

Aplicaciones de las enzimas de organismos marinos en la industria alimenticia pesquera

Dra. Zulema Coppes-Petricorena. Biotecnología Marina – Facultad de Química – UDELAR. Montevideo, Uruguay
zcoppes@fq.edu.uy/ biotecmar@fq.edu.uy

No existe duda que el hambre abunda en el mundo. La medicina moderna ha permitido alargar la vida humana en todo el planeta, especialmente en los países en desarrollo. Este hecho, aunque positivo, coincide con una limitación en la producción de alimentos provocada por las sequías, heladas, inundaciones y cambios climáticos a largo plazo, con graves consecuencias actuales para una gran parte de la humanidad, e incluso con la posibilidad de una hambruna en masa en el futuro. Los graves aspectos morales y sociales del hambre en el mundo requieren hoy de los recursos de todas las naciones para que este flagelo sea efectivamente reducido. Es un deber evitar el desperdicio de alimentos, para poder ayudar a disminuir la desnutrición e incluso la muerte por hambre.

La gran cantidad de recursos que ofrece el mar podrían asistir a esta valiosa causa si los comprendiéramos y los tratáramos en forma apropiada. Lamentablemente, hemos fallado de manera despreciable en los intentos de manejo de dichos recursos marinos. El mayor volumen de la captura mundial de peces y mariscos proviene del mar. La gran variedad de los organismos que habitan en

él –con sus numerosas formas, grandes tamaños y frecuentemente de colores vivos– son muy atractivos para los consumidores y para la pesca recreacional. Debido a esa multiplicidad de especies y a los hábitos disponibles en el mar y a las preferencias del consumidor, se requieren muchas clases de pesca, de distribución y de planes de manejo.



La obtención del alimento a partir de los océanos representa el mayor y último esfuerzo de búsqueda que realiza el ser humano para enfrentar el hambre en el mundo. Como ha sucedido en otros campos, sin embargo, nuestras habilidades tecnológicas han dejado atrás nuestra capacidad para manejar las consecuencias sociales culturales y económicas de dichas tecnologías. Mientras las regulaciones nacionales e internacionales, advertencias y demandas han fallado, el estado de propiedad común de los recursos marinos ha llevado a la sobreexplotación, lo cual ha reducido el número de animales disponibles para ser utilizados como alimento. Esta disminución está acompañada por un aumento en la población humana y, más importante aun, es paralela al aumento de las expectativas para mejorar las dietas en las nuevas áreas en desarrollo en el mundo. Estos factores han aumentado la presión sobre los stocks de peces y mariscos. En particular han tenido un gran impacto en aquellas especies que poseen una atracción mayor como alimentos para el hombre, y por ende han impulsado los esfuerzos de las autoridades para tratar de mantener las poblaciones de estos organismos. En nuestros países Argentina y Uruguay, la Comisión Técnico Mixta del Frente Marítimo (CTMFM) es la autoridad de controlar que dichos stocks se mantengan.

Tradicionalmente, la pesca han sido una industria del desperdicio, ya que no más del 50% de la carne (incluida la de las especies "deseadas") es convertida en alimento de alto valor para consumo humano. Y a menudo la mayor parte de dichos organismos, con sus proteínas y sus lípidos de alta calidad, son arrojados a los océanos sin haberlos aprovechado en absoluto. Nadie puede negar la gran necesidad de utilizar más eficientemente nuestros recursos acuáticos. No sólo tiene sentido económico, sino que también -en un planeta con recursos limitados- existe el imperativo moral de no destruir recursos valiosos para la alimentación humana y para el mantenimiento de una buena salud.

Para ello, primero debemos aprovechar al máximo las especies comerciales tradicionales, utilizando sus productos derivados para producir materiales de alto valor, tales como las enzimas marinas, y desarrollar técnicas para recuperar toda la carne para alimento humano. Aproximadamente la mitad de todas las especies marinas capturadas hoy en día son utilizadas para la producción de alimentos para peces y aceite de pescado. El desarrollo de procedimientos que permitan que estos recursos se encuentren disponibles para alimento humano mejoraría mucho su eficiencia de uso.

Las enzimas marinas

Luego de décadas de investigar las enzimas, sabemos que se encuentran ampliamente distribuidas en los sistemas vivos y que son los agentes que hacen posible las reacciones químicas en una diversidad de formas de vida, aun bajo condiciones muy adversas. En 1961,



cuando la Comisión Internacional de las Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica estableció un sistema para clasificar las enzimas, el comité listó unas 712 enzimas. El número total de enzimas identificadas hoy en día supera las 3000. La mayor parte han sido estudiadas extensamente en mamíferos terrestres, como las ratas, y en microorganismos, como la *Escherichia coli*. ¿Por qué estudiar enzimas de origen marino entonces? Porque -a pesar de encontrarse las enzimas homólogas que en los organismos terrestres- las enzimas de origen marino muestran propiedades completamente diferentes con respecto a estabilidad, a temperatura óptima y a especificidad por el sustrato, entre otras. Estas diferencias están basadas en la adaptación y se acentúan cuando el medio celular de los organismos varía debido a las condiciones del hábitat y otras razones. Los organismos acuáticos ocupan ambientes únicos y a menudo extremos, tales como el océano profundo donde la presión es muy alta y la luz está ausente; resisten temperaturas que varían entre -2°C en los polos hasta 103°C en las fuentes termales, salinidades que varían desde muy bajas a saturadas, y fluctuaciones diarias de la disponibilidad del oxígeno en el caso de los organismos que viven entre mareas.

Los peces son poiquilotermos, lo que significa que su temperatura corporal es -en la mayoría de los casos- un reflejo directo de la temperatura del agua. Y sus enzimas están adaptados a dicha temperatura.



Como regla general, la carne de los peces y mariscos es más perecible que otros miosistemas alimenticios, por ejemplo la carne vacuna y de aves. Varios estudios han demostrado que la velocidad inicial del deterioro de la calidad es la misma en los peces microbiológicamente estériles que en los que no lo son. De esta manera, es evidente que la llamada "autólisis" (reacciones bioquímicas endógenas) es la responsable de la pérdida de la calidad del alimento marino, más que el deterioro microbiológico. En el mismo sentido, se ha observado que los peces tropicales, que viven en un ambiente acuático cuya temperatura es similar a la de un mamífero, se mantienen mucho mejor que los peces que provienen del ambiente típicamente más frío de los océanos (< 5°C).

Es interesante señalar que los métodos desarrollados para extender aún más la vida media del alimento marino congelado -tales como las bajas dosis de radiación ionizante, las atmósferas modificadas y la mayoría de los tratamientos químicos- han sido inefectivos para preservar la calidad primaria, y en algunos casos hasta han acelerado la pérdida de la calidad del alimento. Esto sucede debido a que dichos métodos retrasan la acción deteriorante de los microorganismos más que la acción de las enzimas endógenas de tejidos. En base a esto, los métodos que se elaboren en el futuro para preservar la calidad del pescado congelado deberán basarse en una comprensión de las enzimas propias del organismo marino, y llevar adelante acciones que eviten reacciones enzimáticas en cadena que contribuyan a la pérdida de apariencia, olor, textura, nutrición y propiedades funcionales.

Desde hace unos 15 años, las enzimas marinas están volviéndose cada vez más relevantes como ayuda en los procesos industriales. Las enzimas que se recuperan de los desechos del pescado tienen cada vez más importancia como productos de valor agregado para ser utilizadas en la industria. La enzima ideal para cualquier aplicación debe tener una combinación de propiedades

únicas, tales como estabilidad térmica, temperatura óptima, estabilidad al pH, sensibilidad a inhibidores y especificidad catalítica. De esta manera, debido a la bioquímica comparada inusual y amplia de las enzimas marinas, basada en la diversidad taxonómica y ambiental de los animales acuáticos, se han identificado enzimas provenientes de los desechos de los organismos marinos que pueden ser utilizadas adecuadamente en los alimentos y en otros sectores de la industria (Coppes & Haard, 2005).

La elección de la enzima

El ambiente marino contiene el pool más grande de material genético diversificado y por ende, representa una enorme fuente potencial de enzimas. La aplicación de las enzimas marinas en los productos alimenticios ha sido desarrollada en los últimos 20 años. Antes de entrar en las aplicaciones es importante detenernos un poco para analizar el tema sobre la elección de una enzima (Haard, 1997), ya que es de enorme importancia elegir una enzima que trabaje eficientemente en las condiciones de preparación de un producto en cuestión. La habilidad de "parar" la acción de una enzima luego que el trabajo ha sido llevado a cabo, sin afectar la calidad del producto, debe ser considerada también.

Para compatibilizar el catalizador con los procesos industriales es necesario que la enzima sea estable y que la reacción pueda llevarse a cabo bajo las diversas variables del proceso. Por ello, es imprescindible que la enzima sea completamente evaluada en el laboratorio, bajo las condiciones de la operación que se intenta efectuar, antes de llevarla a escala industrial. La pureza de la enzima en cuestión es muy importante debido a la relación costo/beneficio.

Para la industria de la alimentación es de particular interés el uso de enzimas que sean activas a bajas temperaturas (De Vecchi & Coppes 1996). La mayor parte de los organismos acuáticos son poiquiloterms, ya sea que vivan en los polos, en las profundidades de los océanos o en ambientes constantes de temperaturas muy bajas. Dicha característica les permite contar con enzimas que se adaptan a esos ambientes tan variados. ¿Cómo pueden adaptarse? Por ejemplo, aumentando su concentración, cambiando el tipo de enzima presente (isozimas) y con mayor adaptabilidad de enzimas homólogas. Sea cual fuera la forma de adaptación, todas tienen en común dos propiedades clave: una alta actividad molecular a las bajas temperaturas de reacción, e inestabilidad térmica, o sea desnaturalización rápida a temperatura moderada (Coppes & Somero, 2007). Ambas propiedades son ventajosas si se utilizan como enzimas industriales, ya que el proceso puede ser realizado a baja temperatura (minimizando así la actividad bacteriana y otras reacciones que interfieren) y después de la reacción, la enzima puede inactivarse por tratamiento con calor moderado (Haard & Simpson, 1994).

Enzimas de peces y mariscos en la producción de alimentos de origen marino

Las aplicaciones tradicionales de las enzimas en la industria de productos marinos han estado limitadas a muy pocos productos (hidrolizados proteicos de pescado, salsa de pescado o arenque curado). Estos procesos se basan en las proteasas endógenas del pescado (Coppes & Haard, 2005). En los últimos 20 años han emergido aplicaciones adicionales en la industria pesquera, entre ellas el mejoramiento de las aplicaciones tradicionales con el uso de enzimas exógenas para acelerar el proceso; la producción de otros productos, como los aceites de pescado ricos en ácidos grasos poliinsaturados (Haraldsson 1990), y el uso de las enzimas de pescado y mariscos para mejorar los procesos de producción de pescado o como procesos alternativos en la producción de alimentos de origen marino (remoción selectiva de la piel, remoción de las escamas de pescado, proceso de tamizado en la producción de caviar) (Gildberg, 1993).

En este artículo se presentarán los productos especiales que se obtienen de la industria del pescado. Se denomina "producto especial" a aquel cuya manufactura es posible directa o indirectamente por medio del uso de enzimas. Estos productos se diferencian de los "productos convencionales", tales como el pescado o marisco fresco, congelado o enlatado, ya que en éstos no se necesitan enzimas para su producción, aun cuando serían ventajosas (Vilhelmsson, 1997).

Productos desmenuzados de pescado

El término "surimi" deriva del verbo japonés suru, que significa "desmenuzar", y se refiere a los tejidos musculares de pescado, desmenuzados y lavados con agua. Se identifica comúnmente con análogos a patas de cangrejo, un producto basado en surimi que se consume en Europa y EE.UU. El surimi es usado principalmente en la manufactura de varios tipos de productos japoneses, como geles resistentes al calor, tales como el itatsuki, kamaboko, chikuwa, hanpen y satsuma-age. El surimi es esencialmente un concentrado blando de proteína miofibrilar, principalmente blanco, utilizado para elaborar diferentes productos pesqueros como geles o emulsiones, o como un ingrediente en el procesamiento de otros alimentos. Este producto es considerado un ingrediente funcional proteico muy valioso, análogo a los concentrados proteicos de soja, utilizados en una gran variedad de productos alimenticios (Lanier 1994).

Un paso importante en la formación de un gel de alta calidad a partir del surimi –como sucede en la producción de kamaboko– es la formación de entrecruzamientos de ϵ - γ -glutamil-lisina (G) en las proteínas, lo que contri-



buye a mejorar la fuerza del gel del surimi (An *et al.*, 1996). La enzima endógena responsable de la formación del entrecruzamiento GL en la carne de pescado es la transglutaminasa, una enzima capaz de catalizar las reacciones de transferencia de acilos, en los cuales el grupo γ -carbámido de la glutamina unida al péptido sirve como un dador de acilos (Yasueda *et al.*, 1994). Las reacciones catalizadas por esta enzima pueden ser utilizadas para modificar las propiedades funcionales de las proteínas del alimento. La transglutaminasa ha sido usada para catalizar el entrecruzamiento en un número de proteínas, como las del trigo, de la carne roja, de la soja y del gluten. La modificación de las proteínas del alimento por la transglutaminasa puede dar lugar a productos con texturas variadas: hamburguesas, carne enlatada, carne congelada, carne moldeada, pasta de surimi de pescado, pasta de krill, alimentos horneados, polvos de proteínas de plantas, etc. La aplicación principal de la transglutaminasa es en la formación de geles y en la reconstrucción de productos cárnicos.

Frente a la gran cantidad de especies que se arrojan al mar, la extracción de una enzima como la transglutaminasa –entre otras– del músculo blanco de dichas especies sin interés comercial, tendría un gran valor para ser aplicada en la industria de los alimentos, evitando así el desperdicio.

Aceites de pescado ricos en PUFAs

Las aplicaciones en salud de los aceites de origen marino fueron descubiertas por los médicos daneses Bang y Dyerberg en la década de 1970 a través de los exámenes clínicos de los cazadores de focas en Groenlandia (Bang & Dyerberg, 1986). Los aspectos médicos y nutricionales de los aceites marinos han recibido gran atención debido a que se ha demostrado su acción preventiva en las enfermedades cardíacas y por ser necesarios



Surimi



Yamaboko



Chikuwa

para el desarrollo normal del cerebro y del tejido nervioso. Por ello, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) contenidos en los aceites de organismos marinos son esenciales en la nutrición humana. De todos ellos, el DHA (ácido docosahexanoico) y el EPA (ácido eicosapentanoico) son los recomendados por la OMS. Ambos se encuentran en los aceites de pescado, principalmente los provenientes del hígado de bacalao. Sin embargo, la mayor parte de estos aceites contienen sólo cantidades moderadas de dichos ácidos. Por ello, existe un enorme interés comercial en preparar aceites de pescado enriquecidos en PUFAs. Para su preparación se utilizan varios métodos químicos, incluyendo los enzimáticos a través de lipasas.

Producción de caviar

El caviar es uno de los productos pesqueros salados considerados una "delicatessen". En rigor, la palabra "caviar" se refiere solamente a las huevas tamizadas y curadas del esturión (*Acipenser sooy* y *Huso huso*), aunque en los últimos años dicho término ha sido utilizado para describir a las huevas tratadas de otras especies de peces menos caros: bacalao, bagre, arenque, capelín, pez globo, y algunas especies de agua dulce. El proceso de tamizado es una tarea bastante laboriosa, que se realiza en forma manual o mecánica. Uno de los grandes problemas en su preparación es la dificultad de separar las huevas del tejido conectivo que los sostiene, sin destruir una gran cantidad de huevas. A veces su producción es demasiado baja (ya que se aprovecha tan sólo el 50%), sin embargo este problema ha sido solucionado utilizando enzimas; por ejemplo las huevas de salmón han sido liberadas con proteinasas (en condiciones ácidas, neutras o alcalinas) (Raa 1986).

Se han obtenido resultados satisfactorios con varias enzimas, como la pepsina del bacalao atlántico y la proteínasa ácida del "orange roughy", un pez de Nueva Zelanda (Xu *et al.*, 1996). Debido a que estas enzimas tienen alta actividad a bajas temperaturas, sus aplicaciones son únicas (es importante llevar adelante los procesos enzi-

máticos a bajas temperaturas, para evitar la contaminación bacteriana). Se ha demostrado que las pepsinas de los peces rompen la separación entre los huevos y el saco de los mismos, sin dañar los huevos (Haard & Simpson, 1994).

Preparación de productos de pescado curado

La producción anual mundial de productos curados de pescado supera los varios cientos de miles de toneladas. La mayor parte de dichos productos son arenques curados (*Clupea harengus*) y calamares fermentados (*Illex illecebrosus*) (Stefansson & Steingrimsdottir, 1990). Las características sensoriales del pescado curado resultan del proceso de salado y de los cambios enzimáticos en las proteínas, lípidos y carbohidratos a partir de diferentes interacciones de los productos de estas reacciones enzimáticas, y de las especias agregadas (Venugopal & Shahidi, 1998).

En los productos tradicionales de pescado curado tiene lugar una hidrólisis parcial, catalizada por las propias enzimas endógenas durante el procesado. Este proceso es provocado por las proteasas musculares que juegan un papel importante en el metabolismo proteico del músculo y en la degradación tisular durante la tenderización postmortem (Ashie & Simpson, 1997). Sin embargo, dicha actividad de las enzimas musculares es muy pequeña si se la compara con las proteasas provenientes del tubo digestivo del pescado, ya que ellas juegan un papel decisivo en el proceso de maduración de la carne de pescado. La maduración de estos productos curados parece depender de las enzimas digestivas



Arenque

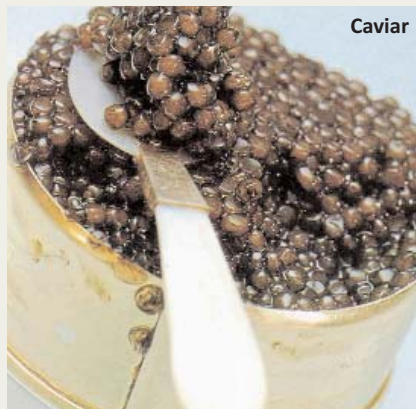


endógenas, ya que producen la textura y sabor característicos (Haard & Simpson, 1994). De todas las enzimas digestivas, la tripsina del saco pilórico del pescado es la endopeptidasa con mayor actividad para el proceso de maduración (Coppes & Haard, 2005). La primera enzima que se utilizó para la maduración artificial fue la obtenida del saco pilórico del arenque capturado en el verano. Para facilitar el proceso, Asgeirsson *et al.* (1989) propusieron el uso de enzimas digestivas de pescado o mariscos, en especial las proteasas adaptadas al frío, debido a que son herramientas más adecuadas que las enzimas homologas de los mamíferos, para acelerar el proceso de maduración.

Hidrolizados proteicos obtenidos de pescado y mariscos (FPH)

Los hidrolizados proteicos del pescado (FPH), una mezcla de fragmentos de proteínas, son preparados por digestión de todo el pescado o de otros animales acuáticos (o partes de ellos) utilizando enzimas proteolíticas (endógenas y exógenas) a la temperatura y pH óptimos requeridos por las enzimas. El proceso de hidrólisis cliva las proteínas en péptidos menores para obtener un producto soluble en agua (Venugopal & Shahidi, 1998). La producción de FPH es una forma de transformar una gran proporción del pescado capturado, que permanece sin ser usada, en un concentrado proteico hidrosoluble para ser aplicado en la alimentación. Ya en la Roma antigua eran bien conocidos los hidrolizados líquidos de pescado. Una descripción detallada de su preparación, aparece en el "Libro de Cocina Romana"; estos productos también son muy populares en el Asia del este.

Si bien muchos FPH son preparados por agregado directo de una enzima obtenida de fuentes comerciales, las enzimas endógenas del propio pescado han sido usadas para preparar diferentes productos. De esta manera, se han desarrollado con éxito FPHs provenientes del *Sprattus sprattus* (sardineta del caspio). El krill, un invertebrado marino poco utilizado cuya producción mundial va aumentando cada vez más (Venugopal & Shahidi, 1998), es muy rico en proteasas y sufre autólisis rápida, haciendo que la mayor parte de la proteína del krill se degrade en aminoácidos después de 48 horas a 20°C. Por esta razón, desde hace tiempo se lleva adelante un proceso industrial de producción de aminoácidos libres (Ellingsen & Mohr, 1979).



Los FPHs son aplicados en alimentos dietéticos como una fuente de aminoácidos y péptidos; también en productos como suflés, merengues, macarrones o en el pan; en la sopa y pasta de pescado y en los análogos de los mariscos, como compuestos para brindar aromas a los alimentos. La elevada disponibilidad de estos productos los cataloga como sustitutos adecuados de las proteínas de la leche (Gildberg, 1993). La aplicación principal como ración para animales es como reemplazante de la leche para el ganado y cerdos en destete, y también como proteína en la alimentación para peces. También el krill hidrolizado está siendo utilizado como ingrediente en las dietas de larvas y formas juveniles de peces (Kubitza & Lovshin, 1997).

Saborizantes de pescado

Se sabe que los potenciadores del sabor son sustancias químicas que tienen poco sabor en sí, pero que mezclados con productos alimenticios tienen la habilidad de favorecer el sabor. Los potenciadores utiliza-

dos en todo el mundo incluyen el glutamato monosódico (MSG), la inosina 5' monofosfato (5'IMP) y la guanosina 5' monofosfato (5'GMP). Estos compuestos acentúan el sabor de la carne y se han hallado aplicaciones como potenciadores en las sopas, salsas, caldos de carne y muchos otros productos sabrosos (Nagodawithana, 1993). Los potenciadores del sabor se encuentran naturalmente en fuentes como las algas marinas, el atún y el hongo negro.

Los saborizantes de origen marino cada vez están siendo más demandados para su uso como aditivos en productos como el kamaboko, el cangrejo artificial y las salchichas de pescado, así como en productos a base de cereales, como las frituras de camarón (Kawai, 1996). Los saborizantes marinos obtenidos de varias fuentes de material de partida pueden ser producidos por hidrólisis enzimática, utilizando sus propias enzimas endógenas.

Salsas de pescado

La salsa de pescado es un producto tradicional basado en la fermentación del pescado y constituye una fuente muy importante de proteína para las poblaciones del Asia del Este. También es consumida en Europa y en América del Norte. Este alimento de origen marino es un producto líquido, que se prepara almacenando el



Patís

pescado preservado con sal concentrada a temperaturas tropicales hasta que es solubilizado por las enzimas endógenas. Como ejemplos típicos se encuentran el nuoc-mam, producido en Vietnam y Cambodia; el nampla en Tailandia; el patís en Filipinas; el uwo-shoyu en Japón, y el ngapi en Burma (Sikorski & Ruiter, 1994). La tradicional fermentación del pescado es realmente una combinación de salado, hidrólisis enzimática y fermentación bacteriana.

El futuro de las aplicaciones de las enzimas de organismos marinos

En los océanos se encuentran condiciones ambientales extremas, desde presiones de 1 atm a nivel del mar hasta varios cientos en el fondo del océano (la presión aumenta 1 atm cada 10 m de profundidad). Hay temperaturas bajo cero en los océanos Ártico y Antártico, mientras que en las fuentes hidrotermales las temperaturas exceden los 100°C. Las salinidades van desde cero en el agua dulce hasta más de 6N de NaCl en las minas salinas del mar. Cada organismo presenta un metabolismo adaptado a esas condiciones extremas, y debido a que el metabolismo es llevado a cabo por enzimas, se seguirán encontrando una gran diversidad de estas proteínas con actividad catalítica de capacidades cinéticas únicas.

Estas enzimas ayudan en una gran variedad de elaboraciones, y en algunos casos son consideradas una parte importante o indispensable en los procesos de la industria alimentaria moderna para producir un rango muy diverso de productos para humanos y animales. Cada vez más, nuevos descubrimientos muestran que las enzi-

mas pueden trabajar en condiciones extremas, como es el caso de las enzimas provenientes de organismos marinos. Por ello, el gran objetivo de los tecnólogos de enzimas para alimentos es hallar nuevas alternativas y comprender su base molecular y cinética de la transformación para mejorar las propiedades funcionales y nutricionales de los alimentos, ya sean los provenientes de la industria pesquera o de las industrias cárnica y láctea.

Agradecimientos

La autora desea agradecer a los editores de la revista La Alimentación Latinoamericana por el incentivo brindado para mostrar los avances que existen de las aplicaciones de la ciencia para el mejor aprovechamiento de la pesca, evitando el desperdicio. A los compañeros de la Facultad de Química, a la Comisión Coordinadora de Cursos y a la carrera de Ingeniería de los Alimentos, por haber incentivado a continuar realizando el curso de Biotecnología Marina. Finalmente a sus hijos Karin y Federico Achaval, por su constante apoyo incondicional. El artículo la autora lo dedica a su fiel compañero de vida, padre de sus hijos, el profesor Federico Achaval, recientemente fallecido.

Bibliografía

An H. J., Peters M. Y. & Seymour T. A. (1996). Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends Food Sci Technol.* 7: 321-327.
 Asgeirsson B., Fox J. W. & Bjarnason J. B. (1989). Purification and characterization of trypsin from the poikilotherm *Gadus morhua*. *Eur. J. Biochem.* 180: 85-94.
 Ashie I. N. A. & Simpson B. K. (1997). Proteolysis in food myosystems – a review. *J. Food Biochem.* 21: 91-123.
 Bang H. O. & Dyerberg J. (1986). Lipid metabolism and ischemic heart disease in Greenland Eskimos. *Adv. Nutr. Res.* 3: 1-21.
 Coppes-Petricorena Z. L. & N. F. Haard (2005). Aprovechamiento de los desechos de pescado para la industria alimentaria. *La Alimentación Latinoamericana* 252: 47-57.
 Coppes-Petricorena Z. L. & G. N. Somero (2007). Biochemical adaptations of notothenioid fishes: Comparisons between cold temperate South American and New Zealand species and



Pescado curado

- Antarctic species. *Comp. Biochem. Physiol. A*: 799-807.
- De Vecchi S. & Coppes Z. L. (1996). Marine fish digestive proteases. Relevance to food industry and the West Atlantic Region. A Review. *J. Food Biochem.* 20: 193-214.
- Ellingsen T. & Mohr V. (1979). A new process for utilization of Antarctic krill. *Process Biochem.* 14: 14-19.
- Gildberg A. (1993). Enzymic processing of marine raw materials. *Process Biochem.* 28: 1-15.
- Haard N. F. (1997). Specialty enzymes from marine organisms. *Biotechnologia* 2: 78-85.
- Haard N. F. & Simpson B. K. (1994). Proteases from aquatic organisms and their uses in the seafood industry. En: *Fisheries processing. Biotechnological Applications* (Martin A. M. ed), London: Chapman & Hall, pp. 132-154.
- Haraldsson G. G. (1990). The application of lipases for modification of fats and oils, including marine oils. En: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (Voigt M.N. & Botta J. R. eds). Lancaster, PA: Technomic Publishing, pp 337-357.
- Kawai T. (1996) Fish flavor. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 36: 257-298.
- Kubitza F. & Lovshin L. L. (1997). The use of freeze-dried krill to feed train largemouth bass (*Micropterus salmonides*): feeds and training strategies. *Aquaculture* 148: 299-312.
- Lanier T. C. (1994). Functional food protein ingredients from fish. En: *Seafood Proteins* (Sikorski Z.E. & Pan B.S. & Shahidi F. eds.). London, Chapman & Hall, pp. 127-159.
- Nagodawithana T. (1993). Enzymes associated with savory flavor enhancement. En: *Enzymes in Food Processing* (Nagodawithana T. & Reed G. eds) 3rd ed. San Diego: Ac. Press, pp 401-421.
- Raa J. (1986). Modern biotechnology: impact on aquaculture and the fish processing industry. Paper presented at the 5th World Productivity Congress, Jakarta, Indonesia 13-16 April.
- Sikorski Z. E. & Ruitter A. (1994). Changes in proteins and non-protein nitrogen compounds in cured, fermented and dried seafoods. En: *Seafood Proteins* (Sikorski Z. E., Pan B. S. & Shahidi F. eds). London: Chapman & Hall, pp. 113-126.
- Stefansson G. & Steingrimsdottir U. (1990). Application of enzymes for fish processing in Iceland- present and future aspects. En: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* (Voigt M.N. & Botta J. R. eds), Lancaster, PA: Technomic Publishing, pp. 237-250.
- Venugopal V. & Shahidi F. (1998). Traditional methods to process underutilized fish species for human consumption. *Food Rev. Int.* 14: 35-97.
- Vilhelmsson O. (1997). The state of enzyme biotechnology in the fish processing industry. *Trends Food Sci. Technol.* 8: 266-270.
- Xu R. A., Wong R. J., Rogers M. L. & Fletcher G. C. (1996). Purification and characterization of acidic proteases from the stomach of the deepwater finfish orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*). *J. Food Biochem.* 20: 31-48.
- Yasueda H., Kumazawa Y. & Motoki M. (1994). Purification and characterization of a tissue type transglutaminase from Red Sea bream (*Pagrus major*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58: 2041-2045.