

ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE HIDROLIZADOS PROTEÍNICOS OBTENIDOS DE FRIJOL BAYO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tovar Benítez Tomás, Cristian Jiménez Martínez, Gloria Dávila Ortiz.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prol. Carpio, Esq. Plan de Ayala S/N, Col. Casco de Santo Tomás, Del. Miguel Hidalgo, C.P. 11340, México, DF, México. tomastb_12@hotmail.com.

RESUMEN

La hidrólisis enzimática de proteínas ha sido empleada para la obtención de péptidos bioactivos (PB) los cuales se caracterizan por presentar actividades biológicas benéficas al organismo que los consume. Los péptidos antihipertensivos son de los más estudiados ya que pueden inhibir la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), enzima relacionada con la regulación de la presión arterial. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad inhibitoria de la ECA de hidrolizados proteínicos obtenidos a partir de las proteínas de *P. vulgaris* L. El concentrado proteínico de *P. vulgaris* L. se hidrolizó secuencialmente con pepsina-pancreatina (PP) por 30, 60, 90 y 120 min en medios de reacción independientes, se determinó el GH midiendo el nitrógeno soluble en ácido tricloroacético y finalmente se evaluó la actividad inhibitoria de la ECA (IC_{50}). Los GH obtenidos con el sistema PP a 30, 60, 90 y 120 min fueron de 19.30, 24.29, 24.61 y 21.74 %. La concentración de hidrolizado en mg de proteína/mL requerida para producir el 50% de inhibición de la ECA (IC_{50}) a 30 y 90 min fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) a los obtenidos a 60 y 120 min (0.57 y 1.84 mg proteína/mL, respectivamente).

ABSTRACT

Enzymatic hydrolysis of proteins has been used to obtain bioactive peptides (PB) which are characterized by biological activities beneficial to health. Antihypertensive peptides are the most studied because it can inhibit the action of angiotensin converting enzyme (ACE), involved in the regulation of blood pressure. The aim of this study was to evaluate the inhibitory activity of ACE protein hydrolysates obtained from proteins of *P. vulgaris* L. The protein isolate of *P. vulgaris* L. was hydrolyzed sequentially with pepsin-pancreatin (PP) 30, 60, 90 and 120 min, the GH was determined by measuring trichloroacetic acid-soluble nitrogen and finally the ACE inhibitory activity (IC_{50}) was evaluated. The PP obtained with GH system 30, 60, 90 and 120 min were 19.30, 24.29, 24.61 and 21.74 %. Hydrolyzate concentration in mg protein/mL required to produce 50 % of ACE inhibition (IC_{50}) at 30 and 90 min were statistically different ($p < 0.05$) than those obtained at 60 and 120 min (0.57 to 1.84 mg protein/mL, respectively).

Palabras claves: Antihipertensivo, Hidrolizados proteínicos, *Phaseolus vulgaris* L.

Área: Cereales, Leguminosas y Oleaginosas

INTRODUCCIÓN

La hidrólisis de proteínas (HP) mediante tratamientos enzimáticos ha sido empleada para reducir la alergenicidad a ciertas proteínas, formular productos farmacéuticos y sustancias para aplicaciones clínicas y en la producción de péptidos bioactivos (PB) (Doucet et al., 2003). Los PB son pequeñas secuencias de aminoácidos que

presentan actividades biológicas benéficas a nuestro organismo después de que son liberadas de la proteína nativa durante la digestión gastrointestinal o por un proceso previo como la hidrólisis enzimática (Megías et al., 2004). Dentro de sus actividades biológicas, los péptidos pueden actuar como antihipertensivos, antioxidantes, antitrombóticos, entre otros (Korhonen and Pihlanto, 2006). Los péptidos antihipertensivos son de los más estudiados ya que han demostrado que pueden inhibir la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la cual está relacionada con la regulación de la presión arterial debido a que cataliza la conversión de la angiotensina-I en un poderoso vasoconstrictor: el octapéptido angiotensina-II. Asimismo, produce la inactivación del vasodilatador, el nonapéptido bradikinina, el cual favorece la reducción de la presión arterial. Inhibir a la ECA es importante para reducir el riesgo de padecer presión arterial. Para ello, se emplean inhibidores sintéticos como el captopril, enalapril, lisinopril y ramipril, sin embargo, el consumo prolongado puede causar efectos secundarios a corto y largo plazo. Por lo tanto, se ha propiciado la búsqueda de inhibidores naturales de la ECA como alternativas más seguras (Guang et al., 2012). De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad inhibitoria de la ECA de hidrolizados proteínicos obtenidos a partir de las proteínas de *P. vulgaris* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima. Las semillas de frijol bayo (*P. vulgaris* L.) fueron donadas por el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) de Santa Lucía, Texcoco, Estado de México, México. **Obtención del concentrado proteínico.** El concentrado proteínico de *P. vulgaris* L. se obtuvo de acuerdo al método de Betancur et al., (2004).

Composición proximal. La composición proximal de la harina y del concentrado proteínico (CP) de *P. vulgaris* L. se determinó de acuerdo a los procedimientos oficiales descritos por la A.O.A.C (1997).

Hidrólisis enzimática. La hidrólisis se realizó de manera secuencial con las enzimas pepsina y pancreatina por 30, 60, 90 y 120 min en medios de reacción independientes (Megías et al., 2004).

Determinación del grado de hidrólisis. El grado de hidrólisis (GH) se calculó empleando el método de Kim et al., (1990).

Determinación de la actividad antihipertensiva. La actividad inhibitoria de la ECA se determinó por el método reportado por Hayakari et al., (1978) en el cual la ECA hidroliza la Hipuril-L-Histidil-L-Leucina hasta producir ácido hipúrico y His-Leu.

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos se evaluaron por medio de un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y comparación de medias por el método DSM para establecer diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$). Todos los análisis se realizaron con ayuda del paquete computacional Statgraphics Plus Versión 5.1.

RESULTADOS**Composición proximal.**

El contenido total de proteína en la harina de frijol bayo fue de 23.05%, mientras que en el concentrado proteínico fue de 63.13 % (Tabla 1). Con respecto al contenido de fibra cruda, grasa cruda y extracto libre de nitrógeno, se observó una reducción significativa en el CP.

Tabla 1. Composición proximal de harina y concentrado proteínico de *P. vulgaris* L.

	Harina cruda	Concentrado Proteínico
Humedad	(7.12 ± 0.09) ^a	(5.58 ± 0.04) ^b
Proteína	23.05 ± 0.60 ^a	63.13 ± 0.32 ^b
Fibra cruda	1.69 ± 0.04 ^a	1.54 ± 0.02 ^b
Grasa cruda	2.35 ± 0.07 ^a	1.36 ± 0.03 ^b
Cenizas	4.17 ± 0.01 ^a	4.02 ± 0.16 ^a
ELN	68.52 ± 0.47 ^a	29.90 ± 0.21 ^b

* Expresado en porcentaje, ± desviación estándar, ^{a,b} letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (p<0.05).

Hidrólisis enzimática. La hidrólisis secuencial con pepsina y pancreatina presentó GH entre 19.12 y 24.37 % (Tabla 2). Se observó un rápido desarrollo de la reacción en los primeros 30 min, a 60 y 90 min no se presentaron diferencias significativas (p>0.05) mientras que a los 120 min, este fue menor (21.66 %) y estadísticamente diferente a los demás.

Determinación de la actividad antihipertensiva. La determinación de la actividad inhibitoria de la ECA, mostro que la concentración de hidrolizado (mg de proteína/mL) requerida para producir el 50% de inhibición (IC₅₀) a 30 y 90 min fueron estadísticamente diferentes (p<0.05) a los obtenidos a 60 y 120 min (0.57 y 1.84 mg proteína/mL, respectivamente) (Tabla 3).

Tabla 2. Grado de hidrolisis (GH) de los hidrolizados proteínicos de *P. vulgaris* L.

Tiempo (min)	GH (%)
30	19.30 ± 0.73 ^a
60	24.29 ± 0.70 ^b
90	24.61 ± 1.29 ^b
120	21.74 ± 0.18 ^c

* Expresado en porcentaje, ± desviación estándar, ^{a,c} letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (p<0.05).

Tabla 3. IC₅₀ de los hidrolizados proteínicos de *P. vulgaris* L.

Tiempo (min)	IC ₅₀ (mg de proteína/mL)
--------------	--------------------------------------

30	1.3256 + 0.03b
60	0.5717 + 0.04a
90	1.2812 + 0.07b
120	1.8440 + 0.08c

± Desviación estándar, ^{a-c} letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (p<0.05).

DISCUSIONES

El contenido de proteína en el CP de *P. vulgaris* L. fue similar a lo reportado por Torruco-Uco et al., (2009) para un concentrado proteínico de frijol lima (63.8%). La diferencia posiblemente se deba a factores como las condiciones de cultivo, madurez del grano, variedad, etapa de cosecha, entre otros.

El comportamiento de la cinética de hidrólisis realizada en el presente estudio fue similar a lo reportado por Betancur et al., (2009) y Megías et al., (2004) mismos que hidrolizaron un aislado proteínico de *P. lunatus* y semillas de girasol, respectivamente. Sin embargo, los valores de GH fueron mayores a lo reportado por estos autores. De acuerdo con lo anterior, la diferencia entre GH podría deberse a la acción hidrolítica de las enzimas empleadas, la relación enzima/sustrato, el tiempo de hidrólisis, e igualmente, al perfil de proteínas presentes en las semillas de frijol bayo.

El hidrolizado proteínico realizado a 60 min presentó la mayor bioactividad debido a que requirió una menor concentración de hidrolizado para reducir en un 50% la actividad de la ECA. De acuerdo a lo anterior, los valores de IC₅₀ obtenidos en el presente estudio sugieren que independientemente del GH, la capacidad de inhibir la actividad de la ECA dependerá de la composición aminoácida de los péptidos generados por la acción proteolítica de las enzimas empleadas.

CONCLUSIONES

Las semillas de *P. vulgaris* L. son una alternativa para la obtención de un CP al encontrarse un 63.1 % de proteína. La hidrólisis enzimática a 60 min permitió generar péptidos con capacidad de inhibir la actividad de la ECA. Este hidrolizado puede ser una alternativa como ingrediente para desarrollar alimentos funcionales.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. 1997. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington, DC. Association of Official Analytical Chemists, 2-32.
2. Betancur AD, Gallegos TS, and Chel GL. 2004. Wet fractionation of Phaseolus lunatus seeds: partial characterization of starch and protein, Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1193-1201.
3. Betancur-Ancona D, Martínez-Rosado R, Corona-Cruz A, Castellanos-Ruelas A, Jaramillo-Flores ME and Chel-Guerrero L. 2009. Functional properties of hydrolysates from Phaseolus lunatus seeds. International, Journal of Food Science and Technology, 44, 128-137.
4. Doucet D, Otter DE, Gauthier SF and Foegeding EA. 2003. Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by Alcalase: Peptide identification and determination of enzyme specificity, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 6300-6308.
5. Guang C, Phillips RD, Jiang B and Milani, F. 2012. Three key proteases angiotensin-I converting enzyme (ACE), ACE2 and rennin-within and beyond the renin-angiotensin system. Archives of Cardiovascular Disease, 105, 373-385.
6. Hayakari M, Kondo Y and Izumi H. 1978. A rapid and simple spectrophotometric assay for Angiotensin-converting enzyme, Analytical Biochemistry, 84, 361-369.
7. Kim, Y. S., Park, W. S. P., & Rhee, C. K. 1990. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38, 3, 651-656.
8. Korhonen H and Pihlanto A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality, International Dairy Journal, 16, 945-960.
9. Megías C, Yust MM, Pedroche J, Lquari H, Girón J, Alainz M, Millan F and Vioque J. 2004. Purification of an ACE inhibitory peptide alters hydrolysis of sunflower (Helianthus annuus L.) protein isolates. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 1928-1932.
10. Torruco-Uco J, Chel-Guerrero L, Martínez-Ayala A, Dávila-Ortíz G and Betancur-Ancona D. 2009. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from Phaseolus lunatus and Phaseolus vulgaris seeds, Food science Technology, 42, 1597-1604.