

AUTORES
AUTHORS

✉ **Javier VIOQUE***
Justo PEDROCHE
Maria M. YUST
Hassane LOARI
Cristina MEGÍAS
Julio GIRÓN-CALLE
Manuel ALAIZ
Francisco MILLÁN

Instituto de la Grasa (C.S.I.C.),
Padre García Tejero 4, 41012, Sevilla, SPAIN,
*e-mail: jvioque@cica.es

RESUMEN

Los péptidos bioactivos son secuencias de aminoácidos de pequeño tamaño, entre dos y quince residuos, inactivas dentro de la proteína intacta pero que pueden ser liberados tras la hidrólisis de la proteína ejerciendo diversos efectos beneficiosos para el organismo. En nuestro grupo hemos observado la presencia de péptidos bioactivos en diversas fuentes proteicas vegetales. Así, hemos obtenido hidrolizados proteicos de garbanzo, girasol y colza enriquecidos en péptidos inhibidores del enzima convertidor de angiotensina. Estos péptidos reducen la presión arterial ya que la actividad de este enzima está directamente relacionada con un incremento de esta presión. También hemos obtenido péptidos hipocolesterolémicos a partir de hidrolizados proteicos de girasol y *B. carinata* y péptidos antioxidantes a partir de hidrolizados proteicos de garbanzo y *B. carinata*.

SUMMARY

Bioactive peptides are small amino acid sequences, between two and fifteen residues, inactive in the native protein but that can be realised after protein hydrolysis exerting different beneficial effects in the organism. In our group we have observed the presence of bioactive peptides in several plant proteins. Thus, we have obtained chickpea, sunflower and rapeseed protein hydrolysates enriched in inhibitory peptides of angiotensin converting enzyme. These peptides decrease blood pressure since the activity of this enzyme is directly related with an increase of this pressure. Also, we have obtained hypocholesterolemic peptides from sunflower and *B. carinata* protein hydrolysates and antioxidant peptides from chickpea and *B. carinata* protein hydrolysates.

PALABRAS CLAVE
KEY WORDS

péptidos bioactivos, antihipertensivos,
hipocolesterolémicos, antioxidantes, proteínas vegetales.
bioactive peptides, antihypertensives,
hypocholesterolemic, antioxidants, plant proteins.

1. INTRODUCCIÓN

El procesado de los alimentos hasta la obtención del producto final conlleva la generación de residuos, por ejemplo durante la selección de las partes comestibles de la materia prima. Estos residuos son normalmente desechados o aprovechados como materiales de bajo valor añadido principalmente en alimentación animal. Sin embargo, muchos de estos residuos presentan contenidos elevados de proteínas que podrían ser aprovechadas para la elaboración de otros alimentos. Entre los residuos agroindustriales que nuestro grupo estudia se encuentran las harinas desengrasadas de girasol y colza, las harinas de garbanzo que no pueden ser usados para consumo directo o el orujo resultante de la extracción del aceite de oliva. Para el aprovechamiento de sus proteínas en primer lugar se eliminan los componentes no proteicos y las proteínas se extraen realizando una extracción alcalina del concentrado proteico y purificación mediante precipitación isoeléctrica. De esta forma se obtiene un aislado proteico con más de un 90% de proteínas que representa un producto idóneo para su uso en la elaboración de alimentos. Sin embargo, estos aislados presentan limitaciones como su baja solubilidad y potencial alergenicidad. Para solventar estos dos problemas las proteínas pueden hidrolizarse obteniéndose un hidrolizado proteico. Estos hidrolizados presentan una solubilidad cercana al 100% en un amplio rango de pH y son hipoaerérgicos. Además, su absorción intestinal es mejor que la de las proteínas intactas. Hoy día los hidrolizados proteicos se dividen en tres grandes grupos: I) Hidrolizados limitados, con grados de hidrólisis menores del 10%, para la mejora de las propiedades funcionales. II) Hidrolizados para su uso como flavorizantes con grados de hidrólisis variable. III) Hidrolizados extensivos, con grados de hidrólisis mayores del 10%, para su uso en alimentación especializada. Este último grupo puede a su vez dividirse en aquellos para ser usados como suplemento proteico (tercera edad, deportistas, dietas), en dietas médicas y por último enriquecidos en péptidos bioactivos.

Los péptidos bioactivos son secuencias de aminoácidos de pequeño tamaño, entre dos y quince residuos, inactivas dentro de la proteína intacta pero que pueden ser liberados bien durante la digestión del alimento en el

organismo del individuo o por un procesado previo del mismo, como por ejemplo mediante hidrólisis enzimática, ejerciendo diversos efectos beneficiosos para la salud. Son numerosos los péptidos bioactivos descritos hasta la fecha. Aunque se han encontrado en proteínas animales y vegetales las de la leche son las mejor estudiadas. Las funciones descritas para estos péptidos también son diversas. La Tabla 1 muestra algunos de los efectos beneficiosos observados hasta la fecha.

En nuestro grupo hemos estudiado algunos de estos péptidos en residuos agroindustriales como los comentados anteriormente.

1.1 Péptidos inhibidores del enzima convertidor de angiotensina

Estos péptidos inhiben un enzima clave en la regulación de la presión arterial. Este enzima es una proteasa que actúa por un lado hidrolizando el decapeptido angiotensina I para producir el octapeptido angiotensina II que es vasoconstrictor y por otro degrada el péptido vasodilatador bradiquinina. Así pues, su actividad está directamente relacionada con un incremento de la presión arterial. Ya que una presión arterial alta está relacionada con un incremento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, la inhibición de este enzima sería beneficiosa para el organismo. En el grupo del Dr. Millán hemos observado la presencia de estos péptidos en diversos hidrolizados proteicos vegetales. Así, hidrolizados proteicos de garbanzo obtenidos con alcalasa (1-2), girasol con pepsina más pancreatina (3), colza con alcalasa (4) y *Brassica carinata* con tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa (5) mostraron actividad inhibidora de este enzima. En el caso del girasol el péptido con mayor actividad inhibidora del enzima convertidor de angiotensina fue secuenciado. Su secuencia es FVNPOAGS que se corresponde con un fragmento de la heliantina, la globulina 11S del girasol (Figura 1). Es decir, la proteína mayoritaria de almacén del girasol constituye una fuente de péptidos inhibidores del enzima convertidor de angiotensina. Además este péptido, obtenido tras una hidrólisis extensiva con pepsina más pancreatina muy posiblemente sea resistente a la hidrólisis durante la digestión gastrointestinal.

Tabla 1 Péptidos bioactivos y sus efectos beneficiosos para el organismo.

Peptidos	Efecto beneficioso
Inmunomoduladores	Estimulan la respuesta inmune
Inhibidores del enzima convertidor de angiotensina	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares
Antioxidantes	Previenen enfermedades degenerativas y envejecimiento
Reguladores del tránsito intestinal	Mejoran la digestión y absorción
Reguladores de la proliferación celular	Reducen la proliferación de tumores cancerígenos
Antimicrobianos	Reducen el riesgo de infecciones
Quelantes	Mejoran la absorción de minerales y metales
Hipocolesterolémicos	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares
Anticoagulantes	Reducen los riesgos de padecer trombos

1.2 Péptidos hipocolesterolémicos

Un incremento del colesterol en sangre está directamente relacionado con un incremento de las posibilidades de padecer enfermedades cardiovasculares. Así pues, una reducción de la absorción intestinal de colesterol sería beneficioso para el organismo. El colesterol, para su absorción intestinal necesita ser primero solubilizado en forma

MASKATLLLAFTLLFATCIARHQQRQQQQNQCQLQNIIELEPIEVIAEAGVTEIWDAY
DQQFQCAWSILFDTNLFVAFSCLPTSTPLFWPSSREGVILPGCRRTYEYSQEQQFSGE
GGRRGGGEGTFRVIRKLENLKEGDVVAIPTGTAHWLHNDGNTELVVFLDTQNHEN
QLDENQRRFFLAGNPQAQAQSQQQQRQPRQSPQRQRORQGGQGNAGNIFN
GFTPELIAQSFNVVDQETAQKLGQNDQRGHVNVGDLOIVRPPQDRRSRPPQQEQEA
TSPRQQEQQQGRRGGWSNGVEETICSMKFKVNDNPSQADFVNPQAGSIANLNSF
KFPILHLRLSVERGELRPNAIQSPHWTINAHNLLYVTEGALRVQIVDNQGNVDFNEL
REGQVVVIPQNFVAVIKRANEQGSRWVVFKTNDNAMIANLAGRVSASASPLTLWANR
YQLSREEAQQLKFSQRETVLFPAPFSRGGQIRASR

Figura 1 Secuencia de la heliantina (globulina 11S) de girasol. El fragmento correspondiente al péptido inhibidor del enzima convertidor de angiotensina está resaltado en negrita.

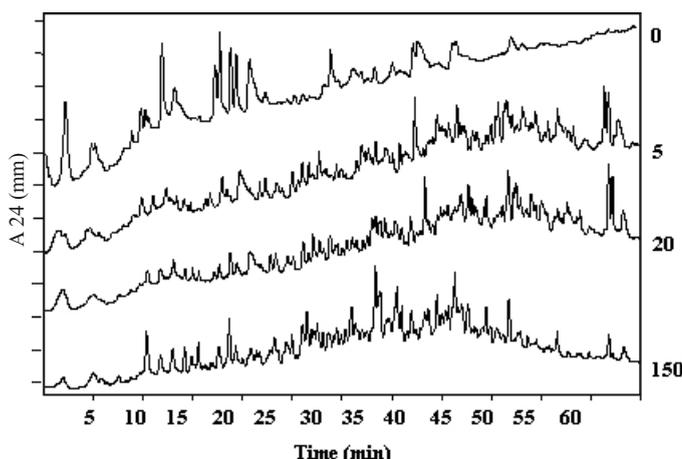


Figura 2 Perfil peptídico obtenido por HPLC-C18 del aislado proteico de garbanzo (0 min), e hidrolizados obtenidos con alcalasa a distintos tiempos (5, 20 y 150 min).

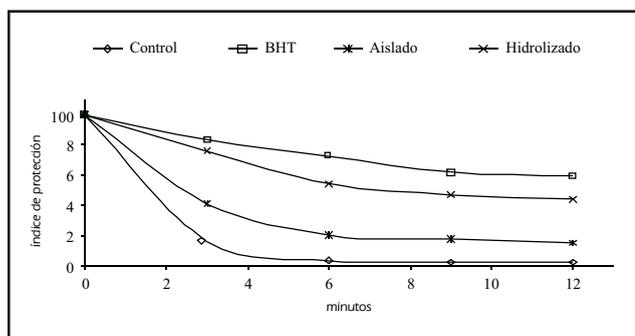


Figura 3 Poder antioxidante del hidrolizado de garbanzo.

de micelas constituidas por ácidos biliares y otros lípidos. Se ha observado que algunos péptidos pueden competir con el colesterol por un sitio en estas micelas reduciendo de esta forma la solubilidad del colesterol y su absorción intestinal. Es decir, estos péptidos podrían considerarse hipocolesterolémicos ya que reducirían los niveles de colesterol plasmático. En nuestro grupo hemos observado la presencia de péptidos hipocolesterolémicos en hidrolizados de girasol obtenidos con pepsina (6) y de *B. carinata* con pepsina, pancreatina y carboxipeptidasa (5). En el caso del girasol se obtuvieron dos hidrolizados, tras 5 y 20 min de hidrólisis con alcalasa que mostraron una reducción significativa de la incorporación de colesterol a las micelas. La Figura 2 muestra el perfil peptídico obtenido por HPLC de estos dos hidrolizados (5, 20 min), el aislado proteico (0 min) y el hidrolizado final (150 min).

Puede apreciarse que los hidrolizados con actividad hipocolesterolémica muestran un perfil cromatográfico muy parecido. La fracción comprendida entre los minutos 45 y 60 es especialmente rica en péptidos. Se ha sugerido que estos péptidos pueden ser los responsables de la actividad hipocolesterolémica ya que al ser los últimos en eluir de la columna de fase reversa C_{18} deben ser los más hidrofóbicos, y esta es una característica necesaria para su interacción con las micelas de ácidos biliares. En el hidrolizado final, que no presenta actividad hipocolesterolémica, estos péptidos han sido hidrolizados y no aparecen en el perfil peptídico.

1.3 Péptidos antioxidantes

Las especies reactivas de oxígeno se generan constantemente en los seres vivos como resultado de las reacciones metabólicas, pudiendo dañar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Este daño ha sido relacionado con el desarrollo de diversas enfermedades y con el proceso de envejecimiento. Los péptidos antioxidantes, como otros antioxidantes naturales, podrían inhibir la oxidación de estas moléculas previniendo los procesos de envejecimiento celular y el riesgo de padecer algunas enfermedades degenerativas. En nuestro grupo hemos observado la presencia de estos péptidos en hidrolizados proteicos de garbanzo obtenidos con alcalasa más flavorzima (7) y de *Brassica carinata* con tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa (5). En el caso del garbanzo, el hidrolizado obtenido tras 30 min de hidrólisis con alcalasa mostró un alto poder antioxidante (Figura 3).

A partir de este hidrolizado se ha purificado mediante cromatografía de intercambio iónico, filtración en gel y HPLC una fracción peptídica con un poder antioxidante 100 veces mayor que el hidrolizado original. Estos péptidos pueden ser útiles no solo para la salud del individuo como se ha comentado, sino también como antioxidantes naturales para la conservación de los alimentos.

En conclusión, las proteínas vegetales procedentes de residuos agroindustriales como los comentados pueden representar una buena fuente de péptidos bioactivos. Estos péptidos, una vez demostrada su actividad, resistencia a la digestión y absorción in vivo podrían ser usados en la elaboración de alimentos funcionales para la prevención de distintas enfermedades.

2. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - PEDROCHE, J., YUST, M.M., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., MILLÁN, F. & VIOQUE, J. Utilization of chickpea protein isolates for the production of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory activity. *J. Sci. Food Agric.* 82: 960-965, 2002.

2 - YUST, M.M., PEDROCHE, J., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., MILLÁN, F. & VIOQUE, J. Production of ace inhibitory peptides by digestion of chickpea legumin with alcalase. *Food Chemistry* 81: 363-369, 2003.

3 - MEGÍAS, C., YUST, M.M., PEDROCHE, J., LOARI, H., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., MILLÁN, F. & VIOQUE, J. Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1928-1932, 2004.

4 - PEDROCHE, J., YUST, M.M., MEGÍAS, C., LOARI, H., ALAIZ, M., GIRÓN-CALLE, J., MILLÁN, F. & VIOQUE, J. Utilisation of rapeseed protein isolates for production of peptides with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. *Grasas y Aceites* 55(4): 000-000, 2004.

5 - PEDROCHE, J., YUST, M.M., LOARI, H., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., VIOQUE, J. & MILLÁN, F. Obtención de péptidos bioactivos a partir de hidrolizados proteicos de *Brassica carinata* mediante el uso de proteasas específicas inmovilizadas. Congreso Nacional de Biotecnología, Sevilla, 2002.

6 - MEGÍAS, C., LOARI, H., YUST, M.M., PEDROCHE, J., GIRÓN-CALLE, J., ALAIZ, M., MILLÁN, F. & VIOQUE, J. Generation of hypocholesterolemic peptides by hydrolysis of sunflower proteins with pepsin. Sixth European Conference on Sunflower Biotechnology, Sevilla, 2003.

7 - YUST, M.M., PEDROCHE, J., GIRÓN-CALLE, J., CHACÓN, C., MEGÍAS, C., LOARI, H., VIOQUE, J., MILLÁN, F. & ALAIZ, M. Antioxidant activity of chickpea protein hydrolysates. *Oxidants and antioxidants in biology*, Cadiz, 2003.