

Microencapsulado de péptidos bioactivos con potencial antidiabético derivados de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *Sororia*

E.G. Sánchez-Pérez¹, S. Gutiérrez-Vargas³, M.F. León-Galván^{1,2}.

1 Departamento de Alimentos, 2 Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. 3 Departamento de energías, Universidad Politécnica de Guanajuato, fabiola@ugto.mx

RESUMEN: Las calabazas se han utilizado desde tiempos remotos en remedios tradicionales debido a las propiedades medicinales de sus constituyentes, entre estas propiedades destacan las antidiabéticas, las cuales han sido reportadas en la pulpa y las semillas. El utilizar fuentes naturales en el tratamiento de la diabetes y la obesidad ha tomado una gran importancia como parte de las estrategias públicas de salud para reducir la morbilidad y la mortalidad de la población. Entre las estrategias de prevención se encuentra el uso de inhibidores farmacológicos de enzimas que participan en la homeostasis de la glucosa y en la diferenciación adipocítica, como son la Dipeptidil Peptidasa IV (DPP-IV) y la Ácido Graso Sintasa (FAS). En los últimos años se han encontrado péptidos con actividad inhibitoria de la DPP-IV y de la FAS en hidrolizados de proteínas de diferentes alimentos, lo que ha permitido el desarrollo de aplicaciones específicas como el desarrollo de ingredientes funcionales. En ese sentido, el objetivo principal es determinar las condiciones de microencapsulado de péptidos bioactivos con potencial antidiabético obtenidos de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *sororia* microencapsulados.

Palabras clave: Diabétes, biopeptidos, secado por aspersión.

ABSTRACT: Pumpkins have been used since ancient times in traditional remedies to the medicinal properties of their constituents, the antidiabetic properties, those that have been reported in the pulp and seeds. The use of natural sources in the treatment of diabetes and obesity has taken on great importance as part of health strategies to reduce the morbidity and mortality of the population. Among the prevention strategies is the use of pharmacological inhibitors that participate in glucose homeostasis and in adipocyte differentiation, such as Dipeptidyl Peptidase IV (DPP-IV) and Fatty Acid Synthase (FAS). In recent years peptides have been found with inhibitory activity of DPP-IV and FAS in protein hydrolysates of different foods, which has allowed the development of specific applications such as the development of functional ingredients. In this sense, the main objective is to determine the microencapsulation conditions of the bioactive peptides with the antidiabetic potential of *Cucurbita argyrosperma* subsp. *Microencapsulated sororia*.

Keywords: Diabétes, biopeptide, spray dried.

Área: Alimento funcional

INTRODUCCIÓN

Las calabazas pertenecen al género *Cucurbita*, se destaca a *Cucurbita argyrosperma* como una de las especies cultivadas del género más profundamente estudiada, por su composición química destaca su alto contenido de proteína (30%) y de grasa (34%) principalmente rica en ácidos grasos como oleico (25%) y linolenico (43%) los cuales son considerados como nutrimentos indispensables para la dieta del humano, reportes previos de nuestro grupo de trabajo han mostrado que la proteína de semilla de chicayota es rica en aminoácidos esenciales, sobresaliendo leucina y cisteína, aunque limitate en isoleucina, tirosina y metionina. En estudios más reciente de nuestro grupo de trabajo, se encontró que dentro de sus actividades presenta una alta frecuencia de ocurrencia para péptidos inhibidores de la Dipeptidil Peptidasa IV (DPP-IV) y de la FAS (Herrera, 2015).

Las proteínas de reserva de las semillas fueron caracterizadas por Osborne (1924) y las clasificó en grupos basándose en su extracción y solubilidad en una serie de disolventes: solubles en agua

(albúminas), solubles en sal (globulinas), solubles en alcohol (prolaminas) y solubles en ácidos/álcalis (glutelinas).

En los últimos años se han comenzado a estudiar las proteínas de reserva de diversos cereales y leguminosas, sobre todo por ser fuentes potenciales de aportar proteínas con actividad biológica latente en forma de péptidos bioactivos. Los péptidos bioactivos son pequeñas secuencias de aminoácidos con actividad biológica que se encuentran de manera inactiva (encriptada) dentro de la proteína. Sin embargo, deben de ser liberados de las proteínas en las que se encuentran tras sufrir la acción de las proteasas gástricas e intestinales y han de poder atravesar el epitelio intestinal y llegar a los tejidos periféricos a través de la circulación sanguínea para poder ejercer un papel importante en la regulación y la modulación metabólica.

En cuanto a sus propiedades funcionales, los hidrolizados proteínicos son una gran promesa como ingredientes en la dieta que ayuden a combatir las enfermedades crónicas no transmisibles (ECN). Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son uno de los mayores retos que enfrenta el sistema de salud. Los cuatro tipos principales de enfermedades no transmisibles son las enfermedades cardiovasculares (como ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares), el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas (como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el asma) y la diabetes. Estas enfermedades son prevenibles y su evolución natural puede modificarse con acciones que cambien el curso clínico de las condiciones que determinan su incidencia (Blouin, 2011). Sin embargo, a pesar de que estos péptidos pueden coadyuvar el tratamiento de estas enfermedades, se presenta la limitante de que deben llegar viables a punto de acción, esto es un tanto complicado dado que en primer lugar deben mantenerse protegidos de la acción de las proteasas, y de factores como la temperatura, en ese sentido se hace necesario buscar un método para protegerlos, y que esa barrera protectora los libere en forma activa cuando lleguen a lumen intestinal. Por la anterior la mejor propuesta es la microencapsulación. La encapsulación se define como una tecnología de empaque en miniatura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos contenidos en cápsulas que pueden liberar su contenido de forma controlada bajo condiciones específicas. El producto de la encapsulación es conocido como capsula, la cual consiste en una membrana delgada y fuerte de material permeable o impermeable, de forma esférica que contiene un núcleo sólido ó líquido (Pimentel et al., 2009). La encapsulación hoy en día se aplica para preservar y/o proteger numerosos ingredientes comerciales (Pedroza, 2002).

Entre los materiales a encapsular podemos mencionar saborizantes, antioxidantes, colorantes, ácidos, reguladores, agentes antimicrobianos, nutraceuticos y terapéuticos, vitaminas, minerales, edulcorantes, enzimas y levaduras, sólo por mencionar algunos. Entre la gran gama de polímeros naturales existentes y utilizados, los polisacáridos son los más utilizados por su bajo costo, afinidad al principio activo y facilidad de procesamiento. Se destacan por sus características, usos y su potencial: el alginato, el quitosano y la maltodextrina. (Sandoval-Peraza *et al.*, 2016; Mohan *et al.*, 2015). Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar las condiciones de microencapsulado de péptidos bioactivos con potencial antidiabético obtenidos de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *sororia* microencapsulados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *sororia* son cosechadas por nuestro grupo de trabajo, el material inicial fue proporcionado por la Dra. Mayela Bautista, posteriormente se crecieron y la clasificación taxonómica fue realizada por el Dr. Rafael Lira Saade, del Laboratorio de Recursos Naturales, UBIPRO, de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

Obtención de proteína de reserva y péptidos bioactivos de semilla de chicayota

La chicayota se molió y se pasó por malla no. 100. Posteriormente fue desengrasada utilizando el método de inmersión reportado por Martínez (2010) durante 3 horas empleando un equipo soxlet, en una relación harina de chicayota/éter de petróleo 1:14 (p/v) en agitación magnética a 4°C. La mezcla se centrifugó a 13000 rpm por 20 min a 4°C. La extracción de proteínas se realizó de acuerdo con lo

reportado por Barba de la Rosa et al., (1992). El trabajo de acuerdo a resultados previos del grupo de trabajo se centró en las globulinas de chicayota, las cuales se sometieron a hidrólisis con tripsina proveniente de páncreas porcino (Sigma-Aldrich). El perfil de las globulinas y de los hidrolizados derivados de la digestión con tripsina se analizaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) de acuerdo con Laemmli en 1970 usando geles de acrilamida al 15%, teñidos con azul brillante de Coomassie R-250. La concentración de los hidrolizados se cuantificó por el método de Lowry usando el ensayo DC Protein Assay (Bio Rad) y BSA como estándar. El grado de hidrólisis es el parámetro clave para el seguimiento y control de las reacciones de hidrólisis de proteínas.

Microencapsulación de péptidos bioactivos de péptidos bioactivos con potencial antidiabético obtenidos de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *sororia*.

Para la microencapsulación se probó el método de secado por aspersión, de acuerdo a las condiciones reportadas de Yang *et al.*, (2012); y Rocha *et al.*, (2009) se propusieron tres agentes: alginato de calcio, quitosano y maltodextrina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de la proteína de reserva de la semilla de Chicayota

La composición porcentual de proteína en las semillas de chicayota es de 30%. Cuando la semilla es desgrasada y tamizada (harina) el contenido proteínico se concentra al 47%. De acuerdo con los resultados, en la extracción las glutelinas se consideran la fracción

mayoritaria (63.11%), en segundo lugar, las globulinas 11S (34.84%) y en tercer las globulinas 7S (5.61%) junto con las albúminas (5.01%) ya que no presentan diferencia significativa en su contenido (Figura 1).

El tiempo durante el cual se realizó la digestión fue de 24 h ya que según la bibliografía (Stone y Williams, 2002; Soriano-Santos, 2015) es el tiempo en el cual la mayoría de las proteínas de la muestra alcanzan el máximo grado de hidrólisis (Figura 2).

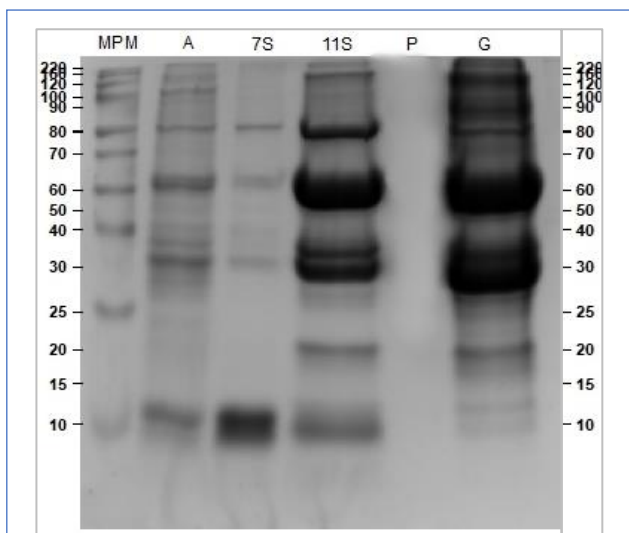


Figura 1. Perfil electroforético de las proteínas de reserva de la semilla de Chicayota (*Cucurbita argyrosperma subsp. sororia*). Carriles: MPM-Marcado de peso molecular, A-Albúminas, 7S-Globulinas 7S, 11S-Globulinas 11S, P-Prolaminas y G-Glutelinas.

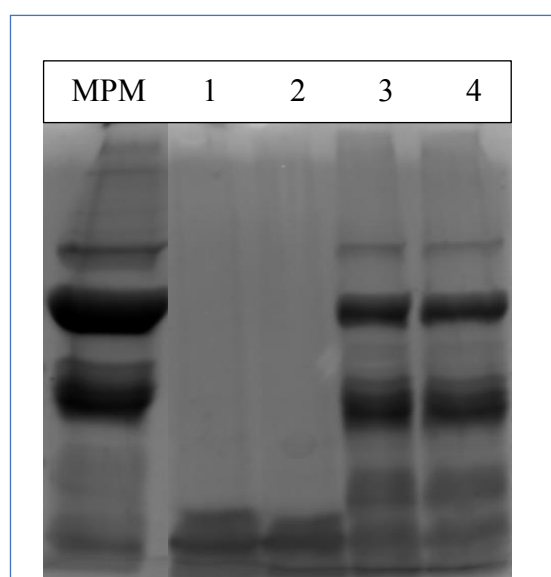


Figura 2 Perfil electroforético de hidrolizados de globulinas de chicayota. MPM, Carril 1 y 2 Globulinas 7S, Carriles 3 y 4. Globulinas 11S.

Estandarización de las condiciones de microencapsulado por Secado por aspersión

También por medio de la estandarización de las condiciones óptimas de secado por aspersión se microencapsuló la proteína en el cual se obtuvo resultados favorables, ya que resultó un microencapsulamiento en polvos el cual se espera que se adhiera al producto en sus diferentes formulaciones porque aún de ser sometida a dicho proceso, la proteína aún debe seguir activa, este es un factor favorable para poder elaborar el producto sólido y semisólido, en sus diferentes formulaciones para tener un amplio beneficio del mismo para la salud humana.

Se seleccionó el agente encapsulante más apropiado para el microencapsulamiento de los péptidos bioactivos derivados de la *Cucurbita argyrosperma subsp. Sororia*, tomando en cuenta sus propiedades fisicoquímicas. El cual el más adecuado fue el Alginato de calcio.

Ya que el alginato de calcio ha sido usado debido a sus múltiples ventajas tanto para el consumo humano como versatilidad en aplicaciones industriales, resaltando el efecto prebiótico de los alginatos de bajo peso molecular, los beneficios de su ingesta como fibra diaria para la reducción de los niveles de azúcar y colesterol en sangre, así como, la capacidad para prolongar la vida útil en productos.

Estas ventajas tecnológicas se han fusionado en la técnica de microencapsulación, resultando en un producto final que permite proteger a los compuestos encapsulados de factores adversos como el calor y la humedad, esperando que así mejore su estabilidad y biodisponibilidad (Alamilla, 2005).

También porque es más fácil para realizar el proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo o heterogéneo integrado a las cápsulas con variadas aplicaciones ya que se refiere al empaquetado de materiales sólidos, líquidos o gaseosos mediante cápsulas que liberan su contenido de forma controlada bajo condiciones determinadas que en este caso fue la proteína.

El proceso de secado por aspersión es la pulverización fina del material líquido original. La pulverización produce una niebla que entra en contacto con el aire caliente (Figura 3). De manera general, los pasos para el secado por aspersión son los siguientes:

- Se tiene un producto inicial en estado líquido.
- El producto inicial entra en contacto con el aire caliente.
- Se seca hasta el grado que se necesita.
- Se recupera el producto final.

Todo este proceso se lleva a cabo en una cámara de secado que tiene forma cilíndrica y cuenta con un cono en su parte inferior. La idea es que se pueda retirar el polvo obtenido en este proceso por efecto de la gravedad, a través del cono de la cámara de secado.

El aire caliente se enfría y es expulsado por un tubo de salida que se encuentra justo en medio de la cámara de secado. En algunos casos, el aire caliente recibe un tratamiento después de ser utilizado para que vuelva a estar en condiciones de ser expulsado al ambiente. En otros casos se recircula por el sistema de secado hasta que pierde sus propiedades (Alamilla, 2005). Los polvos se depositan en la parte inferior del cono, en donde son recuperados.

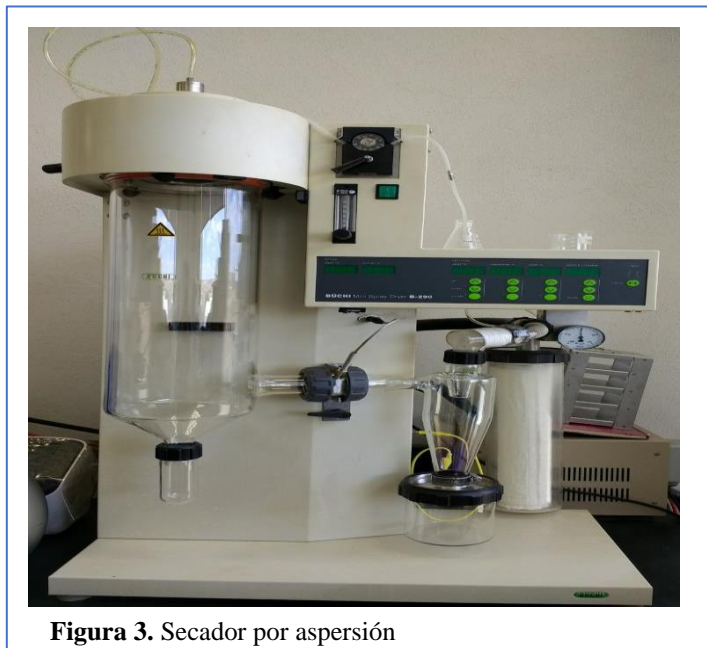


Figura 3. Secador por aspersión

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato, a través de la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado, por el apoyo otorgado al proyecto ““Estudio de liberación y estabilidad de la actividad biológica funcional de péptidos bioactivos con potencial antidiabético obtenidos de *Cucurbita argyrosperma* subsp. *sororia* microencapsulados”” financiado en la convocatoria institucional 2019.

BIBLIOGRAFÍA

- Alamilla. 2005. Description of morphological change of particles along spray drying. *Journal of Food Engineering*, 67:179-184.
- Araya, H. &. 2003. Alimentos funcionales y saludables. *Revista chilena de nutrición* , 8-14.
- Benítez, R. A. 2008. Protein hydrolysates: processes and applications. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, (págs. 227-236).
- Blouin, C., 2011. Reunión de alto nivel de la ONU sobre enfermedades no transmisibles (ENT). *Global Health Diplomacy Network*. Vol 2: issue 2.
- Herrera, C. 2015. Estudio proteómico de la semilla de chicayota (*Curcubita Argirosperma Sororia*) y sus péptidos encriptados. *Tesis de maestría biociencias 2015*. 27. 19.
- Martínez-Villalengua C., Rupasinghe S.G., Schuler M.A., González de Mejía E., 2010. Peptides form purified soybean β -conglycinin inhibit fatty acid synthase by interaction with the thioesterase catalytic domain. *FEBS J*. 277:1481-1493. 25. 22.
- Osborne, T.B., 1924. The vegetable proteins. *Monographs in Biochemistry*, 2nd Ed., Longmans, Green and Co., New York.
- Pedroza, R. 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, México.

- Pimentel, D., Campos, R., Lobato, C. y Pedroza, R. 2009. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 42, 292-297.
- Rocha, G. A., Trindade, M. A., Netto, F. M. and Favaro-Trindade, C. S. 2009. Microcapsules of casein hydrolysate: production, characterization, and application in protein bar. *Food Science Technology International*; 15(4):407–413.
- Singh, B. V. 2014. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, (págs.171-179).
- Varela, G. 2010. Alimentos funcionales. *Alimentos funcionales. En: Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil*, 203. 30.
- Yang, S., Mao, X. Y., Li, F. F., Zhang, D., Leng, X. J., Ren, F. Z. and Teng, G. X. 2014. The improving effect of spray-drying encapsulation process on the bitter taste and stability of whey protein hydrolysate. *Europe Food Research. Technology*. 235:91–97.