

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HIDROLIZADOS PROTEICOS OBTENIDOS DE SEMILLAS DE FRIJOL BAYO CULTIVADAS EN EL VALLE DEL MEZQUITAL

### EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PROTEINS HYDROLYZED FROM BAY BEANS CULTIVATED IN THE VALLE DEL MEZQUITAL

Tovar-Benítez Tomás, Vega-Zuñiga Kelly Amayrani, Porrás-Saavedra Josefina y Pérez-Pérez Nalleli Concepción

Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo, (Departamento de Ingeniería en Industrias Alimentarias), Paseo del Agrarismo 2000, Carr. Mixquiahuala – Tula, km 2.5, Mixquiahuala de Juárez, C.P. 42700, Hidalgo, México. \* [ttovar@itsoeh.edu.mx](mailto:ttovar@itsoeh.edu.mx)

**RESUMEN.** En la actualidad factores como la contaminación ambiental, nuestro estilo de vida y algunas situaciones patológicas, traen como consecuencia la generación y acumulación de radicales libres, dando como resultado el establecimiento de estrés oxidativo, el cual se ha relacionado con el envejecimiento y enfermedades crónicas degenerativas. Debido a lo anterior, se ha enfatizado la importancia de consumir alimentos ricos en antioxidantes para el buen funcionamiento del organismo. Sin embargo, la baja estabilidad que presentan algunas de estas moléculas antioxidantes, ha llevado a buscar alternativas como los alimentos enriquecidos con componentes bioactivos, "alimentos funcionales", estos han tenido buena aceptación entre los consumidores debido a sus beneficios a la salud; por lo tanto, la tendencia actual de la industria alimentaria es buscar nuevas fuentes para el aislamiento de antioxidantes naturales como los péptidos bioactivos, obtenidos a partir de proteínas de origen vegetal. De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antioxidante a los hidrolizados proteínicos obtenidos a partir de las proteínas de *P. vulgaris* L. La hidrólisis se realizó de manera secuencial con las enzimas pepsina-pancreatina por 60, 90 y 120 min. Posteriormente, la actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos de inhibición del radical ABTS y DPPH. El hidrolizado proteínico obtenido a 120 min presentó un valor de TEAC de 2.42 mM/mg de proteína y 46.5 % de captación del radical DPPH. Estos resultados sugieren que los hidrolizados proteínicos evaluados podrían ser una alternativa para la obtención de péptidos bioactivos con actividad antioxidante que puedan ser utilizados como ingredientes para desarrollar alimentos funcionales utilizados para la prevención y/o tratamiento de enfermedades causadas por el estrés oxidativo.

**Palabras clave:** Antioxidante, péptidos bioactivos, hidrólisis enzimática.

**ABSTRACT.** Factors such as environmental pollution, lifestyle and some pathological situations, result in the generation and accumulation of free radicals, resulting in the establishment of oxidative stress, which has been related to aging and chronic diseases degenerative. Because of this, the importance of consuming foods rich in antioxidants for the proper functioning of the body has been emphasized. However, the low stability of some antioxidant molecules has led to the search for alternatives such as foods enriched with bioactive components, "functional foods", these have been well accepted by consumers due to their health benefits; Therefore, the current trend in the food industry is to seek new sources for the isolation of natural antioxidants such as bioactive peptides, obtained from proteins of plant origin. The aim of the present work was to evaluate the antioxidant activity of the protein hydrolysates obtained from the proteins of *P. vulgaris* L. The hydrolysis was carried out sequentially with the pepsin-pancreatin enzymes for 60, 90 and 120 min. Subsequently, the antioxidant activity was evaluated by the methods radical inhibition ABTS and DPPH. The protein hydrolyzate obtained at 120 min presented a value TEAC of 2.42 mM/mg of protein and 46.5% uptake of the DPPH radical. These results suggest that the protein hydrolysates evaluated could be an alternative for obtaining bioactive peptides with antioxidant activity that can be used as ingredients to develop functional foods used for the prevention and / or treatment of diseases caused by oxidative stress.

**Key words:** Antioxidant, bioactive peptides, enzymatic hydrolysis.

#### INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo contribuye al desarrollo de enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoide, lupus; diversas infecciones bacterianas o virales; infartos, isquemias, cáncer, y otras enfermedades neurológicas como el Parkinson o el Alzheimer <sup>1</sup>. Para contrarrestar su daño oxidativo a nivel celular, el organismo utiliza una serie de sustancias llamadas antioxidantes como la enzima superóxido dismutasa, el ácido úrico, vitaminas como

la A, E y C, minerales como el zinc o algunos aminoácidos esenciales <sup>2</sup>. Su consumo es seguro, pero tienen la desventaja de presentar cierta inestabilidad ante factores ambientales como la luz, el oxígeno y la temperatura <sup>3</sup>. Debido a esto existe un interés por encontrar antioxidantes naturales con mejores características tales como los péptidos de origen vegetal o animal <sup>4</sup>. Los péptidos bioactivos son pequeños fragmentos de proteínas, en su mayoría compuestos por 2 a 20 residuos de aminoácidos; y

son liberados como consecuencia del proceso de digestión gastrointestinal, durante el procesamiento de alimentos (por ejemplo, por calor, fermentación, extrusión, altas presiones, entre otros), o por un proceso previo y controlado como la hidrólisis enzimática *in vitro* que implica el uso de enzimas proteolíticas<sup>5</sup>. De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la actividad antioxidante a los hidrolizados proteínicos obtenidos a partir de las proteínas de frijol bayo (*Phaseolus vulgaris* L.).

## METODOLOGÍA

### Obtención del concentrado proteico

Las semillas de *Phaseolus vulgaris* L. fueron molidas con el propósito de obtener una harina. A partir de esta harina se obtuvo un concentrado proteínico de acuerdo con la metodología propuesta por Betancur-Ancona et al., (2004)<sup>6</sup>. Este método consistió en el fraccionamiento en húmedo de los diferentes componentes de la harina mediante la solubilización de las proteínas en un medio alcalino y su posterior precipitación en un medio ácido (punto isoeléctrico).

### Hidrolisis enzimática

Para la obtención del hidrolizado proteínico de *Phaseolus vulgaris* L., el concentrado proteico fue hidrolizado vía enzimática utilizando el sistema secuencial pepsina-pancreatina por 120 min<sup>7</sup>. Para calcular el porcentaje de grado de hidrolisis se empleó el método reportado por Nielsen et al., (2001)<sup>8</sup>.

### Determinación de la actividad antioxidante

#### Método ABTS

Se empleó el método reportado por Pukalskas et al., (2002)<sup>9</sup>. Este método se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS•+, el cual es formado previamente por la oxidación del ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)). Los resultados se expresaron como equivalente de Trolox o TEAC (por su nombre en inglés, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

#### Método DPPH

Se empleó el método reportado por Memarpoor-Yazdi, M., Mahaki, H., & Zare-Zardini, H. (2013)<sup>10</sup>. El DPPH• es uno de los pocos radicales orgánicos estables, presenta una fuerte coloración violeta y no tiene que ser generado *in situ* como el ABTS•+. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH•, esta medición puede hacerse

espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 517 nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Hidrolisis enzimática

La hidrólisis enzimática del concentrado proteínico de *Phaseolus vulgaris* L. con el sistema secuencial pepsina-pancreatina generó grados de hidrólisis de 16.27 % en 30 min a 28.1% en 120 min (figura 1). Los valores de GH del presente estudio fueron mayores al 3% en 5 min y 16% en 210 min reportados por Carrasco-Castilla et al., (2012)<sup>11</sup> para un hidrolizado proteínico de frijol variedad Jamapa obtenido con las mismas enzimas. De acuerdo con lo anterior, los hidrolizados proteínicos de *Phaseolus vulgaris* L. producidos con el sistema secuencial pepsina-pancreatina, representan un grupo de péptidos que se asemejan a los generados durante la digestión gastrointestinal de las proteínas en el organismo. La pepsina es la principal enzima proteolítica generada en el estómago durante la digestión de alimentos, mientras que la pancreatina incluye proteasas como tripsina, quimotripsina y elastasa, que son liberados por el páncreas en el intestino. De acuerdo con Segura-Campos et al., (2010)<sup>12</sup>, los péptidos resultantes pueden ser absorbidos por las células epiteliales digestivas en el intestino delgado y ejercer su actividad biológica.

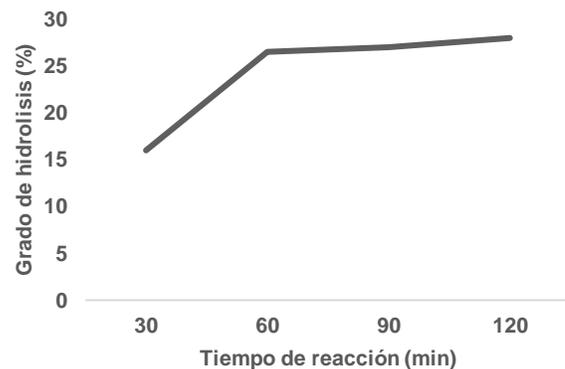
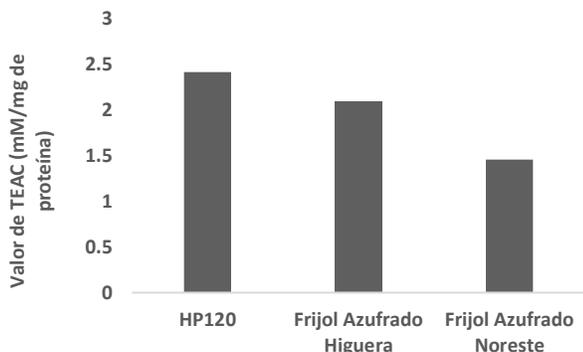


Figura 1. Grado de hidrólisis de los hidrolizado proteínico de *Phaseolus vulgaris* L. producido secuencialmente con pepsina-pancreatina.

### Evaluación de la actividad antioxidante

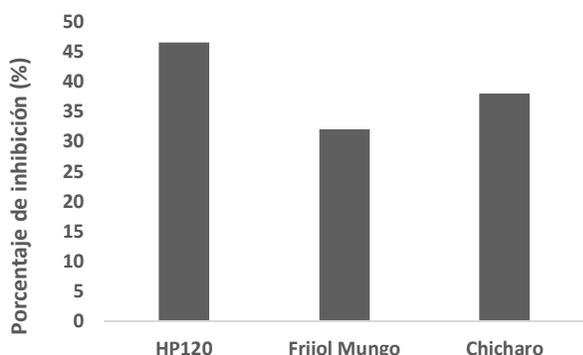
El coeficiente antioxidante equivalente de TROLOX del hidrolizados proteico obtenido en 120 min fue de 2.42 mM/mg proteína (figura 2). Este valor fue similar a lo reportado en hidrolizados proteicos obtenidos a partir de frijol azufrado<sup>13</sup>. Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden deberse a la composición aminoacídica, es decir a la presencia, cantidad y

secuencia de los residuos de aminoácidos como tirosina, histidina, metionina, lisina, triptófano y prolina, los cuales presentan actividad antioxidante <sup>4</sup>.



**Figura 2.** Capacidad inhibitoria del HP120 sobre el radical ABTS.

Por otra parte, el porcentaje de inhibición del radical DPPH obtenido por el hidrolizado proteico de *Phaseolus vulgaris* L. producido con el sistema secuencial pepsina-pancreatina en 120 min fue de 46.5%. Este valor fue superior a lo reportado en otros hidrolizados proteicos obtenidos a partir de semillas de frijol mungo<sup>14</sup> y chícharo<sup>15</sup>. Los resultados del presente estudio sugieren que el mecanismo de captación de radicales libres depende de la presencia de aminoácidos hidrofóbicos, especialmente isoleucina, fenilalanina, y leucina, formado parte de las secuencias de péptidos resultantes<sup>15</sup>.



**Figura 3.** Porcentaje de inhibitoria del HP120 sobre el radical DPPH.

## CONCLUSIONES

Las semillas de frijol bayo son una alternativa proteínica para la obtención de péptidos con actividad biológica debido a que al ser sometidas a un proceso de hidrolisis enzimática con el sistema secuencial pepsina-pancreatina se obtuvieron péptidos de bajo

peso molecular los cuales han demostrado presentar actividades biológicas específicamente de tipo antioxidante. Los hidrolizados proteínicos evaluados podrían ser una alternativa para la obtención de péptidos bioactivos que puedan ser utilizados como ingredientes para desarrollar alimentos funcionales para la prevención y/o tratamiento enfermedades causadas por el estrés oxidativo.

## REFERENCIAS

1. Losada-Barreiro, S., & Bravo-Díaz, C. (2017). Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 133, 379-402.
2. Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68-78.
3. Sonar, C. R., Parhi, A., Liu, F., Patel, J., Rasco, B., Tang, J., & Sablani, S. S. (2020). Investigating thermal and storage stability of vitamins in pasteurized mashed potatoes packed in barrier packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100486.
4. Tadesse, S. A., & Emire, S. A. (2020). Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market. *Heliyon*, 6(8), e04765.
5. Chalamaiah, M., Keskin Ulug, S., Hong, H., & Wu, J. (2019). Regulatory requirements of bioactive peptides (protein hydrolysates) from food proteins. *Journal of Functional Foods*, 58, 123-129.
6. Betancur-Ancona, D., Gallegos-Tintore, S., & Chel-Guerrero, L. (2004). Wet-fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(10), 1193-1201.
7. Megias, C., del Mar, Y. M., Pedroche, J., Lquari, H., Giron-Calle, J., Alaiz, M. et al. (2004). Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *J.Agric.Food Chem.*, 52(7), 1928-1932.
8. Nielsen, P., Petersen, D., & Dammann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66, 642-646.
9. Pukalskas, A., van Beek, T. A., Venskutonis, R. P., Linssen, J. P. H., van Veldhuizen, A., & de Groot, A. E. (2002). Identification of Radical Scavengers in Sweet Grass (*Hierochloe odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2914-2919.
10. Memarpoor-Yazdi, M., Mahaki, H., & Zare-Zardini, H. (2013). Antioxidant activity of protein hydrolysates and purified peptides from *Zizyphus jujuba* fruits. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 62-70.
11. Carrasco-Castilla, J., Hernandez-Alvarez, A. J., Jimenez-Martinez, C., Jacinto-Hernandez, C., Alaiz, M., Giron-Calle, J. et al. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 135(3), 1789-1795.
12. Segura-Campos, M. R., Chel-Guerrero, L. A., & Betancur-Ancona, D. A. (2010). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions extracted by ultrafiltration of cowpea *Vigna unguiculata* hydrolysates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(14), 2512-2518.

13. Valdez-Ortiz, A., Fuentes-Gutiérrez, C. I., Germán-Báez, L. J., Gutiérrez-Dorado, R., & Medina-Godoy, S. (2012). Protein hydrolysates obtained from Azufrado (sulphur yellow) beans (*Phaseolus vulgaris*): Nutritional, ACE-inhibitory and antioxidative characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 91-96.
14. Xie, J., Du, M., Shen, M., Wu, T., & Lin, L. (2019). Physico-chemical properties, antioxidant activities and angiotensin-I converting enzyme inhibitory of protein hydrolysates from Mung bean (*Vigna radiata*). *Food Chemistry*, 270, 243-250.
15. Olagunju, A. I., Omoba, O. S., Enujiugha, V. N., Alashi, A. M., & Aluko, R. E. (2018). Antioxidant properties, ACE/renin inhibitory activities of pigeon pea hydrolysates and effects on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats. 6(7), 1879-1889.