

ELABORACION Y CARACTERISTICAS NUTRICIONALES DE UN HIDROLIZADO DE PEPITONA (*Arca zebra*)

Josefina Arbej¹ y Gonzalo Luna¹

Facultad de Ciencias
Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

RESUMEN

Se elaboraron dos productos solubles en forma de harina, resultantes de la hidrólisis de la pepitona (*Arca zebra*). Para el caso, se utilizó la enzima papaína en sus condiciones óptimas de hidrólisis (40°C durante dos horas, a un pH de 7 y en una proporción de 0.3% de peso/enzima/100 g de carne).

El hidrolizado obtenido se sometió a dos técnicas de deshidratación diferentes, esto es, por tambor a 121°C y 18 segundos de tiempo de retención, y por atomización a 101°C y 40 psi de presión. Una vez elaborados los productos, se almacenaron a temperatura ambiente (25°C + 2°C) por un período de cinco meses, durante el cual se realizaron determinaciones químicas en ambos hidrolizados. Se demostró que el tiempo de almacenamiento ejerce un efecto significativo sobre el deterioro del producto, presentándose las mayores y significativas pérdidas de calidad en el transcurso de los dos primeros meses.

Las técnicas de deshidratación empleadas también ejercen efectos significativos sobre el contenido de nitrógeno soluble, nitrógeno no proteínico, contenido de sólidos solubles y el color de los hidrolizados. La técnica de deshidratación por atomización produce un efecto menor de deterioro.

Los estudios biológicos demostraron que la calidad de ambos hidrolizados es satisfactoria, tanto desde el punto de vista nutricional como del de su composición de aminoácidos. Se encontró un índice de eficiencia proteínica (PER) de 2.27 y de 2.29 para el hidrolizado deshidratado por tambor, y para el obtenido por atomización, respectivamente. Con respecto a la composición de aminoácidos, los dos hidrolizados alcanzan niveles satisfactorios de aminoácidos esenciales, con un contenido de lisina de 6.9 g/100 g de proteína para el hidrolizado deshidratado por tambor, y de 8.6 g/100 g de proteína para el deshidratado por atomización.

INTRODUCCION

Los recientes avances en la utilización del pescado ofrecen grandes posibilidades para la elaboración de alimentos destinados al consumo hu-

Manuscrito modificado recibido: 18-6-85.

¹ Miembros del Departamento de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, Apartado 47097, Caracas 1041-A, Venezuela.

mano. Las propiedades nutricionales y organolépticas de este alimento justifican su mayor empleo en la alimentación humana, ya que es un excelente complemento de dietas que se basan en cereales y tubérculos (1).

Las técnicas de deshidratación constituyen una importante alternativa para la elaboración de alimentos de origen animal deshidratados, debido a que su larga vida de almacenamiento permite su fácil transporte y abastecimiento. No obstante, se debe tener presente que el proceso como tal, conlleva al desarrollo de ciertas reacciones indeseables. Estas son proporcionales a la temperatura y al tiempo de procesamiento, afectando en grado variable el color, sabor y disponibilidad de algunos aminoácidos (2-4).

La reacción de oscurecimiento no enzimático tipo Maillard (5) y el fenómeno de oxidación lipídica (6) son graves problemas que se presentan en los productos marinos deshidratados, conduciendo a una pérdida de la calidad organoléptica y nutricional.

Los objetivos del trabajo que nos ocupa fueron:

1. Elaborar un hidrolizado proteínico de pepitona (*Arca zebra*) utilizando la enzima papaína en sus condiciones óptimas de hidrólisis ante este sustrato, determinadas previamente.
2. Determinar los parámetros de procesamiento por deshidratación (tambor y atomización) que ocasionen el mínimo deterioro de las características químicas, nutricionales y organolépticas, así como el comportamiento de tales hidrolizados durante un período de cinco meses de almacenamiento.
3. Determinar tanto la calidad nutricional de los hidrolizados mediante pruebas biológicas como su composición de aminoácidos.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Materia prima y preparación de las muestras. Para preparar el hidrolizado proteínico a partir de la pepitona (*Arca zebra*) se siguieron las condiciones establecidas por Baixeras y Luna (7), utilizando las condiciones óptimas de la papaína para la hidrólisis del sustrato.

En la elaboración del hidrolizado mediante la técnica de deshidratación por atomización se utiliza directamente el sobrenadante resultante de la centrifugación y deshidratado en un deshidratador marca SFD (Swenson Division of Whiting Corporation), modelo industrial, a una temperatura de 101°C y a 40 psi de presión. Con ello se logra la obtención de un hidrolizado cuyo contenido de humedad es de 2.50%.

Para elaborar el hidrolizado mediante la técnica de deshidratación por tambor, el sobrenadante es previamente preconcentrado en un rotoevaporador marca W.A. Bachofen, Basel, cuyo balón es sumergido en un baño de agua a una temperatura aproximada de 65-70°C hasta alcanzar la concentración final de 30.28% de sólidos totales. El producto resultante de la preconcentración es de inmediato deshidratado por tambor en un deshidratador marca GF Dryer Flaker DIV 23158, Modelo 20, a una temperatura de 121°C y 18 segundos de tiempo de retención. Se logra así un producto con un contenido de humedad de 2.23%.

Una vez elaborados, los productos se almacenaron en envases de hoja-

lata de medidas 211 x 201 recubiertos internamente con esmalte C, a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), durante un período de cinco meses.

Metodos

El contenido de nitrógeno total, nitrógeno soluble, grasa y azúcares totales y reductores, se determinó valiéndose de los métodos de la AOAC (8).

El contenido de nitrógeno no proteínico se estableció según el método notificado por Koury, Spinelli y Wieg (9), y por Spinelli, Groniger y Koory (10).

El oscurecimiento no enzimático se determinó midiendo la absorbancia de los compuestos solubles en etanol al 80^o/o. Para ello, se tomaron de 2-4 g de muestra, los cuales se homogenizaron en 25 ml de etanol al 80^o/o y el homogenizado se llevó a volumen total de 50 ml con agua destilada. Luego se filtró y se leyó la absorbancia a 420 nm. Los resultados se expresan como absorbancia medida a 420 nm por gramo de muestra.

El color fue determinado mediante un colorímetro marca Hunter/Lab Color Difference Meter, Modelo D-25. Para la estandarización del instrumento se utilizó una placa estándar número DC-286, la cual tiene los siguientes valores: $L=91.3$, $b=1.4$ y $a=-0.9$.

Para establecer la composición de aminoácidos de ambos hidrolizados, se aplicó cromatografía líquida de alta presión.

Propiedades biológicas. Los ensayos se llevaron a cabo en 30 ratas, 15 de cada sexo, de la especie Sprague Dawley, con un peso inicial de 36 a 55 g. Luego se seleccionaron tres hembras y tres machos, formando cinco grupos combinados. Estas se alimentaron, respectivamente, con una de las cinco dietas siguientes, durante 21 días: 1) dieta de referencia (caseína); 2) dieta de lactalbúmina al 8^o/o; 3) dieta libre de nitrógeno (aproteínica); 4) dieta del Ensayo I (hidrolizado, deshidratado por tambor), y 5) dieta del Ensayo II (hidrolizado, deshidratado por atomización). Se determinaron los valores del índice de eficiencia proteínica (PER), PER corregido, razón proteínica neta (NPR) y digestibilidad aparente (Da).

Análisis estadístico. Los resultados experimentales obtenidos a lo largo del período de almacenamiento, así como los hallazgos de las pruebas biológicas de calidad, fueron analizados estadísticamente por análisis de varianza (11). Se empleó la Tabla de Ensayos Múltiples de F a 95^o/o de confiabilidad (11).

RESULTADOS Y DISCUSION

Para conocer el efecto que ejercen las técnicas de deshidratación empleadas en este estudio, los hidrolizados, deshidratados, fueron reconstituidos a las condiciones originales del sobrenadante previo a su deshidratación. Los resultados referentes al contenido de nitrógeno soluble revelaron que el hidrolizado deshidratado por la técnica de tambor contiene cantidades significativamente inferiores que la cantidad existente en el hidrolizado obtenido mediante deshidratación por atomización. Además, se demostró que ambas técnicas de deshidratación ejercen efectos significativos sobre este parámetro evaluado, comparándolas con las características

presentes en el sobrenadante. Asimismo, se constató que la técnica de deshidratación por atomización induce un cambio significativamente menor en el contenido de sólidos solubles, el grado de oscurecimiento no enzimático, y el parámetro L de color, en comparación con el hidrolizado deshidratado por tambor. Ambas técnicas de deshidratación producen cambios igualmente significativos en estos parámetros si se comparan con las características del sobrenadante (Tabla 1). Estas observaciones pueden ser explicadas si se tiene en cuenta el hecho de que para deshidratar el hidrolizado por la técnica de tambor, es necesario preconcentrar antes el sobrenadante. Aun cuando se emplean temperaturas alrededor de 65°-70°C, este tratamiento puede ocasionar desnaturalización de la proteína, oscurecimiento no enzimático y/o una oxidación de las grasas. Producen una disminución en el contenido de nitrógeno soluble y en el contenido de sólidos solubles, así como mayor grado de oscurecimiento en el producto. Por otra parte, la temperatura que se emplea para deshidratar el hidrolizado por la técnica de tambor (121°C) es también condición que favorece

TABLA 1

COMPARACION DE LOS VALORES MEDIOS OBTENIDOS PARA EL CONTENIDO DE NITROGENO TOTAL, NITROGENO SOLUBLE, NITROGENO NO PROTEINICO, SOLIDOS SOLUBLES, OSCURECIMIENTO NO ENZIMATICO, Y PARAMETRO L DE COLOR EN EL SOBRENADANTE Y EN LOS HIDROLIZADOS DESHIDRATADOS RECONSTITUIDOS¹

	Sobrenadante	Hidrolizado	
		Deshidratado por tambor, reconstituido	Deshidratado por atomización, reconstituido
Nitrógeno total, %	0.856 (100%)	0.748 (100%)	0.751 (100%)
Nitrógeno no proteínico, %	0.646 (75.5%) ^a	0.524 (70.1%) ^b	0.556 (74.0%) ^b
Nitrógeno soluble, %	0.651 (76.1%) ^a	0.529 (70.7%) ^b	0.561 (74.7%) ^c
Sólidos solubles, %	6.901 ^a	5.908 ^b	6.548 ^c
Oscurecimiento no enzimático (Abs. 420 nm)	0.065 ^a	0.509 ^b	0.478 ^c
Parámetro L de color	63.155 ^a	52.190 ^b	56.815 ^c
Color (ΔE)	49.817	44.488	42.452

1 Los hidrolizados deshidratados fueron reconstituidos a las condiciones del sobrenadante original previo a la deshidratación (92.54% de humedad).

Los valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de nitrógeno en función de contenido de nitrógeno total.

Las medias con diferente letra, en una misma línea, son diferentes ($P < 0.05$).

el desarrollo de estas reacciones deteriorativas. Estas se presentan en grado significativamente mayor que en el hidrolizado deshidratado por atomización.

El hidrolizado deshidratado por tambor acusa un contenido de grasa menor que el deshidratado por atomización (Tabla 2), principalmente por efecto de la separación del aceite que se produce durante la deshidratación por tambor. Este efecto fue observado también por Spinelli *et al.* (12), en pescado deshidratado.

En la Tabla 2 se muestran las variaciones que se producen en los parámetros químicos y físicos evaluados durante el período de almacenamiento, en ambos hidrolizados. Se demostró que para la mayoría de las determinaciones realizadas existen diferencias significativas entre ambos hidrolizados, y que el tiempo de almacenamiento ejerce un efecto significativo sobre los mismos, produciéndose las mayores y significativas pérdidas durante los dos primeros meses de este período. No obstante, es evidente que durante el período de almacenamiento no se producen variaciones significativas en el contenido de azúcares reductores, en el parámetro L de color y sobre el desarrollo de oscurecimiento, expresado como absorbancia a 420 nm.

Se encontró una relación directa entre el grado de oxidación de las grasas y una disminución del contenido de nitrógeno soluble y no proteínico durante el período de almacenamiento en ambos hidrolizados. Así, existe una correlación positiva significativa de 0.998 y de 0.997 para el contenido de nitrógeno soluble, no proteínico, respectivamente, en el hidrolizado deshidratado por tambor, y de 0.954 y 0.917, en ese orden, en el hidrolizado deshidratado por atomización. Estos resultados permiten, pues, confirmar el efecto negativo que los compuestos resultantes de la oxidación lipídica ejercen sobre la solubilidad del nitrógeno de estos hidrolizados.

Los datos experimentales en cuanto a la calidad biológica de ambos hidrolizados proteínicos se aprecian en la Tabla 3. Estos demuestran que no existen diferencias significativas entre las dietas sometidas a ensayo en lo referente a ganancia de peso, cantidad de proteína consumida, valores de PER y de Da, cantidad de nitrógeno consumido, y cantidad de nitrógeno excretado. Sin embargo, se evidenció la existencia de diferencias significativas entre las dietas de prueba con respecto a los valores de NPR. Así, se obtuvo un valor de lactalbúmina significativamente superior, no encontrándose diferencias significativas entre la caseína y ambos hidrolizados.

El ensayo biológico de calidad demostró que las técnicas de deshidratación empleadas en este estudio no afectan en forma significativa la calidad nutricional de los hidrolizados. A pesar de que en comparación con el hidrolizado deshidratado por atomización, el hidrolizado deshidratado por tambor acusa un desarrollo significativo de reacciones indeseables, como oscurecimiento no enzimático y oxidación de las grasas por ejemplo, estas reacciones no afectan la calidad biológica de los hidrolizados. Ello indica que ambos productos tienen un contenido de aminoácidos adecuado que permite el crecimiento satisfactorio de los animales de experimentación. Estos resultados son de suma importancia, si se considera que el ensayo de calidad biológica de ambos hidrolizados, se realizó en un momento del período de almacenamiento en el que se habían presentado las pérdidas más significativas en el contenido lipídico y en el contenido de nitrógeno soluble y no proteínico (cuatro meses).

TABLA 2

VALORES MEDIOS DE LOS INDICES DETERMINADOS EN LOS HIDROLIZADOS DE PEPITONA (*Arca Zebra*), DESHIDRATADOS POR TAMBOR (A) Y POR ATOMIZACION (B) DURANTE SU ALMACENAMIENTO A 25°C ± 2°C

		Tiempo de almacenamiento (Días)					
		0	30	60	90	120	150
Humedad, %	A	3.000 ^{2a}	3.227 ^a	2.564 ^a	2.955 ^a	2.818 ^a	2.713 ^a
	B	2.436 ^a	2.081 ^a	2.071 ^a	2.581 ^a	2.532 ^a	2.333 ^a
Grasa, %	A	1.811 ^a	1.775 ^b	1.426 ^c	1.365 ^c	1.388 ^c	1.381 ^c
	B	5.047 ^{ab}	4.685 ^{bc}	4.467 ^{cd}	4.413 ^{cd}	4.347 ^{cd}	4.306 ^{cd}
Nitrógeno no proteínico, %	A	9.302 ^a	9.223 ^a	6.788 ^b	6.580 ^c	6.327 ^d	6.320 ^d
	B	9.870 ^{ab}	9.685 ^{ab}	7.285 ^{bc}	6.808 ^{cd}	6.691 ^{de}	6.687 ^{de}
Nitrógeno soluble, %	A	0.327 ^a	9.115 ^b	7.236 ^c	7.114 ^d	6.922 ^e	6.890 ^e
	B	9.924 ^{ab}	9.743 ^{bc}	7.503 ^{cd}	7.335 ^{de}	7.159 ^{ef}	7.090 ^{ef}
Oscurecim. no enzimático, Abs.	A	0.565 ^a	0.555 ^a	0.531 ^a	0.543 ^a	0.548 ^a	0.548 ^a
	B	0.525 ^a	0.481 ^a	0.492 ^a	0.477 ^a	0.489 ^a	0.466 ^a
Azúcares reductores, %	A	1.439 ^a	1.397 ^a	1.184 ^a	0.917 ^a	0.908 ^a	0.908 ^a
	B	8.653 ^a	8.331 ^a	6.469 ^a	5.719 ^a	5.693 ^a	5.690 ^a
Parámetro L de color	A	58.420 ^a	56.380 ^a	53.450 ^a	48.790 ^a	48.890 ^a	48.550 ^a
	B	65.210 ^a	63.920 ^a	62.280 ^a	61.990 ^a	61.510 ^a	61.130 ^a

Las medias con diferente letra son diferentes (P < 0.05).

TABLA 3

EVALUACION DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS HIDROLIZADOS DE
PEPITONA (*Arca zebra*), DESHIDRATADOS POR TAMBOR Y
POR ATOMIZACION

		Caseína	Lactalbú- mina	Aproteí- nica	Hidrolizado	
					Deshid. por tambor	Deshid. por atomización
Proteína en dieta, %	A	12.29	11.56	—	13.50	13.80
	B	12.29	11.56	—	13.50	13.80
Aumento de peso, g	A	49.55	60.50	10.00	52.70	46.60
	B	76.95 ^a	—	—	71.27 ^a	66.98 ^a
Dieta inge- rida, g	A	149.10	147.20	65.50	136.80	133.60
	B	244.90	—	—	232.90	215.90
Proteína ingerida, g	A	18.32	17.02	—	18.46	18.43
	B	30.09 ^a	—	—	31.45 ^a	29.79 ^a
PER		2.583 ^a	—	—	2.274 ^a	2.294 ^a
PER corre- gido		2.500 ^a	—	—	2.202 ^a	2.221 ^a
NPR		3.341 ^a	4.105 ^b	—	3.407 ^a	3.257 ^a
		A: 14 días de ensayo			B: 21 días de ensayo	

	Caseína	Hidrolizado	
		Deshidratado por tambor	Deshidratado por atomización
Nitrógeno consu- mido, g	4.716 ^a	5.033 ^a	4.767 ^a
Peso heces, g	5.902	7.125	6.782
Nitrógeno excre- tado, g	0.268 ^a	0.3048 ^a	0.3053 ^a
Nitrógeno absor- bido, g	4.449 ^a	4.829 ^a	4.462 ^a
Da	0.942 ^a	0.939 ^a	0.937 ^a

Las medias con diferente letra, en una misma línea, son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

El contenido de aminoácidos existentes en ambos hidrolizados se muestra en la Tabla 4. Según se aprecia, ese contenido satisface los requerimientos mínimos de crecimiento de los animales de prueba y del hombre, así como de mantenimiento. Se observa, asimismo, que en los hidrolizados, dichos valores no difieren considerablemente del contenido en la carne cruda de la pepitona (*Arca zebra*). Además, existe una proporción satisfactoria de aminoácidos esenciales, lo que asegura la calidad nutricional de tales hidrolizados y de los productos a los cuales se adiciona.

Con base en los resultados, podemos concluir que estos hidrolizados tienen un importante potencial de uso como fuentes nitrogenadas enriquecedoras de alimentos de consumo convencional en la dieta de humanos.

TABLA 4

COMPOSICION DE AMINOACIDOS DE LA PEPITONA (*Arca Zebra*)
FRESCA Y DE LOS HIDROLIZADOS, DESHIDRATADOS
POR TAMBOR Y POR ATOMIZACION¹

Aminoácidos esenciales	Otros aminoácidos	Pepitona fresca	Hidrolizado	
			por tambor	por atomización
Histidina		3.90	8.10	3.10
Triptófano		—	—	—
Fenil. + Tir.		20.10	17.40	24.50
Val. + Treon.		9.90	9.80	10.30
Leuc. + Isol.		12.80	13.00	12.60
Met. + Cistin.		3.70	4.00	—
Lisina		7.60	6.90	8.60
	Glicina	5.60	5.90	5.70
	Prolina	4.10	3.90	3.90
	Serina	5.10	5.00	4.40
	Aspártico	3.30	3.10	3.10
	Arginina	2.70	2.90	7.20
	Alanina	5.40	5.60	5.20
	Glutámico	15.60	14.30	11.40
	Cisteína	—	—	—
	Hidroxiprol.	—	—	—

¹ Los valores se expresan en g de aminoácidos por 100 g de proteína.

SUMMARY

PREPARATION AND NUTRITIONAL CHARACTERISTICS OF
A HYDROLYSATE FROM PEPITONA (*Arca zebra*)

Two soluble products resulting from the hydrolysis of pepitona (*Arca zebra*) were prepared as flour. Papain at its optimum hydrolysis conditions, previously established, was the enzyme used (40°C for two hours at a pH of 7 in the proportion of 0.3% weight/enzyme/100 g meat).

The hydrolysate obtained was then subjected to two different dehydration techniques: drum drying at 121°C and 18 seconds retention, and spray drying at 101°C and 40 psi pressure. The products were then stored for a five-month period at a temperature of 25°C ± 2°C, time during which chemical determinations were performed in both hydrolysates. Findings showed that the time of storage does exert a significant effect of deterioration on the products. The greater and more significant quality losses occur during the first two months.

The dehydration techniques used also affect significantly the soluble nitrogen content, and non-protein nitrogen and soluble solids content, as well as color of pepitona hydrolysates. Spray-drying dehydration technique does not have a significant deteriorating effect.

Biological studies undertaken demonstrated that the quality of both hydrolysates is satisfactory from the nutritional and amino acid composition points of view. A protein efficiency ratio (PER) of 2.27 and 2.29 was determined for the hydrolysate dehydrated by drum drier and for the dehydrated by spray drier, respectively. With regard to amino acid composition, both had satisfactory levels of essential amino acids, with a lysine content of 6.9 g/100 g protein for the hydrolysate dehydrated by drum drying, and 8.6 g/100 g protein for the other hydrolysate dehydrated by spray drying.

BIBLIOGRAFIA

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Informe de Pesca No. 175, 1978.
2. Duckworth, J. & A. A. Woodham. *J. Sci. Food Agric.*, **12**: 5, 1961. (Citado por de Groot, A. P.).
3. de Groot, A. P. The influence of dehydration of foods on the digestibility and the biological value of the protein. *Food Technol.*, **17**: 103, 1963.
4. Fennema, O. *Principles of Food Science*. Vol. IV, Part I. *Food Chemistry*. Owen R. Fennema (Ed.). New York, N. Y., Marcel Dekker, Inc., 1976. (Food Sciences - a series of Monographs).
5. Burke, R. F. & R. V. Decareau. Recent advances in the freeze-drying of food products. *Advances in Food Research*, **13**: 1, 1964.
6. Chipault, J. R. & J. M. Hawkins. Lipid autoxidation in freeze-dried meats. *J. Agric. Food Chem.*, **19**: 495, 1971.
7. Baixeras, S. L. & G. Luna. Fijación de las condiciones de procesamiento para la obtención de un hidrolizado de pepitona (*Arca zebra*) para consumo humano. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **35**: 666-676, 1985.
8. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. Washington, D. C., The Association, 1980.
9. Koury, B., J. Spinelli & D. Wieg. Protein autolysis rates at various pH's and temperatures in the hake merluccious products, and Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, and their effect on yield in the preparation of fish protein concentrate. *Fish Bulletin*, **69**: 241, 1971.
10. Spinelli, J., H. S. Groninger Jr. & B. Koury. Preparation and properties of chemically and enzymically modified protein isolates for use as food ingredients. *J. Food Sci.*, **37**: 283, 1972.
11. Larmond, E. *Methods for Sensory Evaluation of Food*. Canada Department of Agriculture, 1970. (Publication 1284).