, Lynch *et al.* (2017) concluyen que existe un gran potencial para la obtención y purificación de proteínas a partir de la sangre bovina en el desarrollo de alimentos funcionales como galletas, bebidas, batidos de proteínas, carnes simuladas, gelatinas y geles (Hettiarachchy *et al.*, 2012).

### 3.6. Perfil de aminoácidos del concentrado proteico final

La concentración de los aminoácidos en la sangre bovina y en el concentrado proteico obtenido después del proceso hidrolítico, fue evaluada en función del perfil de aminoácidos como se muestra en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Perfil de aminoácidos de la sangre bovina y concentrado proteico

Aminoácido	Sangre bovina (mg/g)	Concentrado proteico (mg/g)
Acido Aspártico	2174,42	11020,00
Acido Glutámico	1774,22	16040,00
Serina	1160,58	14560,00
Histidina	1093,88	16260,00
Treonina	1293,98	12220,00
Glicina	893,78	6600,00
Arginina	560,28	16480,00
Alanina	1293,98	6440,00
Tirosina	747,04	2440,00
Valina	1560,78	9280,00
Metionina	493,58	740,00
Fenilalanina	1440,72	3240,00
Isoleucina	186,76	3480,00
Leucina	2187,76	4800,00
Lisina	2387,86	13720,00
<b>Aminoácidos Totales</b>	<b>19249,62</b>	<b>137320,00</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

Los aminoácidos que reflejaron una menor concentración en la sangre bovina fueron metionina (493,58 mg/g) e isoleucina (186,76 mg/g), lo cual coincide con el reporte de la FAO (1989). La FAO establece que la metionina es el primer aminoácido limitante en algunos alimentos proteínicos elaborados a base de sangre; señalando que la sangre es una fuente importante de histidina, valina y leucina. Lo cual fue corroborado en la presente investigación con la presencia de concentraciones elevadas de estos aminoácidos en la sangre bovina: histidina (1093,88 mg/g), valina (1560,78 mg/g) y leucina (2187,76 mg/g).

Según Taylor *et al.* (1977) en los subproductos y productos elaborados a partir de la sangre animal existe un efecto antagonista entre la concentración de los aminoácidos leucina/isoleucina y arginina/lisina, mismo que fue confirmado en los resultados obtenidos en esta investigación, debido a las amplias diferencias reportadas entre las concentraciones de estos aminoácidos tanto en la sangre bovina como en el concentrado proteico (**tabla 4**). Dentro del grupo de aminoácidos que presentaron



un comportamiento antagonista, la enzima *Corolase 7089* utilizada en esta investigación presenta mayor afinidad en la conversión de proteínas que contienen elevadas concentraciones de isoleucina y arginina, respectivamente.

Por otra parte, la comparación de las concentraciones de aminoácidos en la materia prima (sangre bovina) y el producto final reflejan que el concentrado proteico presenta un incremento (613%) en la concentración de todos los aminoácidos evaluados. Asimismo, con incrementos significativos entre la concentración inicial y final de aminoácidos que van desde 50% para la metionina hasta 2841% en la arginina. Los elevados incrementos en la concentración de aminoácidos como isoleucina, valina, alanina, fenilalanina y leucina estuvieron asociados con la especificidad que presenta la enzima *Corolase 7089* por los aminoácidos hidrofóbicos o no polares como lo informa (Fernández Alonso, 2015). Además, la concentración de arginina alcanza un incremento notable con respecto a su concentración inicial, lo cual se podría relacionar con la síntesis de este aminoácido que se desarrolló favorablemente durante la hidrólisis con la enzima *Corolase 7089*. Así mismo, Acuña y Caiza (2010) coinciden con este resultado, resaltando una concentración superior en arginina con respecto a los demás aminoácidos, en procesos hidrolíticos enzimáticos.

No obstante, otros estudios obtuvieron resultados que difieren con respecto a los obtenidos en esta investigación, puesto que establecieron una reducción en las concentraciones de aminoácidos como fenilalanina, treonina, valina, isoleucina y metionina (Elsohaimy *et al.*, 2015; Quelal *et al.*, 2019). Entre los factores asociados con este comportamiento, el tipo de procesamiento, la alimentación de la fuente que generó el sustrato y las condiciones climáticas que pueden afectar el contenido de aminoácidos, son los más representativos.

La concentración de aminoácidos en el producto final superó significativamente los límites propuestos en las normativas para suplementos e ingredientes proteicos en alimentación de pollos (Creswell & Swick, 2001; Khaksar & Golian, 2009) y patrones para dietas alimenticias de peces según la FAO (1989). En este sentido, Creswell y Swick (2001) y Khaksar y Golian (2009) propusieron que los subproductos funcionales derivados de la sangre utilizados en la alimentación de pollos de engorde deben respetar las siguientes especificaciones: concentración máxima de lisina (73,1 mg/g), metionina (8,5 mg/g), treonina (34,03 mg/g), arginina (19,51 mg/g), isoleucina (12 mg/g) y valina (48,16 mg/g). Por su parte, la FAO establece que los patrones de dietas alimenticias para un nivel proteínico del 40% en peces oscilan en el rango de arginina (17,2 mg/g), histidina (7,3 mg/g), isoleucina (11,2 mg/g), leucina (20,4 mg/g), lisina (23,7 mg/g), metionina (7,7 mg/g), fenilalanina (11,6 mg/g), valina (13,3 mg/g). Es evidente, que existe una alta concentración de aminoácidos esenciales y no esenciales en el concentrado proteico, lo cual guarda estrecha relación con la actividad

biocatalítica de la enzima *Corolase 7089* y otros factores operaciones del proceso como el pH y temperatura.

Ante esto, y debido a que la finalidad del concentrado proteico es constituirse en un suplemento alimenticio en dietas animales u otro proceso de la industria alimentaria, la aplicación de cantidades bajas del concentrado o el mezclado con otros alimentos funcionales son alternativas para el desarrollo de dietas para animales. Asimismo, es viable suministrar este producto como un suplemento alternativo con otros alimentos, sin embargo, se debe considerar que una dosificación muy elevada podría afectar los procesos metabólicos de los animales que consuman este producto.

#### **4. CONCLUSIONES**

Los parámetros operacionales pH, temperatura y concentración de enzima *Corolase 7089*, presentan una incidencia significativa sobre la hidrólisis de la sangre bovina. El rendimiento optimizado en la concentración de proteína ( $87,12 \pm 4,3\%$ ) refleja una afinidad por pH de 2, temperatura de  $47,7^\circ\text{C}$  a una concentración enzima del 6%. En cuanto a la correlación de las variables respuesta en función de los parámetros operacionales, la concentración de proteínas refleja una relación estadísticamente significativa con todos los parámetros evaluados, la concentración de grasa tuvo como único efecto estadístico la temperatura, mientras que la concentración de cenizas genera un efecto con la temperatura y el pH.

El proceso hidrolítico implementado permite la producción de un concentrado proteico de alto valor nutricional debido al aumento significativo en la concentración de aminoácidos esenciales y no esenciales, con incrementos que van desde el 49% hasta el 2841% en la metionina y arginina, respectivamente. El hidrolizado obtenido se muestra como una alternativa en el proceso de producción de alimento animal y posiblemente humana, considerando requerimientos importantes dentro de las normativas o reglamentaciones vigentes.

#### **5. RECOMENDACIONES**

Cabe señalar que cualquier proceso físico-químico que se implemente para modificar la composición del concentrado proteico puede generar potenciales efectos en su calidad nutricional; por lo cual, se recomienda evitar el calentamiento excesivo del concentrado, la mezcla o lavados con agua que podrían disminuir hasta un 33% la concentración de aminoácidos (Wu *et al.*, 2009), así como la adición de ácidos o bases fuertes en cualquier tratamiento químico de las proteínas del producto.

#### **6. DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS DE LOS AUTORES**

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

## 7. REFERENCIAS

- Acuña, O. & Caiza, J. (2010). Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*) a partir de harina integral. Departamento de Ciencia de los alimentos y biotecnología (DECAB). *Revista Politécnica*, 29(1), 70-77. [https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista\\_politecnica2/article/view/274](https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/274)
- Alencar, F. A. (1983). *Estudos da recuperacao das proteinas do plasma bovino por complexacao com fosfatos ea sua utilizacao em produtos carneos* [Thesis dissertation, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas].
- Arias, L., Gómez, L. J., & Zapata, J. E. (2017). Efecto de temperatura-tiempo sobre los lípidos extraídos de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) utilizando un proceso de calentamiento-congelación. *Información Tecnológica*, 28(5), 131-142. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000500014>
- Arrutia, F., Fernández, R., Menéndez, C., González, U. A., & Riera, F. A. (2017). Utilization of blood by-products: An in silico and experimental combined study for BSA usage. *Scientific Reports*, 7, 17250. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17029-2>
- Bah, C. S., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., & McConnell, M. A. (2013). Slaughterhouse blood: an emerging source of bioactive compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 314-331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12013>
- Barut, G. T., Lischer, H. E., Bruggmann, R., Summerfield, A., & Talker, S. C. (2020). Transcriptomic profiling of bovine blood dendritic cells and monocytes following TLR stimulation. *European Journal of Immunology*, 50(11), 1691-1711. <https://doi.org/10.1002/eji.202048643>
- Beltrán Fernández, C. & Perdomo Robayo, W. F. (2007). *Aprovechamiento de la sangre de bovino para la obtención de harina de sangre y plasma sanguíneo en el Matadero Santa Cruz de Malambo Atlántico* [Tesis de grado. Universidad de La Salle, Colombia]. [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1106&context=ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1106&context=ing_alimentos)
- Creswell, D., & Swick, R. A. (2001). Formulating with digestible amino acids. *Asian Poultry Magazine*, 9.
- Dafferner, A. J., Lushchekina, S., Masson, P., Xiao, G., Schopfer, L. M., & Lockridge, O. (2017). Characterization of butyrylcholinesterase in bovine serum. *Chemico-Biological Interactions*, 266, 17-27. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.02.004>
- Elsohaimy, S. A., Refaay, T. M., & Zaytoun, M. A. M. (2015). Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 297-305. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.007>
- European Commission. (2010). Preparatory Study on Food Waste across EU 27 Technical Report - 2010 – 054. <https://doi.org/10.2779/85947>
- FAO. (1989). *Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados. Manual de Capacitación. Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil.* <http://www.fao.org/3/AB492S/AB492S00.htm>
- FAO. (2012). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: <http://faostat.fao.org>. Accessed 2021 Jan 22.
- Fenoglio, C. L., Vierling, N., Manzo, R., Ceruti, R., Sihufe, G., & Mammarella, E. (2016). Whey protein hydrolysis with free and immobilized alcalase: Effects of operating parameters on the modulation of peptide profiles obtained. *American Journal of Food Technology*, 11(4), 152-158. <https://doi.org/10.3923/ajft.2016.152.158>
- Fernández Alonso, R. (2015). *Hidrólisis enzimática de Seroalbúmina bovina. Producción de péptidos bioactivos* [Trabajo de Grado. Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo].
- FitzGerald, R. J., & O'cuinn, G. (2006). Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. *Biotechnology advances*, 24(2), 234-237. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.11.002>
- Gao, S. T., Guo, J., Quan, S. Y., Nan, X. M., Sanz Fernandez, M. V., Baumgard, L. H., & Bu, D. P. (2017). The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of dairy science*, 100(6), 5040-5049. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11913>

- Garcia-Garcia, G., Stone, J., & Rahimifard, S. (2019). Opportunities for waste valorisation in the food industry—A case study with four UK food manufacturers. *Journal of Cleaner Production*, 211, 1339-1356. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.269>
- Guan, H., Diao, X., Liu, D., Han, J., Kong, B., Liu, D., Gao, C., & Zhang, L. (2020). Effect of high-pressure processing enzymatic hydrolysates of soy protein isolate on the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein-prepared oil-in-water emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(10), 3910-3919. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10433>
- Hettiarachchy, N. S., Sato, K., Marshall, M. R., & Kannan, A. (2012). *Food proteins and peptides: chemistry, functionality, interactions, and commercialization*. CRC Press, Taylor & Francis.
- Kawahara, T., Aruga, K., & Otani, H. (2005). Characterization of casein phosphopeptides from fermented milk products. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 51(5), 377-381. <https://doi.org/10.3177/jnsv.51.377>
- Khaksar, V., & Golian, A. (2009). Comparison of ileal digestible versus total amino acid feed formulation on broiler performance. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(7), 1308-1311.
- Kinyua, M. N., Rowse, L. E., & Ergas, S. J. (2016). Review of small-scale tubular anaerobic digesters treating livestock waste in the developing world. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 896-910. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.324>
- Lafarga, T., & Hayes, M. (2017). Bioactive protein hydrolysates in the functional food ingredient industry: Overcoming current challenges. *Food Reviews International*, 33(3), 217-246. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175013>
- Lafarga, T., Wilm, M., Wynne, K., & Hayes, M. (2016). Bioactive hydrolysates from bovine blood globulins: Generation, characterisation, and in silico prediction of toxicity and allergenicity. *Journal of Functional Foods*, 24, 142-155. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.031>
- Lecrenier, M. C., Marbaix, H., Dieu, M., Veys, P., Saegerman, C., Raes, M., & Baeten, V. (2016). Identification of specific bovine blood biomarkers with a non-targeted approach using HPLC ESI tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 213, 417-424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.113>
- Liu, W., Wu, R., Wang, B., Hu, Y., Hou, Q., Zhang, P., & Wu, R. (2020). Comparative study on different pretreatment on enzymatic hydrolysis of corncob residues. *Bioresource Technology*, 295, 122244. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122244>
- Lynch, S. A., Mullen, A. M., O'Neill, E. E., & Álvarez García, C. (2017). Harnessing the potential of blood proteins as functional ingredients: A review of the state of the art in blood processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 330-344. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12254>
- Mazloomi, S. N., Mahoonak, A. S., Mora, L., Ghorbani, M., Houshmand, G., & Toldrá, F. (2021). Pepsin Hydrolysis of Orange By-Products for the Production of Bioactive Peptides with Gastrointestinal Resistant Properties. *Foods*, 10(3), 679. <https://doi.org/10.3390/foods10030679>
- Morone, P., Koutinas, A., Gathergood, N., Arshadi, M., & Matharu, A. (2019). Food waste: challenges and opportunities for enhancing the emerging bio-economy. *Journal of Cleaner Production*, 221, 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.02.258>
- Muvdi-Nova, C. J., Mora-García, S. A., & Caceres-Roa, S. A. (2021). Evaluación de la concentración de lactosuero ácido clarificado de leche bovina mediante la técnica de evaporación de película descendente al vacío. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(1), e1241. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num1\\_art:1241](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num1_art:1241)
- Narva, C., & Romero, F. (2008). *Evaluación de la influencia de la temperatura y el flujo de aire en el secado de efluentes sanguíneos para la obtención de harina de sangre de alto contenido proteico en el camal El Porvenir – Trujillo* [Tesis de grado. Ingeniería Química. Universidad Nacional de Trujillo]. <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9170>
- Ockerman, H. (2000). *Industrialización de subproductos*. 2da edición. Barcelona: Editorial Starling. pp. 13-19.
- O'Sullivan, S. M., Lafarga, T., Hayes, M., & O'Brien, N. M. (2017). Anti-proliferative activity of bovine blood hydrolysates towards cancer cells in culture. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(4), 1049-1056. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13371>

- Parrón, J. A., Ripollés, D., Navarro, F., Ramos, S. J., Pérez, M. D., Calvo, M., & Sánchez, L. (2018). Effect of high pressure treatment on the antirotaviral activity of bovine and ovine dairy by-products and bioactive milk proteins. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 265-273. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.007>
- Procentese, A., Raganati, F., Olivieri, G., Russo, M. E., & Marzocchella, A. (2017). Pre-treatment and enzymatic hydrolysis of lettuce residues as feedstock for bio-butanol production. *Biomass and bioenergy*, 96, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.11.015>
- Qi, W., Su, R., & He, Z. (2007). Transformation of antimicrobial into bradykinin-potentiating peptides during peptic hydrolysis of bovine haemoglobin: identification, release kinetics and reaction network of peptides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(3), 461-469. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2734>
- Quelal, M., Nazate, K., Villacrés, E., & Cuarán, J. (2019). Obtención y caracterización de un hidrolizado proteico de quinua *Chenopodium quinoa Willd.* *Enfoque UTE*, 10(2), 79-89. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v10n2.424>
- Saha, B. C., & Hayashi, K. (2001). Debittering of protein hydrolyzates. *Biotechnology Advances*, 19(5), 355-370. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(01\)00070-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00070-2)
- Stenmarck, Å., Jensen, C., Queded, T., & Moates, G. (2016). *Estimates of European food waste levels*. IVL Swedish Environmental Research Institute.
- Taylor, S. J., Cole, D. J. A., & Lewis, D. (1977). An Interaction of leucine, isoleucine and valine in the diet of the growing pig. *Proceedings of the Nutrition Society*, 36, 36A.
- Tutu, B. O., & Anfu, P. O. (2019). Evaluation of the food safety and quality management systems of the cottage food manufacturing industry in Ghana. *Food Control*, 101, 24-28. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.02.028>
- Varelis, P., Melton, L., & Shahidi, F. (2018). *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier.
- Wu, H., Wang, Q., Ma, T., & Ren, J. (2009). Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42(3), 343-348. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.006>
- Zapata, J. E., Moya, M., & Figueroa, O. A. (2019). Hidrólisis enzimática de la proteína de vísceras de trucha arco íris (*Oncorhynchus mykiss*): Efecto del tipo de enzima, temperatura, pH y velocidad de agitación. *Información Tecnológica*, 30(6), 63-72. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000600063>

#### Contribución de autores

Autor	Contribución
Richard Marcelo Montanero-Zambrano	Concepción y diseño, redacción del artículo, metodología, revisión, desarrollo del experimento, búsqueda bibliográfica, búsqueda de información.
Genesis Dayana Moreira-Bravo	Concepción y diseño, redacción del artículo, metodología, revisión, desarrollo del experimento, búsqueda bibliográfica, búsqueda de información.
Ernesto Alonso Rosero-Delgado	Diseño, revisión, validación, redacción del artículo.

