

## Revalorización de la proteína colagénica de residuos de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) mediante la extracción de gelatina de calidad superior

### Revaluation of collagenic protein from mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) residues by extraction of superior quality gelatin

Renzo Romero-Santivañez<sup>1,\*</sup>, Silvia Pandia-Estrada<sup>2</sup>, Armando Solari-Godíño<sup>3</sup>, Alberto Salas-Maldonado<sup>4</sup>, César Pizardi-Díaz<sup>1</sup>

#### RESUMEN

El propósito de este trabajo fue optimizar las condiciones de extracción de gelatina a partir de piel de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) utilizando un diseño compuesto central de cinco niveles empleando la metodología de superficie de respuesta. Se evaluaron los efectos de la temperatura de extracción (40-70 °C), el tiempo de extracción (60-400 min) y la concentración de ácido cítrico (0.1-0.9%) sobre las respuestas de fuerza de gel (g) y rendimiento de proteína (%). Las condiciones óptimas de extracción fueron 56.8 °C, 331 min y 0.26% de ácido cítrico. Los valores experimentales de las respuestas fueron 387 ± 4.5 g de fuerza de gel y 20.4 ± 0.08% de rendimiento de proteína. La gelatina obtenida fue caracterizada y los resultados mostraron un alto contenido de proteína (88.3%) y bajo contenido de cenizas (1.0%). El principal aminoácido fue la glicina (20.9%) y el contenido de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) fue de 18.7%, mientras que el contenido de

<sup>1</sup> Facultad de Pesquería, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú

<sup>2</sup> Dirección de Investigación, Desarrollo, Innovación y Transferencia Tecnológica, Instituto Tecnológico de la Producción-ITP, Callao, Perú

<sup>3</sup> Departamento de Comercialización y Desarrollo, Pesquera Diamante, Lima, Perú

<sup>4</sup> Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica-CITE Pesquero Callao, Callao, Perú

\* E-mail: renzo.aaron.7@gmail.com

Recibido: 3 de febrero de 2022

Aceptado para publicación: 12 de noviembre de 2022

Publicado: 27 de febrero de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

aminoácidos esenciales fue de 22.35 g/100 g de proteína. Los valores de los puntos de gelificación y fusión fueron 17.6 y 25.6 °C, respectivamente. La viscosidad a 60 °C fue de 11.0 cP y el valor de pH fue de 4.9. La gelatina de piel de mahi-mahi cumple con los requisitos fisicoquímicos exigidos para una gelatina comestible.

**Palabras clave:** piel de pescado, fuerza de gel, rendimiento

## ABSTRACT

The aim of this work was to optimize the conditions for gelatine extraction from mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) skin using a five-level central composite design using the response surface methodology. The effects of extraction temperature (40-70 °C), extraction time (60-400 min), and citric acid concentration (0.1-0.9%) on gel strength (g) and protein yield (%) were evaluated. The optimal extraction conditions were 56.8 °C, 331 min and 0.26% citric acid. The experimental values of the responses were  $387 \pm 4.5$  g gel strength and  $20.4 \pm 0.08\%$  protein yield. The gelatine obtained was characterized and the results showed a high protein content (88.3%) and low ash content (1.0%). The main amino acid was glycine (20.9%) and the content of imino acids (proline and hydroxyproline) was 18.7%, while the content of essential amino acids was 22.35 g/100 g of protein. The values of the gelation and melting points were 17.6 and 25.6 °C, respectively. The viscosity at 60 °C was 11.0 cP and the pH value was 4.9. Mahi-mahi skin gelatine meets the physical and chemical requirements for an edible gelatine.

**Key words:** fish skin, gel strength, yield

## INTRODUCCIÓN

Varios estudios han informado sobre la extracción y caracterización de gelatinas de piel de pescado de varias especies comerciales, incluidos peces de acuicultura como la trucha arcoíris (Tabarestani *et al.*, 2010), carpa común, carpa herbívora (Ninan *et al.*, 2010), tilapia (Niu *et al.*, 2013) y peces marinos como el atún de aleta amarilla (Cho *et al.*, 2005), y tiburón perro (Shyni *et al.*, 2014). Sin embargo, la piel de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) no ha sido estudiada como fuente de producción de gelatina de pescado. En este sentido, Cho *et al.* (2005), Karim y Bhat (2009) y Muyonga *et al.* (2004) indicaron que las gelatinas de pescado de aguas cálidas poseen mejores propiedades (fuerza de gel, viscosidad, puntos de fusión y gelificación) que las gelatinas de peces de aguas frías y son similares a las gelatinas

obtenidas de mamíferos. Los fabricantes de gelatina consideran que la fuerza del gel es la propiedad física más importante porque determina el valor comercial de la gelatina, mientras que el rendimiento de proteína está relacionado con la rentabilidad (GMIA, 2019). Tanto la fuerza de gel como el rendimiento de proteínas dependen de las condiciones de extracción empleadas (Gómez *et al.*, 2002) y pueden mejorarse mediante la optimización.

El mahi-mahi (*C. hippurus*) es una especie pesquera epipelágica de aguas cálidas que se distribuye en los océanos Pacífico, Atlántico e Índico y en el mar Mediterráneo. La pesquería peruana de mahi-mahi representa el 50% de la captura total a nivel mundial (Amorós *et al.*, 2017), habiéndose capturado 47 711 toneladas en 2018 (Ministerio de la Producción, 2018). El procesamiento primario de esta especie genera una gran cantidad de subproductos como las pieles que

representan alrededor de 12% del peso total (Barriga *et al.*, 2012) y, en consecuencia, problemas ecológicos y de contaminación ambiental sin una regulación adecuada. Shyni *et al.* (2014) sostienen que la conversión de residuos en productos con valor agregado puede ser beneficiosa para la industria pesquera.

La piel de mahi-mahi es particularmente fuerte y resistente, características relacionadas con su alto contenido de colágeno, el cual puede ser transformado a gelatina soluble a través de etapas que involucran la interacción de las principales variables que influyen sobre el proceso de extracción. La metodología de superficie de respuesta (MSR) es una herramienta eficaz para la optimización de procesos y, en este caso, para la obtención de gelatina con mejores propiedades. Se han reportado varios procesos de optimización en la extracción de gelatina (Cho *et al.*, 2005; Wangtueai y Noomhorm, 2009; Ardekani *et al.*, 2013). Es así que el propósito de este estudio fue determinar las condiciones óptimas para la extracción de gelatina de piel de mahi-mahi y obtener la máxima fuerza de gel y rendimiento proteico utilizando MSR. Además, se analizaron las características fisicoquímicas de la gelatina de piel para evaluar su potencial aplicación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico

Las pieles de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) se obtuvieron a partir del fileteo del recurso en el Terminal Pesquero Mayorista de Ventanilla (TPMV), Callao, Perú. La longitud de los pescados y de las pieles fluctuaron entre 100-110 cm y 75-85 cm, respectivamente. El material residual (escamas y carnes adheridas) se eliminó manualmente con un cuchillo.

La gelatina de piel se extrajo siguiendo el método de Gómez-Guillén *et al.* (2002) con ligeras modificaciones. En el laboratorio, las

pieles frescas fueron lavadas, cortadas en trozos de 1-2 cm, y luego remojadas en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.05 M durante 3.0-3.5 h con agitación constante a temperatura fría ( $\sim 8 \pm 1$  °C) en una relación piel/solución de 1: 5 (p/v), para eliminar los lípidos y proteínas no colagénicas. Se drenó la solución alcalina (dos veces) y se lavaron con agua hasta alcanzar la neutralidad. En estas condiciones, las pieles se trataron con ácido cítrico 0.025 M durante 60-70 min con agitación constante a una temperatura  $\sim 8 \pm 1$  °C en una relación piel/solución de 1:5 (p/v). Posteriormente, se enjuagaron con agua hasta alcanzar un pH cercano a la neutralidad. Las extracciones de gelatina se realizaron en un rango de soluciones de ácido cítrico (0.1-0.9%) en una relación piel/solución de 1:3 (p/v), a temperaturas comprendidas entre 40 a 70 °C durante 60-400 min con agitación en un baño de agua (Memmert, Alemania). Las soluciones fueron filtradas (papel Whatman No. 2) y el líquido resultante se secó a 50 °C (MMM Group, Planegg, Alemania) durante 20-22 h y finalmente fue molido y almacenado.

### Propiedades Fisicoquímicas

#### *Composición proximal y pH*

El contenido de humedad, lípidos, cenizas y proteínas de la gelatina en polvo de piel de mahi-mahi se determinó de acuerdo con la metodología de la AOAC (2005). El contenido de proteína total se calculó utilizando un factor de conversión de nitrógeno de 5.4 (Shyni *et al.*, 2014). El pH de la gelatina se determinó como se describe en el método de British Standard Institution (BSI, 1975) usando un medidor de pH Seven Easy (Mettler-Toledo USA). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

#### *Fuerza de gel*

La fuerza del gel se determinó según Gómez-Guillén *et al.* (2002). El polvo de gelatina se disolvió en agua desionizada a 60 °C para obtener una concentración final de

6.67%. La fuerza de gel (g) se determinó a 7 °C usando un analizador de textura Brookfield (LFRA 1500, Brookfield Engineering Laboratories, USA). La medición se realizó por triplicado.

#### *Rendimiento de proteína*

La concentración de proteína soluble se determinó por el método de Biuret (Yang *et al.*, 2007), utilizando un espectrofotómetro a 540 nm (UV/Vis, PerkinElmer, USA) con albúmina de suero bovino (BSA, grado estándar, Sigma, USA) como estándar. El rendimiento de proteína (RP) se determinó mediante la siguiente ecuación:  $RP (\%) = (P \times V / W) \times 100$ , donde P es la concentración de proteína (g/ml), V es el volumen del extracto (ml) y W es el peso de muestra usada para la extracción (g).

#### *Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS - PAGE(SDS-PAGE)*

La gelatina se analizó mediante SDS-PAGE (Laemmli, 1970). La gelatina en polvo se disolvió a una concentración de 1 mg/ml en buffer tampón (Tris-HCl 50 mM, pH 7.5; glicerina al 50%, SDS al 1%, azul de bromofenol al 0.02%, BPB). Se usó un marcador proteico de alto peso molecular (MW) (Sigma, USA) (36-205 kDa) para estimar el peso molecular de las cadenas de gelatina.

#### *Aminoácidos*

La composición de aminoácidos se analizó según lo descrito por Heinrikson y Meredith (1984), usando HPLC (Chromaster, Hitachi, Japón). El contenido de hidroxiprolina (Hyp) se determinó de acuerdo con los métodos AOAC (2005). Los resultados se expresaron como gramos de aminoácidos por 100 g de proteína.

#### *Viscosidad*

La viscosidad dinámica se determinó según Niu *et al.* (2013). Se obtuvo una solución de gelatina al 6.67%. La viscosidad de

la solución se determinó con un viscosímetro Brookfield DV2T (Brookfield Engineering Laboratories, USA) equipado con un husillo SC4-18, a  $60 \pm 0.1$  °C y 70 rpm, y los valores se midieron en centipoises (cP). La medición se realizó por triplicado.

#### *Punto de fusión y gelificación*

La determinación del punto de fusión y de gelificación se basó en el método de Muyonga *et al.* (2004), utilizando soluciones de gelatina al 6.67 y 10.0%, respectivamente. La medición se realizó por triplicado.

### **Diseño Experimental**

Las condiciones óptimas para la extracción de gelatina fueron determinadas por MSR, utilizando un diseño compuesto central (DCC) de cinco niveles y tres factores. El DCC consistió en 20 tratamientos incluyendo 23 puntos factoriales, seis puntos axiales ( $\alpha = 2$ ) y seis réplicas del punto central. Las variables independientes fueron temperatura de extracción ( $X_1$ , 40 - 70 °C), tiempo de extracción ( $X_2$ , 60-400 min) y concentración de ácido cítrico ( $X_3$ , 0.10-0.90%). La resistencia del gel (g,  $Y_1$ ) y el rendimiento de proteínas (% ,  $Y_2$ ) se seleccionaron como variables dependientes tal como se observa en el Cuadro 1.

### **Análisis Estadístico**

Los datos experimentales se analizaron mediante el software Design-Expert® v. 12.0 (USA) utilizando análisis de regresión múltiple. El ajuste se realizó a un modelo de segundo orden para cada respuesta y la ecuación se expresó de la siguiente manera:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ , donde Y representa la variable dependiente (fuerza de gel y rendimiento de proteínas),  $\beta_0$  representa el término constante,  $\beta_i$  representa los términos lineales,  $\beta_{ii}$  representa los términos cuadráticos para una sola variable y  $\beta_{ij}$  representa los términos de interacción ( $i = 1-3$ ; y  $j = 1-3$ ). La significancia estadística

Cuadro 1. Diseño compuesto central para optimizar las condiciones de extracción de la gelatina de piel de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) junto con los datos experimentales y su valor predicho según los modelos de superficie de respuesta de segundo orden

Orden estándar	Nivel de código de variable			Fuerza de gel (g)		Rendimiento de proteína (%)	
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Experimental	Predicho	Experimental	Predicho
1	46.1	129	0.26	454.2	440.6	16.84	16.84
2	63.9	129	0.26	350.0	357.6	20.41	20.36
3	46.1	331	0.26	396.9	399.8	18.34	18.21
4	63.9	331	0.26	346.7	354.0	21.36	21.44
5	46.1	129	0.74	404.5	412.3	16.71	16.73
6	63.9	129	0.74	338.0	329.2	20.25	20.26
7	46.1	331	0.74	381.4	371.5	17.49	17.64
8	63.9	331	0.74	335.3	325.7	20.97	20.86
9	40	230	0.50	390.1	395.7	15.74	15.72
10	70	230	0.50	287.3	287.4	21.35	21.39
11	55	60	0.50	409.5	410.1	18.89	18.98
12	55	400	0.50	370.8	372.9	20.56	20.64
13	55	230	0.10	423.3	415.3	19.12	19.18
14	55	230	0.90	360.9	367.7	18.66	18.61
15	55	230	0.50	388.8	391.5	19.92	19.81
16	55	230	0.50	383.3	391.5	19.89	19.81
17	55	230	0.50	394.3	391.5	19.76	19.81
18	55	230	0.50	390.5	391.5	19.79	19.81
19	55	230	0.50	396.9	391.5	19.80	19.81
20	55	230	0.50	386.0	391.5	19.83	19.81

Cuadro 2. Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo de superficie de respuesta de segundo orden de la fuerza del gel y el rendimiento de proteínas

Respuestas	Fuente	SS	DF	MS	F value	P-value
Fuerza de gel	Modelo	24251.37	9	2694.60	52.40	0.0000
	Residual	514.28	10	51.43		
	Falta de ajuste	386.25	5	77.25	3.02	0.1254
	Error puro	128.03	5	25.61		
	Total	24765.65	19			
Rendimiento de proteínas	Modelo	46.85	9	5.21	782.90	0.0000
	Residual	0.07	10	0.01		
	Falta de ajuste	0.05	5	0.01	2.54	0.1649
	Error puro	0.02	5	0.00		
	Total	46.91	19			

( $p < 0.05$ ) de la ecuación del modelo se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA). Se determinó el valor  $R^2$  ajustado y la falta de ajuste. Posterior a las determinaciones de predicción del modelo, las condiciones óptimas de extracción de gelatina se obtuvieron mediante la función de deseabilidad (Montgomery, 2011).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Modelo de Superficie de Respuesta

Todos los coeficientes lineales ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) fueron significativos ( $p < 0.05$ ) en ambos modelos. Los términos  $X_1X_3$ ,  $X_2X_3$ ,  $X_2^2$ ,  $X_3^2$  de  $Y_1$  (fuerza de gel) y los términos  $X_1X_3$ ,  $X_2^2$  de  $Y_2$  (rendimiento de proteína) fueron no significativos ( $p > 0.05$ ) y, por tanto, excluidos. Los modelos ajustados se muestran en las ecuaciones 1 y 2. Los valores de  $R^2$  para  $Y_1$  e  $Y_2$  fueron 0.9629 y 0.9978, respectivamente. Según el ANOVA que se muestra en el Cuadro 2, ambos modelos de regresión fueron significativos ( $p < 0.05$ ) y la prueba de falta de ajuste no significativa ( $p > 0.05$ ), lo cual es un buen indicador de que el modelo es adecuado (Ardekani *et al.*, 2013). Las ecuaciones del modelo de superficie de respuesta ajustado son:

#### Ecuación 1

$$\text{Fuerza de gel } (Y_1) = 391.49 - 32.21X_1 - 11.08X_2 - 14.17X_3 + 9.30X_1X_2 - 17.65X_1^2$$

#### Ecuación 2

$$\text{Rendimiento de proteína } (Y_2) = 19.81 + 1.69X_1 + 0.49X_2 - 0.17X_3 - 0.07X_1X_2 - 0.12X_2X_3 - 0.44X_1^2 - 0.32X_3^2$$

Para optimizar las respuestas simultáneamente (maximizar), se definió la función de deseabilidad de la siguiente manera: objetivo (fuerza de gel = 400 g y rendimiento de proteína = 21%).

### Gráficos de Superficie de Respuesta

La Figura 1 muestra la función de respuesta estimada y los efectos de las variables independientes ( $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$ ) sobre la fuerza de gel ( $Y_1$ ) y el rendimiento de proteínas ( $Y_2$ ), respectivamente. En la Figura 1a se observa que el factor  $X_1$  (temperatura de extracción) tuvo un efecto mayor sobre la fuerza de gel, que disminuyó con un aumento de  $X_1$  de 47.5 a 70.0 °C y del tiempo de 60 a 400 min. El tratamiento térmico por encima de 40 °C destruye los enlaces de hidrógeno y escinde una serie de enlaces covalentes, lo que desestabiliza la triple hélice y da como resultado la gelatina soluble (Karim y Bhat, 2009) que se encuentran en estado de sol y forman geles físicos termorreversibles al enfriarse. El resultado concuerda con lo reportado por Tan *et al.* (2019), quienes evaluaron temperaturas de extracción de 45 a 75 °C sobre piel de tilapia negra, y obtuvieron gelatinas con fuerza de gel de 850 g usando temperaturas de 45 °C. Altas temperaturas de extracción provocan la degradación de las proteínas (Wangtueai y Noomhorm, 2009) e influyen sobre la fuerza de gel de las gelatinas. Durante la gelificación, las cadenas sufren una transición conformacional de desorden-orden y regeneran parcialmente la estructura de triple hélice del colágeno (Pezron *et al.*, 1991). La red tridimensional resultante es responsable de la fuerza e integridad del gel (Karim y Bhat, 2009); por lo tanto, condiciones de extracción rigurosas dan como resultado hidrogeles con menos fuerza de gel, tal como reportaron Casanova *et al.* (2020) con extracción de gelatina de piel de carbonero (*Parus major*) a 80 °C.

Las gelatinas mostraron valores bajos de fuerza de gel (1.9 y 7.7 g). Los factores  $X_2$  y  $X_3$  mostraron un efecto menos marcado. Los efectos de las variables independientes sobre  $Y_2$  (rendimiento de proteína) se muestran en las figuras 1c y 1d. Tanto  $X_1$  como  $X_2$  ejercieron efectos directamente proporcionales sobre el rendimiento de extrac-

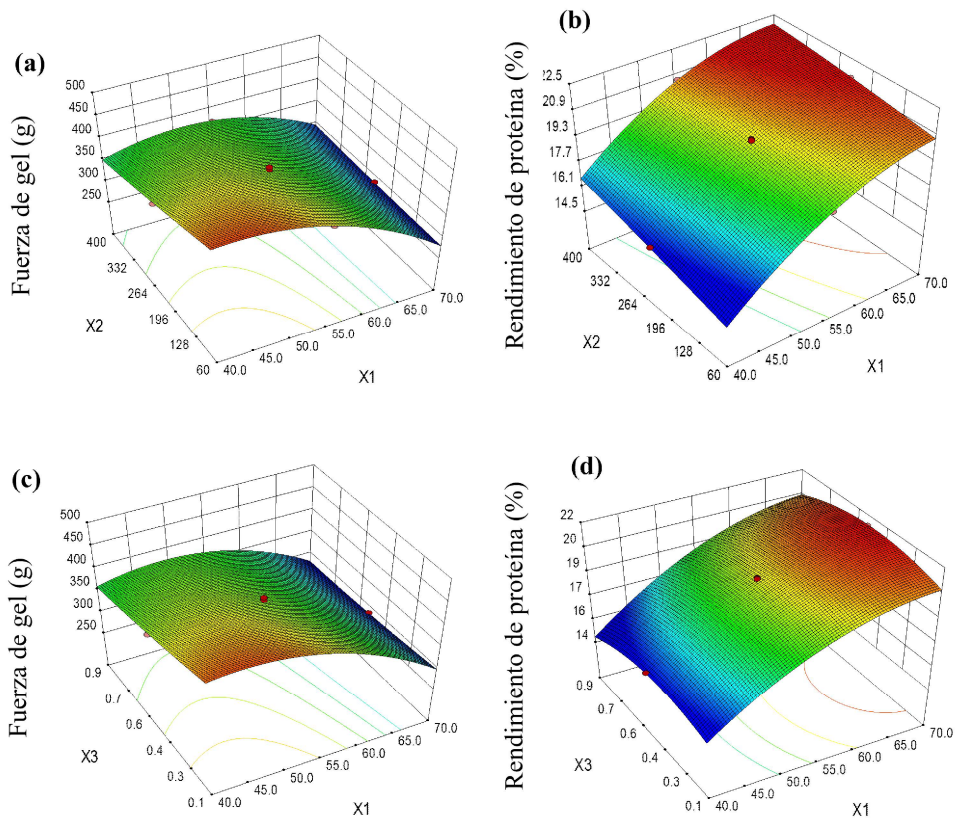


Figura 1. Gráficos de superficie de respuesta para la fuerza de gel y rendimiento de proteína como una función de  $X_1$  y  $X_2$  (a, b) de  $X_1$  y  $X_3$  (c, d) de la gelatina de piel mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*)

ción, donde la temperatura de extracción tuvo un mayor efecto sobre  $Y_2$ . Un aumento de  $X_1$  o  $X_2$  facilitó la fragmentación de las cadenas de colágeno, aumentando la proporción de moléculas desestabilizadas conduciendo a una mayor proporción de gelatina extraída. Los valores de rendimiento de extracción más altos (>21%) se obtuvieron utilizando temperaturas de extracción entre 62.5 y 70.0 °C para tiempos entre 280-400 min. Fan *et al.* (2017) informaron que condiciones de extracción excesivas (altas temperaturas de extracción y tiempos prolongados) sobre piel de salmón condujeron a la formación de cadenas á más cortas debido a la degradación de cadenas proteicas. Los rendimientos más altos de se obtuvieron empleando el factor  $X_3$

entre 0.15 y 0.55%. Las concentraciones más altas de ácido cítrico no aumentaron el rendimiento de extracción. La influencia del pH sobre el rendimiento de extracción y la fuerza de gel de las gelatinas es conocida (Koli *et al.*, 2013; Derkach *et al.*, 2019).

### Optimización de la Extracción de Gelatina

Los valores experimentales obtenidos en condiciones óptimas fueron: temperatura de extracción ( $X_1$ ) de 56.8 °C, tiempo de extracción ( $X_2$ ) de 331 min y concentración de ácido cítrico ( $X_3$ ) de 0.26% para obtener una gelatina de  $387 \pm 4.5$  g de fuerza de gel y  $20.4 \pm 0.08$  % de rendimiento de proteína con una función de deseabilidad de 0.912.

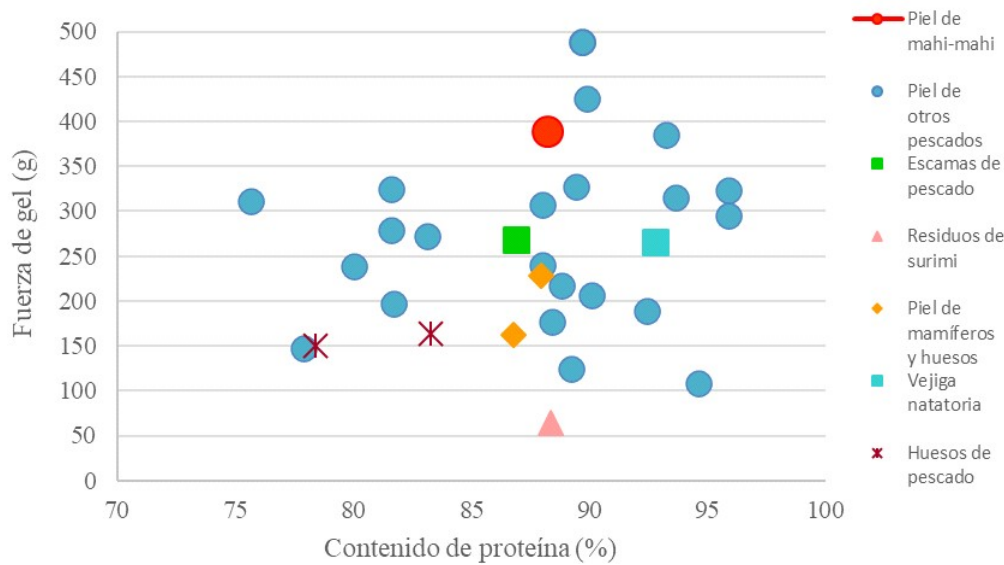


Figura 2. Fuerza de gel respecto al contenido de proteína en gelatinas de varias fuentes

### Propiedades Fisicoquímicas de la Gelatina Optimizada

#### Composición proximal y pH

La gelatina obtenida tuvo un alto contenido de proteína (88.3%), con valores bajos de humedad (6.8%), lípidos (0.2%) y cenizas (1%). El contenido de proteína en la gelatina de piel de pescado es generalmente alto, con rangos entre 88.4 y 91.2% (Ninan *et al.*, 2014; Shyni *et al.*, 2014); sin embargo Khiari *et al.* (2015) reportaron 84.1% de contenido proteico en la gelatina extraída de piel de bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) mediante un pretratamiento con ácido cítrico. El contenido de humedad estuvo por debajo del límite prescrito del 13 % para la gelatina comestible (GMIA, 2019).

El bajo contenido de lípidos (0.2%) indicó que el método utilizado fue eficaz para desgrasar la materia prima. El contenido de cenizas estuvo por debajo del límite máximo reportados por Shyni *et al.* (2014) de 2.6% y por Khiari *et al.* (2015) de 1.9%. Además,

las gelatinas con un contenido de cenizas inferior al 2% son aceptables para aplicaciones alimentarias (Kasankala *et al.*, 2007; GMIA, 2019).

El pH fue 4.9, valor que se encuentra dentro del rango de pH de 3.8 a 5.5 para la gelatina comestible (GMIA, 2019). Alfaro *et al.* (2014) reportaron un pH de 3.2 para el bage africano (*Clarias gariepinus*), en tanto que Shyni *et al.* (2014) obtuvieron un pH de 4.2 para el rohu y 4.3 para el barrilete (*Katsuwonus pelamis*). Según esto, la gelatina de piel de mahi-mahi cumple con los requisitos para una gelatina comestible.

#### Fuerza de gel

La fuerza de gel de la gelatina de piel de mahi-mahi en condiciones óptimas fue de 387 g. Este resultado fue mayor al reportado por Gómez-Guillén *et al.* (2002) para gelatinas de pescado de agua fría, bacalao (*Gadus morhua*) (70 g) y merluza (*Merluccius* sp) (100 g). El valor obtenido también fue mayor al de las gelatinas de peces de aguas cálidas



como en la perca del Nilo (*Lates niloticus*) (134-229 g) (Muyonga *et al.* (2004), y de 267 g en carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) (Kasankala *et al.*, 2007), pero menor a los 526 g en atún de aleta amarilla (*Thunnus albacares*) (Cho *et al.*, 2005).

En el presente estudio también se obtuvieron valores más bajos de rendimiento de extracción (423 y 454 g). La fuerza de gel de la gelatina de piel de mahi-mahi fue mayor que las gelatinas de bovino, con valores entre 200 y 221 g (Muyonga *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2005), y las gelatinas de porcino, con valores de 240-295 g (Cho *et al.*, 2005; Karim y Bhat, 2009). La variación en la fuerza de gel depende del perfil de aminoácidos, el rango de peso molecular y el pH de la gelatina obtenida (Karim y Bhat, 2009; Fan *et al.*, 2017). Esto depende de las condiciones de extracción, como la presencia de ácidos y su concentración, ya que el aumento de iones  $H^+$  favorece el acceso del agua a las fibras de colágeno. Esta agua es retenida por fuerzas electrostáticas entre grupos polares cargados (hinchamiento electrostático) o por enlaces de hidrógeno entre grupos polares no cargados y átomos negativos (hidratación liotrópica) (Gustavson, 1956). Un mayor hinchamiento de la matriz está relacionado con una mayor solubilización del colágeno y, en consecuencia, con una menor resistencia de gel. En la Figura 2 se observa que las gelatinas de pieles de pescado mostraron valores de fuerza de gel comprendidos entre 94.6 y 488.0 g, siendo fuerza de gel de la gelatina de piel de mahi-mahi uno de los valores más altos.

#### *Rendimiento de proteína*

El rendimiento proteico de la gelatina extraída de piel de mahi-mahi fue de 20.4%, un valor más alto que 19.8%, valor reportado en la extracción de gelatina de piel de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) empleando HCl (Kasankala *et al.*, 2007) y que 19.2%, valor reportado en la extracción de gelatina de piel de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) utilizando ácido acético (Yang *et al.*, 2007).

La variación en el rendimiento de extracción depende de la edad, tamaño y conformación estructural del colágeno de la especie que se utiliza para extraer la gelatina; asimismo, de las condiciones previas al proceso de extracción y del proceso propiamente dicho (Karim y Bhat, 2009; Yang *et al.*, 2007). En adición, Cho *et al.* (2014) indicaron que las capas de la dermis de la piel de cuatro especies de peces mostraron una alta concentración de fibras de colágeno, lo que se relaciona con el mayor grosor de las áreas dorsal y ventral y, en consecuencia, con una alta tasa de extracción de colágeno. En la Figura 2 se observa que el contenido de proteína en gelatinas obtenidas de diversas matrices varió entre 75.0 y 96.0%, aproximadamente, donde la gelatina de piel de mahi-mahi alcanzó un valor de 88.3%, un valor muy cercano al valor máximo que reporta la GMIA (2019) para gelatinas comerciales extraídas de piel y huesos de porcino y bovino (84.0 y 90.0% de proteína).

#### *Perfil de electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS (SDS-PAGE)*

Las moléculas de colágeno compuestas por tres cadenas  $\alpha$  entrelazadas conforman la triple hélice de colágeno las cuales están estabilizadas por enlaces de hidrógeno entre cadenas. La desnaturalización del colágeno afectada por diferentes condiciones de extracción provoca la separación de las varillas y la separación total o parcial de las cadenas debido a la destrucción de los enlaces de hidrógeno, y, tras la desnaturalización, los polímeros existen en forma enrollada (Karim y Bhat, 2009). Por lo tanto, las gelatinas industriales son mezclas de diferentes compuestos: cadenas  $\alpha$  (una cadena de polímero), cadenas  $\beta$  (dos cadenas  $\alpha$  reticuladas covalentemente) y cadenas  $\gamma$  (tres cadenas  $\alpha$  reticuladas covalentemente) (Papon *et al.*, 2007). El perfil SDS-PAGE de la gelatina de piel de mahi-mahi obtenida en condiciones óptimas muestra que las cadenas  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  y los componentes  $\beta$  (dímero de cadena  $\alpha$  unida covalentemente) fueron los componentes principales.

Cuadro 3. Composición de aminoácidos de gelatina de piel de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) optimizada y de piel de mamíferos (porcino and bovino) (g/100 g proteína)

Aminoácidos	Contenido (g/100 g de proteína)		
	Piel de mahi-mahi (presente trabajo)	Bovino (Ninan <i>et al.</i> , 2010)	Porcino (Ninan <i>et al.</i> , 2010)
Ácido aspártico	4.32 ± 0.01	2.50	3.01
Ácido glutámico	8.57 ± 0.00	7.23	10.32
Serina	3.36 ± 0.01	2.95	3.01
Glicina	20.86 ± 0.01	29.2	27.69
Histidina	0.65 ± 0.00	0.08	0.03
Treonina	5.31 ± 0.03	2.11	2.06
Alanina	1.88 ± 0.01	11.40	11.20
Cisteína	0.00 ± 0.00	0.00	0.00
Arginina	19.10 ± 0.01	5.10	4.90
Prolina	10.74 ± 0.01	11.89	12.44
Hidroxiprolina	7.90 ± 0.11	11.02	11.26
Tirosina	0.59 ± 0.00	0.11	0.08
Valina	1.95 ± 0.07	1.80	1.88
Metionina	1.81 ± 0.06	1.01	1.43
Isoleucina	4.41 ± 0.06	1.11	0.98
Leucina	2.63 ± 0.06	1.90	1.73
Fenilalanina	2.65 ± 0.07	1.60	1.20
Lisina	2.94 ± 0.04	4.01	3.29
Triptófano	0.00 ± 0.00	0.00	0.00
Hidroxiprolina + Prolina	18.64 ± 0.12	22.91	23.70

En la Figura 3 se observa que la intensidad de las bandas de las cadenas  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  con peso molecular aproximado de 116 kDa fue mayor que la banda del componente  $\beta$  con peso molecular aproximado de 200 kDa. Karim y Bhat (2009) señalan que la gelatina consiste en una mezcla de polipéptidos con pesos moleculares de 80 a 250 kDa debido a la escisión de enlaces cruzados químicos entre cadenas y alguna rotura desfavorable al interior de la cadena (Zhou *et al.*, 2006).

#### Perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos de la gelatina de piel mahi-mahi se muestra en el Cuadro 3. La glicina fue el componente principal (20.9%), seguida de la arginina (19.1%). La

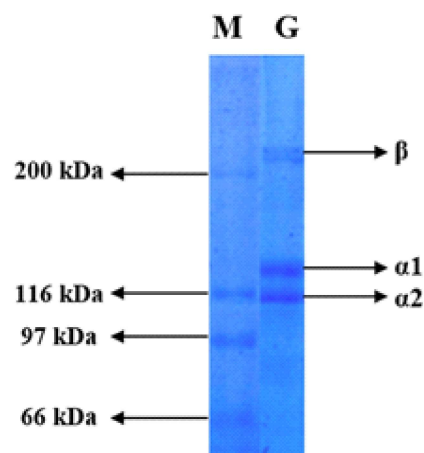


Figura 3. Perfil SDS-PAGE de muestra patrón (M) y de gelatina optimizada a partir de piel de mahi-mahi (G) (*Coryphaena hippurus*)

gelatina presentó contenidos relativamente altos de ácido glutámico e iminoácidos (prolina e hidroxiprolina), en comparación con lo reportado por Kaewdang *et al.* (2016), pero con ausencia de los aminoácidos cisteína y triptofano los cuales no suelen estar presentes en el colágeno y la gelatina (Ninan *et al.*, 2010; Shyni *et al.*, 2014).

El contenido de iminoácido fue de 18.6%. Se han observado porcentajes similares en especies cálidas o tropicales, mientras que en peces de agua fría son menores. Ninan *et al.* (2010) obtuvieron valores de iminoácidos en la gelatina de piel de carpa (*Cyprinus carpio*) entre 19.2 y 20.9%, mientras que para gelatinas de origen bovino y porcino fueron de 22.9 y 23.7%, respectivamente (Cuadro 3). Por otro lado, Zhou *et al.* (2006) encontraron un contenido de iminoácido alrededor del 15.0-16.0% en la gelatina de piel de bacalao (*Gadus morhua*) y el colágeno de piel de abadejo de Alaska (*Gadus chalcogrammus*), mientras que Kaewdang *et al.* (2016) reportaron 15.8%. Estos dos aminoácidos estabilizan térmicamente la triple hélice de colágeno, y se requiere una menor proporción en animales con temperaturas corporales bajas (Khiari *et al.*, 2015). La hidroxiprolina es la más importante ya que participa en la formación y estabilidad de la estructura parcial de la triple hélice en la gelatina (Nikoo *et al.*, 2014), lo que se relaciona con la resistencia del gel formado (Gómez-Guillén *et al.*, 2002).

#### Viscosidad

La viscosidad de la gelatina extraída fue 11.0 cP, un valor mayor que lo reportado en otras especies, algunas de ellas tropicales y grandes como la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) (6.9 cP) (Boran *et al.*, 2010), carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) (7.1 cP) (Ninan *et al.*, 2014), tiburón perro (*Heterodontus mexicanus*) (5.6 cP) y atún barrilete (*Katsuwonus pelamis*) (4.4 cP) (Shyni *et al.*, 2014). Además, la viscosidad de la gelatina extraída fue superior a la de las gelatinas comerciales (bovina y porcina) cuyo

valor oscila entre 2.0 y 7.0 cP (Boran *et al.*, 2010). Shyni *et al.* (2014) sostienen que la viscosidad está parcialmente controlada por el peso molecular y la distribución del tamaño molecular. Asimismo, Alfaro *et al.* (2014) indican que el uso de bajas temperaturas de extracción incrementa la viscosidad de las gelatinas obtenidas.

#### Puntos de fusión y gelificación

Las temperaturas de gelificación y fusión dependen del peso molecular y su distribución; es decir, de la proporción de cadenas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  (Derkach *et al.*, 2019). Los valores en la gelatina de piel de mahi-mahi fueron de 17.6 y 25.6 °C, respectivamente, los cuales son más altos que los reportados en gelatinas de peces de aguas frías (11-12 y 13.8-14 °C) (Gómez-Guillén *et al.*, 2002), pero comparables a los valores reportados en gelatinas de peces de aguas cálidas (15.5-20.5 y 24.3-29.1 °C) (Muyonga *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2005; Boran *et al.*, 2010; Ninan *et al.*, 2014). Sin embargo, son más bajos que lo reportado en gelatinas de mamíferos (23.4-31.8 y 31.4-36.5 °C, respectivamente) (Cho *et al.*, 2005; Karim y Bhat, 2009; Boran *et al.*, 2010; Ninan *et al.*, 2014). En general, las gelatinas de origen bovino y porcino tienen puntos de gelificación y fusión más altos que las gelatinas de peces (Karim y Bhat, 2009; Ninan *et al.*, 2014).

Muyonga *et al.* (2004) y Ninan *et al.* (2010) reportaron que el contenido de iminoácidos fue de 23.0-24.0% en gelatinas de mamíferos, 18.0-21.0% en gelatinas de peces de aguas cálidas y de 16.0-17.0% en gelatinas de peces de aguas frías. La aplicación de gelatinas con valores bajos de punto de fusión puede enfocarse en la formulación del producto para controlar la textura y la liberación retardada del sabor durante el proceso de masticación (Choi y Regenstein, 2000) y orientar su aplicabilidad en otros mercados renuentes al consumo de gelatina de mamíferos (Koli *et al.*, 2013).

## CONCLUSIONES

- La gelatina de piel de mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) mostró valores altos de contenido proteico, fuerza de gel y rendimiento de extracción de proteína.
- El proceso de extracción analizado por MSR mostró que la temperatura tuvo el mayor efecto significativo sobre la fuerza de gel y el rendimiento de proteínas.
- La solución de optimización para la maximización de la fuerza de gel y rendimiento de proteína fue el empleo de una temperatura de extracción de 56.8 °C, un tiempo de tratamiento de 331 min y una concentración de ácido cítrico de 0.26%.
- De acuerdo con las propiedades fisicoquímicas, la gelatina de piel de mahi-mahi podría usarse en aplicaciones alimentarias para reemplazar la gelatina de mamíferos.

## LITERATURA CITADA

1. **Alfaro AT, Biluca FC, Marquetti C. 2014.** African catfish (*Clarias gariepinus*) skin gelatin: extraction optimization and physical-chemical properties. *Food Res Int* 65: 416-422. doi: 10.1016/j.foodres.2014.05.070
2. **Amorós S, Gozzer R, Melgar V. 2017.** La pesquería del perico (*Coryphaena hippurus*) en el Perú: caracterización y análisis de la cadena productiva. Programa Marino de WWF-Perú, doi: 10.13140/RG.2.2.13573.86247
3. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005.** *Official methods of analysis. 18<sup>th</sup> ed.* Washington DC, USA: AOAC.
4. **Ardekani VS, Mahmoodani F, See S. 2013.** Processing optimization and characterization of gelatin from catfish (*Clarias gariepinus*) skin. *Sains Malays* 42: 1697-1705.
5. **Barriga M, Salas A, Aranda D. 2012.** Información nutricional sobre algunas especies comerciales del mar peruano. *Bol Invest Inst Tecnológico Pesquero* 10: 1-75.
6. **Boran G, Mulvaney SJ, Regenstein JM. 2010.** Rheological properties of gelatin from silver carp skin compared to commercially available gelatins from different sources. *J Food Sci* 75: E565-E571. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01543.x
7. **[BSI] British Standards Institution. 1975.** *Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods).* London: BSI. 30 p.
8. **Casanova F, Mohammadifar MA, Jahromi M, Petersen HO, Sloth JJ, Eybye KL, Kobbelaar S, et al. 2020.** Physico-chemical, structural and techno-functional properties of gelatin from saithe (*Pollachius virens*) skin. *Int J Biol Macromol* 156: 918-927. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.047
9. **Cho SM, Gu YS, Kim SB. 2005.** Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloid* 19: 221-229. doi: 10.1016/j.foodhyd.2004.05.005
10. **Choi S, Regenstein J. 2000.** Physico-chemical and sensory characteristics of fish gelatin. *J Food Sci* 65: 194-199. doi: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15978.x
11. **Derkach SR, Kuchina YA, Baryshnikov AV, Kolotova DS, Voron'ko NG. 2019.** Tailoring cod gelatin structure and physical properties with acid and alkaline extraction. *Polymers (Basel)* 11: 1724. doi: 10.3390/polym11101724
12. **Fan H, Dumont MJ, Simpson BK. 2017.** Extraction of gelatin from salmon (*Salmo salar*) fish skin using trypsin-aided process: optimization by Plackett-Burman and response surface methodological approaches. *J Food Sci Technol* 54: 4000-4008. doi: 10.1007/s13197-017-2864-5

13. **[GMIA] Gelatin Manufacturers Institute of America. 2019.** Gelatin handbook. [Internet]. Available in: [http://www.gelatin-gmia.com/uploads/1/1/8/4/118450438/gmia\\_gelatin\\_manual\\_-2019.pdf](http://www.gelatin-gmia.com/uploads/1/1/8/4/118450438/gmia_gelatin_manual_-2019.pdf)
14. **Gómez-Guillén MC, Turnay J, Fernández-Díaz MD. 2002.** Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloid* 16: 25-34. doi: 10.1016/S0268-005X(01)-00035-2
15. **Gustavson K. 1956.** The chemistry and reactivity of collagen. New York: Academic Press. 342 p.
16. **Heinrikson RL, Meredith SC. 1984.** Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. *Anal Biochem* 136: 65-74. doi: 10.1016/0003-2697(84)90307-5
17. **Kaewdang O, Benjakul S, Prodpran T. 2016.** Characteristics of gelatin extracted from the swim bladder of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) as affected by alkaline pretreatments. *J Aquat Food Prod T* 25: 1190-1201. doi: 10.1080/10498850.2015.1043418
18. **Karim AA, Bhat R. 2009.** Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloid* 23: 563-576. doi: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002
19. **Kasankala LM, Xue Y, Weilong Y, Hong SD, He Q. 2007.** Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Bioresour Technol* 98: 3338-3343. doi: 10.1016/j.biortech.2006.03.019
20. **Khiari Z, Rico D, Martin-Diana A. 2015.** Characterization of blue whiting skin gelatines extracted after pretreatment with different organic acids. *J Aquat Food Prod T* 24: 546-555. doi: 10.1080/10498850.2013.791904
21. **Koli J, Basu S, Kannuchamy N, Gudipati. V. 2013.** Effect of pH and ionic strength on functional properties of fish gelatin in comparison to mammalian gelatin. *Fish Technol* 50: 126-132.
22. **Laemmli UK. 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685. doi: 10.1038/227680A0
23. **Ministerio de la Producción. 2018.** Anuario estadístico pesquero y acuícola 2018 - Perú. [Internet]. Disponible en: <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/shortcode/oe-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales/item/901-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2018>
24. **Montgomery DC. 2011.** Diseño y análisis de experimentos. México: Ed Limusa. 692 p.
25. **Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004.** Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloid* 18: 581-592. doi: 10.1016/j.foodhyd.2003.08.009
26. **Nikoo M, Benjakul S, Bashari M. 2014.** Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) as influenced by acid pretreatment. *Food Biosci* 5: 19-26. doi: 10.1016/j.fbio.2013.10.004
27. **Ninan G, Joseph J, Aliyamveettil ZA. 2010.** Physical, mechanical, and barrier properties of carp and mammalian skin gelatin films. *J Food Sci* 75: E620-E626. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01851.x
28. **Ninan G, Joseph J, Aliyamveettil ZA. 2014.** A comparative study on the physical, chemical and functional properties of carp skin and mammalian gelatins. *J Food Sci Technol* 51: 2085-2091. doi: 10.1007/s13197-012-0681-4
29. **Niu L, Zhou X, Yuan C. 2013.** Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocolloid* 33: 336-341. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.04.014
30. **Papon P, Leblon J, Meijer P. 2007.** Gelation and transitions in biopolymers. In: Papon P, Leblon J, Meijer P (eds). *The physics of phase transitions*. Berlin: Springer. p 189-213.

31. **Pezron I, Djabourov M, Leblond J. 1991.** Conformation of gelatin chains in aqueous solutions: a light and small angle neutron scattering study. *Polymer* 32: 3201-3210. doi: 10.1016/0032-3861-(91)90143-7
32. **Shyni K, Hema GS, Ninan G. 2014.** Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food Hydrocolloid* 39: 68-76. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.008
33. **Tabarestani HS, Maghsoudlou Y, Motamedzadegan A. 2010.** Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technol* 101: 6207-6214. doi: 10.1016/j.biortech.2010.02.071
34. **Tan CC, Karim AA, Uthumporn U, Ghazali FC. 2019.** Effect of extraction temperature on the physicochemical properties of gelatine from the skin of black tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *J Phys Sci* 30: 1-21. doi: 10.21315/jps2019.30.s1.1
35. **Wangtueai S, Noomhorm A. 2010.** Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida* spp) scales. *LWT-Food Sci Technol* 42: 825-834. doi: 10.1016/j.lwt.2008.11.014
36. **Yang H, Wang Y, Jiang M, Oh JH, Herring J, Zhou P. 2007.** 2-step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. *J Food Sci* 72: C188-C195. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00319.x
37. **Zhou P, Mulvaney SJ, Regenstein JM. 2006.** Properties of Alaska pollock skin gelatin: a comparison with tilapia and pork skin gelatins. *J Food Sci* 71: C313-C321. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00065.x