



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS HIDROLIZADOS PROTEICOS DEL FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris*) cv NEGRO PRIMAVERA-28 Y FLOR DE DURAZNO

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PROTEIN HYDROLYSATES FROM COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) VARIETIES "NEGRO PRIMAVERA-28" AND "FLOR DE DURAZNO"

Yazmin Lizeth Mendoza-Jiménez¹, José Carlos Eusebio-Moreno¹, Rocío Álvarez-García¹, Arturo Abreu-Corona², Genaro Vargas-Hernández¹, Alejandro Téllez-Jurado¹, Xochitl Tovar-Jiménez^{1*}

¹ Universidad Politécnica de Pachuca. Carr. Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Rancho Luna, Ex-Hacienda de Santa Bárbara. Municipio de Zempoala, Hidalgo, Mexico. CP. 42830.

² Universidad Autónoma Metropolitana. Av. Vasco de Quiroga 4871, Col. Santa Fé, Cuajimalpa, México, D.F. CP.05348.

RESUMEN

La bioactividad de los péptidos depende de la fuente y/o mezcla de proteínas empleadas. *Phaseolus vulgaris* L., es una opción para esto, ya que es una fuente importante de proteínas, pero su potencial no se ha estudiado a detalle. El objetivo del trabajo fue determinar las mejores condiciones de hidrólisis enzimática del concentrado proteico de dos variedades de frijol común (Negro Primavera-28 [CPPv-28] y Flor de durazno [CPPv-Fd]) para obtener péptidos bioactivos. En primera instancia, se establecieron las condiciones de hidrólisis del CPPv-28 y CPPv-Fd, los factores evaluados fueron: pH y actividad proteolítica del extracto de *Pleurotus ostreatus* (EEPo); y las variables de respuesta fueron: contenido de péptidos liberados y actividad antioxidante. A partir de esto y por medio de la metodología de superficie de respuestas, se llevó a cabo el proceso de optimización. Se encontró que el EEPo liberó péptidos con actividad antioxidante, asimismo, las mejores condiciones de hidrólisis se obtuvieron al realizar el proceso con 43 UA del EEPo, empleando 125 mg/mL del CPPv-28 a pH 8 por 147 min o con 148 mg/mL del CPPv-Fd a pH 7 por 72 min, ya que se obtuvieron péptidos con 64 y 73 % de Inhibición del ABTS⁺, respectivamente.

Palabras clave: Actividad antioxidantes, extracto enzimático de *Pleurotus ostreatus*, péptidos.

ABSTRACT

The peptides bioactivity depends on the source and/or the mixture of proteins used. *Phaseolus vulgaris* L. are well suited for this purpose because they are an important protein source. However, no detailed studies are available on their potential. The aim of the study was to determine the optimal conditions for enzymatic hydrolysis of the protein concentrate of two common bean varieties (Negro Primavera-28 [CPPv-28] and Flor de durazno [CPPv-Fd]) to obtain bioactive peptides. First, the hydrolysis conditions of CPPv-28 and CPPv-Fd were established, the factors evaluated were pH and proteolytic activity of *Pleurotus ostreatus* enzymatic extract (EEPo); and response variables were released peptides

content and antioxidant activity. The optimization process was through the response surface methodology. We found that the EEPo released peptides with antioxidant activity. Also, the best conditions of the hydrolysis process were: 43 AU of the EEPo, 125 mg/mL of the CPPv-28 to pH 8 for 147 min or with 148 mg/mL of the CPPv-Fd to pH 7 for 72 min, since the peptides presented 64 y 73 % Inhibition of ABTS⁺, respectively.

Key words: Antioxidant activity, *Pleurotus ostreatus* enzymatic extract, peptides.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años gran parte del interés científico se ha enfocado en encontrar ingredientes funcionales de origen proteico que contribuyan en el tratamiento y prevención de enfermedades degenerativas, en este sentido, un ejemplo de ello son los péptidos con actividad biológica (bioactivos o funcionales) los cuales se definen como secuencias de aminoácidos que ejercen determinadas actividades biológicas (antihipertensiva, antioxidante, antimicrobiana, hipocolesterolemiante, inmunomoduladora, entre otras) tras su liberación mediante hidrólisis química o enzimática (Hartmann y Meisel, 2007; González-Córdova *et al.*, 2011).

Una alternativa alimentaria para este fin es el empleo de las proteínas del frijol común, la importancia de este radica en el hecho que es una excelente fuente de proteínas y aminoácidos esenciales como fenilalanina, tirosina y triptófano, aminoácidos necesarios para que los péptidos presenten actividad antioxidante (Tovar-Jiménez *et al.*, 2012), los cuales pueden ser liberados por la acción proteolítica de *Pleurotus ostreatus*, hasta el momento se sabe que este hongo produce enzimas del tipo serin proteasa (Palmieri *et al.*, 2001), que actúa principalmente en el carboxilo terminal donde se encuentran los aminoácidos triptófano, tirosina, fenilalanina y metionina. Aunado a esto, se considera que el frijol contiene más del doble de proteínas y casi igual cantidad de carbohidratos que los cereales y es considerado como el alimento básico de la dieta del mexicano. En este sentido, las proteínas de frijol y los péptidos liberados a

*Autor para correspondencia: Xochitl Tovar-Jiménez
Correo electrónico: xtovar@upp.edu.mx

Recibido: 06 de noviembre de 2017

Aceptado: 22 de enero de 2018

partir de éstas, juegan un papel muy importante en sus propiedades fisiológicas, sin embargo, su potencial bioactivo no se ha estudiado a detalle. De aquí surge la idea de obtener hidrolizados proteicos a partir de estas proteínas, los cuales se liberan mediante métodos físicos, químicos o enzimáticos. Estos últimos se utilizan para la obtención de hidrolizados con finalidad funcional ya que el tratamiento térmico, bajo condiciones ácidas o básicas producen la pérdida de L-aminoácidos, y se forman D-aminoácidos, así como, compuestos tóxicos como el isopéptido lisinoalanina. En cambio, la hidrólisis enzimática en condiciones moderadas de pH y temperatura (pH 5-9; temperatura de 40-60 °C), no alteran la calidad nutricional de los aminoácidos, aunado a esto, este proceso es más rápido y la especificidad de las enzimas aseguran e incrementan la eficacia del proceso (Benítez *et al.*, 2008; Erdmann *et al.*, 2008; Valdez-Ortiz *et al.*, 2012; Durak *et al.*, 2013).

Por otra parte, la hidrólisis enzimática proteica es un proceso que consiste en la ruptura del enlace peptídico por acción de enzimas proteolíticas, consumiendo una molécula de agua y liberando un grupo amino y un grupo carboxilo, este proceso transcurre a través de un conjunto de etapas en serie (Proteínas → Proteosomas → Peptonas → Péptidos → Aminoácidos). Asimismo, el grado de hidrólisis de las proteínas y el tipo de péptidos producidos se ve influenciado por las condiciones usadas, es decir, concentración y tipo de sustrato, relación enzima/sustrato, tiempo de incubación, condiciones fisicoquímicas (pH, temperatura) y la naturaleza de la actividad enzimática (Benítez *et al.*, 2008). Por lo antes mencionado, el objetivo del trabajo fue determinar las mejores condiciones de hidrólisis enzimática del concentrado proteico de dos variedades de frijol común (Negro Primavera-28 y Flor de durazno) para obtener péptidos antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Concentración de las proteínas de frijol común

Se utilizó una modificación del método reportado por Betancur *et al.*, (2004). Se empleó una dispersión de harina de frijol de la variedad Negro Primavera-28 o Flor de durazno en agua desionizada en una relación (1:10 p/v), se ajustó el pH a 10 con una solución de NaOH 1 N y se dejó en agitación por 5 min en un vortex (Thermolyne Maxi Mix Plus, Mod. 63215). Concluido el tiempo de agitación se dejó reposar la dispersión por 30 min y finalmente se retiró el sobrenadante al cual se le cuantificó el contenido de proteínas por medio del método propuesto por Peterson (1977).

Obtención del extracto enzimático de *Pleurotus ostreatus* (EEPo)

En un medio de cultivo líquido con YNB (0.17 %); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.5 %) y $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (1 %), se incubó a 28 °C por 72 h en agitación (180 rpm). Al cabo de este tiempo el cultivo se centrifugó a 2325 × g por 15 min a temperatura ambiente, el sobrenadante obtenido se consideró como EEPo.

Hidrólisis enzimática de los concentrados proteicos de frijol común

Se colocaron 200 µL de la solución proteica de frijol común cv Negro Primavera-28 (CPPv-28) o Flor de durazno (CPPv-Fd) ajustada a diferentes valores de pH (5-11) con la finalidad de determinar a que pH se libera mayor contenido de péptidos antioxidantes, para lo cual se añadieron 100 µL del EEPo (28 UA). De igual forma, para determinar el efecto de la concentración del EEPo en la liberación de péptidos bioactivos, a 200 µL de la solución de CPPv-28 o CPPv-Fd a pH 8 y 7, respectivamente. Se adicionaron 100 µL del EEPo a 37, 39, 41 o 43 UA. Finalmente, para determinar el tiempo de hidrólisis en el cual se libera mayor contenido de péptidos bioactivos, se hidrolizaron 200 µL de la solución de CPPv-28 o CPPv-Fd a pH 8 y 7 con 43 UA a diferentes tiempos de hidrólisis (30 a 150 min). En todos los casos se incubó a 28 °C por 20 min, la reacción se detuvo adicionando 500 µL de ácido tricloroacético al 10 % (TCA) para finalmente centrifugar por 10 min a 14950 × g.

Cuantificación de péptidos liberados

La cuantificación de los péptidos liberados se llevó a cabo mediante la metodología propuesta por Saheki y Holzer (1975), la cual consistió en tomar 50 µL del sobrenadante en un tubo eppendorf para añadir 150 µL de agua desionizada, 200 µL del reactivo A (NaOH 1 M [6 mL]; $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [0.5 mL]; Na_2CO_3 24 % [5 mL]; CuSO_4 1 % [0.5 mL]) e incubar durante 10 min a 25 °C; transcurrido el tiempo se adicionó 1 mL del reactivo B (1 mL de Folin Ciocalteu + 19 mL de agua desionizada) para posteriormente incubar a 37 °C durante 30 min en oscuridad. Finalmente se leyó las absorbancias a 660 nm. El cálculo de los péptidos liberados se realizó a partir de una curva patrón de BSA.

Determinación de la actividad antioxidante

Se preparó una solución de ABTS (Marca AMRESCO grado ultra puro) 7 µmolar en persulfato de amonio (Marca Sigma Aldrich) 4.9 µmolar mezclando ambos reactivos en una proporción de 1:1. El radical ABTS^+ se formó después de un tiempo de reposo de 16 h. La solución de ABTS se diluyó hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 a 754 nm, lo cual se logró mezclando aproximadamente 20 µL de la solución de ABTS^+ y 980 µL de etanol absoluto (v/v). A 980 µL de esta dilución se le agregaron 20 µL de la muestra (péptidos liberados), y se midió el cambio de absorbancia a los 7 min de reacción, se calculó el porcentaje de inhibición del radical ABTS^+ . Los datos son reportados % Inhibición ABTS^+ (Miller y Rice-Evans, 1996).

Optimización de la hidrólisis enzimática de los concentrados proteicos

Mediante la metodología de superficie de respuesta se obtuvieron las condiciones óptimas de la concentración proteica del CPPv-28 y CPPv-Fd y tiempo de hidrólisis (Tabla 1), con cinco niveles para obtener la mayor cantidad de péptidos antioxidantes. Los niveles de las variables independien-

Tabla 1. Diseño central compuesto rotatable.
Table 1. Rotatable central composite designs.

Tratamiento	Variables Independientes					
	Codificadas		Decodificadas (CPPv-28)		Decodificadas (CPPv-Fd)	
	X ₁	X ₂	X ₁ : Sustrato (mg/mL)	X ₂ : Tiempo de hidrólisis (min)	X ₁ : Sustrato (mg/mL)	X ₂ : Tiempo de hidrólisis (min)
1	-1	-1	153.63	78	91.20	5
2	1	-1	122.90	90	72.96	30
3	-1	1	184.35	90	109.44	30
4	1	1	110.61	120	65.66	90
5	-1.414	0	153.63	120	91.20	90
6	1.414	0	196.64	120	116.74	90
7	0	-1.414	122.90	150	72.96	150
8	0	1.414	184.35	150	109.44	150
9	0	0	153.63	162	91.20	175
10	0	0	153.63	162	91.20	175
11	0	0	153.63	162	91.20	175
12	0	0	153.63	162	91.20	175
13	0	0	153.63	162	91.20	175

tes se determinaron en el análisis preliminar (datos no reportados). El número de tratamientos se estableció de acuerdo a las especificaciones de un diseño central compuesto rotatable con $\alpha = 1.414$, se empleó un modelo de segundo orden el cual fue ajustado para cada respuesta.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se llevó a cabo con un análisis de varianza con la finalidad de determinar el efecto individual de cada factor sobre la variable de respuesta, empleando el programa estadístico Statistica 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El hongo *P. ostreatus* produce enzimas del tipo serin proteasa (Palmieri *et al.*, 2001), que pueden ayudar a liberar péptidos con actividad biológica debido a que actúan principalmente sobre el carboxilo terminal donde se encuentran los aminoácidos triptófano, tirosina, fenilalanina y metionina, aminoácidos necesarios para que los péptidos presenten actividad antioxidante. El extracto enzimático de este hongo puede ser aplicado en la hidrólisis de las proteínas de *P. vulgaris* cv Negro Primavera-28 (CPPv-28) y Flor de durazno (CPPv-Fd), estudio que no se había realizado hasta el momento. Por tal motivo, se llevó a cabo la hidrólisis del CPPv-28 y CPPv-Fd con EEPo a diferentes valores de pH (5-11), unidades de actividad del EEPo y tiempos de hidrólisis (0-180 min) a una temperatura de incubación de 28°C, para comprobar si este extracto era capaz de liberar péptidos

antioxidantes, de igual forma para definir a que tiempo se libera mayor contenido de péptidos bioactivos.

En la Tabla 2 se muestra el contenido de péptidos liberados a diferentes valores de pH y su actividad antioxidante, el análisis estadístico realizado indica que a valores de pH 5, 8 y 9 no existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$; $R^2_{ajustada}$: 0.9675), asimismo, a estos valores se libera el mayor contenido de péptidos provenientes del CPPv-28, mientras que a pH 5 el EEPo libera mayor contenido de péptidos del CPPv-Fd. Sin embargo, al determinar la actividad antioxidante de los péptidos obtenidos del CPPv-28 la máxima actividad se presenta en los péptidos liberados a pH 8. En el caso de los péptidos obtenidos del CPPv-Fd se presenta mayor actividad biológica a pH 7.

Con la finalidad de determinar a qué concentración el EEPo libera mayor contenido de péptidos con actividad antioxidante, se evaluaron cuatro unidades de actividad enzimática (UA), en la Tabla 3 se muestran los resultados, donde se observa que con 43 UA se libera mayor contenido de péptidos para ambas variedades de frijol. El análisis estadístico indicó que al hidrolizar las proteínas del CPPv-28 con 39 y 43 UA no existe diferencia significativa ($p < 0.05$; $R^2_{ajustada}$: 0.9962) permitiendo obtener la máxima actividad antioxidante, mientras que para el CPPv-Fd es necesario realizar la hidrólisis con 43 UA.

En la Figura 1 se muestra la actividad antioxidante de los péptidos liberados a diferentes tiempos de hidrólisis, donde se observa que a partir de los 90 min en el CPPv-28

Tabla 2. Efecto del pH en la hidrólisis enzimática del CPPv-28 y CPPv-Fd.
Table 2. Effect of pH on enzymatic CPPv-28 and CPPv-Fd hydrolysis.

pH	Péptidos liberados (mg/mL)		Actividad antioxidante (% Inhibición ABTS ^{•+})	
	CPPv-28	CPPv-Fd	CPPv-28	CPPv-Fd
5	129.2±0.9 ^d	145.0±4.7 ^e	33.6±1.9 ^b	39.6±1.4 ^a
6	122.9±7.2 ^c	109.6±9.2 ^d	52.4±2 ^d	56.9±2.5 ^d
7	109.2±8.5 ^b	104.9±4 ^c	54.9±5 ^e	61.0±1.1 ^e
8	129.7±0.3 ^d	103.0±0.4 ^c	56.0±2.6 ^f	53.7±0.1 ^c
9	129.4±0.3 ^d	99.5±3.2 ^b	42.9±4.5 ^c	50.6±0.9 ^b
10	123.3±5.7 ^c	101.7±5.6 ^b	51.1±1.6 ^d	51.2±1.6 ^b
11	86.3±4.3 ^a	70.6±3.5 ^a	22.6±1.2 ^a	53.2±1 ^c

Tabla 3. Efecto de la concentración del EEPo en la hidrólisis enzimática del CPPv-28 y CPPv-Fd.

Table 3. Effect of EEPo concentration on enzymatic hydrolysis of CPPv-28 and CPPv-Fd.

EEPo (UA)	Péptidos liberados (mg/mL)		Actividad antioxidante (% Inhibición ABTS ^{•+})	
	CPPv-28	CPPv-Fd	CPPv-28	CPPv-Fd
37	135.1±4.2 ^c	115.2±5 ^a	44.9±1.2 ^b	51.6±1.4 ^c
39	138.5±3.9 ^d	117.9±3 ^a	52.4±1 ^c	59.5±0.9 ^e
41	139.9±3.4 ^d	111.9±2.7 ^a	39±0.9 ^a	47.4±0.7 ^b
43	152.5±0.7 ^e	121.5±6.7 ^b	51.2±0.2 ^c	65.5±1.8 ^d

no existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$; R^2 ajustada: 0.9942), los péptidos liberados presentaron 45 % Inhibición ABTS^{•+}, en el caso del CPPv-Fd los péptidos liberados a los 30 y 60 min de hidrólisis presentaron la mayor actividad antioxidante (52 % Inhibición ABTS^{•+}), entre estos tiempos no hay diferencia significativa ($p < 0.05$; R^2 ajustada: 0.9986).

Con el propósito de obtener mayor contenido de péptidos bioactivos se decidió optimizar el proceso de hidrólisis, los principales criterios establecidos para determinar las mejores condiciones, fueron obtener los mayores valores de péptidos liberados y actividad antioxidante. Experimentalmente se encontró que los mayores valores de péptidos antioxidantes (> 90 mg/mL) correspondieron a los hidrolizados obtenidos en condiciones de procesamiento de altas concentraciones de proteínas (sustrato) y tiempos prolongados de hidrólisis: tratamiento 9 (Sustrato: 153.63 mg/mL, tiempo: 162 min, actividad antioxidante: 61 % Inhibición ABTS^{•+}) para la variedad Negro Primavera-28, mientras que para la variedad Flor de durazno los hidrolizados obtenidos en condiciones de procesamiento de altas concentraciones de proteínas (sustrato) y poco tiempo de hidrólisis: tratamiento 2 (Sustrato: 109.44 mg/mL, tiempo: 30 min, actividad antioxidante: 70 % Inhibición ABTS^{•+}).

La Figura 2 y 3 muestra el área que corresponde a las mejores condiciones obtenidas del proceso de hidrólisis enzimática de los concentrados proteicos de dos variedades

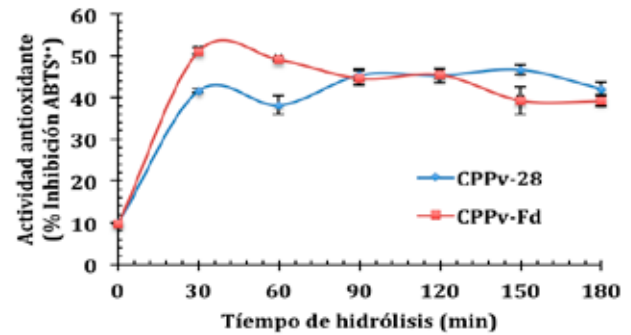


Figura 1. Cinética de actividad antioxidante de los péptidos liberados con el EEPo a 49 UA.

Figure 1. Antioxidant activity kinetics from released peptides with EEPo at 49 AU.

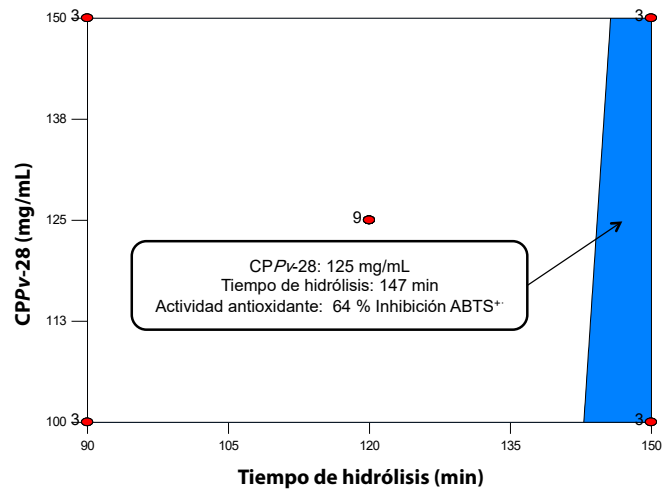


Figura 2. Efecto del tiempo de hidrólisis y concentración del CPPv-28.

Figure 2. Hydrolysis duration and CPPv-28 concentration effect.

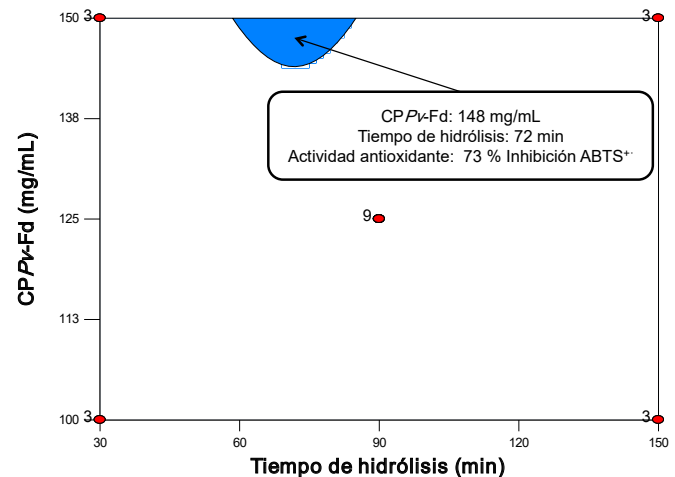


Figura 3. Efecto del tiempo de hidrólisis y concentración del CPPv-Fd.

Figure 3. Hydrolysis time and CPPv-Fd concentration effect.

de frijol común. La región predicha por el modelo de 2do orden, se encuentran en los intervalos de tiempo de hidrólisis: 140-150 min y sustrato 100-150 mg/mL para el CPPv-28 (Figura 2) y tiempo de hidrólisis 60-87 min y sustrato 140-150 mg/mL para el CPPv-Fd (Figura 3).

Se comprobó experimentalmente el modelo empleado al hidrolizar los concentrados proteicos bajo las condiciones predichas por el mismo. Para tal motivo, se seleccionó el punto central del área óptima para garantizar la reproducibilidad de los datos. Al comparar los valores experimentales contra los predichos por el modelo, el análisis estadístico indicó que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$; R^2 ajustada: 0.9896). Por lo anterior, el modelo probado demostró tener un buen ajuste para encontrar las mejores condiciones de hidrólisis enzimática de los concentrados proteicos estudiados empleando el EEPo.

Estudios han demostrado que después de la hidrólisis, ciertos péptidos resultantes pueden actuar como antioxidantes en sistemas modelo, pudiendo ser empleados como antioxidantes naturales en productos alimenticios (Boschin *et al.*, 2014; Carrasco-Castilla *et al.*, 2012).

En general, los péptidos antioxidantes son aquellos que tienen un peso molecular que oscila de 4 a 20 kDa, que tienen la habilidad de inhibir los daños causados por la oxidación lipídica. Esta habilidad parece estar relacionada con la presencia de ciertos residuos de aminoácidos, tales como tirosina, metionina, histidina, lisina y triptófano, los cuales pueden quelar iones metálicos pro-oxidantes (Virtanen *et al.*, 2007), capturar radicales libres y/o extinguir el oxígeno reactivo (Erdmann *et al.*, 2008). De igual forma, se ha reportado que la actividad antioxidante de los péptidos está relacionada con la presencia de cisteína, la cual promueve la síntesis de glutatiónato, un potente antioxidante intracelular (Erdmann *et al.*, 2008; Sarmadi y Ismail, 2010), además el grupo SH- de la cisteína tiene acción antioxidante independientemente crucial debido a su interacción directa con los radicales libres (Sarmadi y Ismail, 2010). Por lo tanto, las propiedades antioxidantes de los péptidos están más relacionadas con su composición, estructura e hidrofobicidad.

Se ha demostrado que los hidrolizados de frijol Negro Jamapa pueden tener actividad antioxidante "*in vitro*", Torruco-Uco *et al.*, (2009) hidrolizaron este frijol con Alcalasa durante 60 min, los hidrolizados presentaron 60.59 % de inhibición de ABTS⁺. El resultado es ligeramente mayor a lo encontrado en este trabajo, ya que al hidrolizar el CPPv-Fd por 60 min el hidrolizado proteico presenta 50 % de inhibición de ABTS⁺. De igual forma, Valdez-Ortiz *et al.*, (2012) obtuvieron hidrolizados proteicos de tres variedades de frijol azufrado, empleando alcalasas, termolisina y pancreatina, indicando que los péptidos obtenidos mostraron capacidad antioxidante con valores de hasta 99 % de capacidad inhibitoria de DPPH.

Durak *et al.*, (2013) mencionan que las proteínas de frijol Adzuki (*Vigna angularis*) presentan actividad antioxidante y antihipertensiva y lo atribuyen a la globulina ya que mostró capacidad para quelar iones hierro. De igual forma, Carrasco-

Castilla *et al.* (2012) determinaron la actividad antioxidante de péptidos liberados de las proteínas de almacenamiento faseolinas y lectinas de frijol común, el proceso de hidrólisis lo realizaron con pepsina y pancreatina, dichos autores asociaron la actividad antioxidante a los aminoácidos aromáticos lisina, leucina, isoleucina, asparagina y ácido glutámico.

CONCLUSIONES

El extracto enzimático de *P. ostreatus* con 43 UA permitió liberar péptidos con actividad antioxidante, la mayor actividad biológica se presentó cuando el proceso se realizó a pH 8 y 7, para el CPPv-28 y el CPPv-Fd, respectivamente. Asimismo, el modelo de segundo orden planteado permitió obtener las mejores condiciones de hidrólisis enzimática para los concentrados de las dos variedades de frijol común evaluadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa para el desarrollo profesional docente, tipo superior (PRODEP) por el apoyo otorgado para desarrollar el proyecto denominado "Obtención de péptidos con actividad biológica a partir de las proteínas de Frijol común" a través de la Convocatoria de Incorporación como Nuevos PTC-Apoyo de Fomento a la Generación y Aplicación Innovadora del Conocimiento.

REFERENCIAS

- Benítez, R., Ibarz, A., y Pagan, J. 2008. Protein hydrolysates: processes and applications. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 42: 227-36.
- Betancur-Ancona, D., Gallegos-Tintoré, S., y Chel-Guerrero, L. 2004. Wet fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein. Journal of the Science of Food Agriculture. 84: 1193-1201.
- Boschin, G., Scigliuolo, G.M., Resta, D., y Arnoldi, A. 2014. ACE-inhibitory activity of enzymatic protein hydrolysates from lupin and other legumes. Food Chemistry. 145: 34-40.
- Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A.J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., y Dávila-Ortiz, G. 2012. Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. Food Chemistry. 135: 1789-1795.
- Durak, A., Baraniak, B., Jakubczyk, A., y Świeca, M. 2013. Biologically active peptides obtained by enzymatic hydrolysis of Adzuki bean seeds. Food Chemistry. 141: 2177-2183.
- Erdmann, K., Cheung, B.W., y Schröder, H. 2008. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. Journal Nutritional. Biochemistry. 19: 643-654.
- González-Córdova, A.F., Torres-Llanaez, M.J., Rodríguez-Figueroa, J.C., Espinosa-De los Monteros, J.J., García, H.S., y Vallejo-Córdoba, B. 2011. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in milks fermented by *Lactobacillus* strains. CyTA-Journal Food. 9: 146-151.

- Hartmann, R., y Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: From research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*. 18: 1-7.
- Miller, N.J., y Rice-Evans, C.A. 1996. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. *Free Radical Research*. 26: 195-199.
- Palmieri, G., Bianco, C., Cennamo, G., Giardina, P., Marino, G., Monti, M., y Sanna, G. 2001. Purification, characterization, and functional role of a novel extracellular protease from *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 2754- 2759.
- Peterson, G.L. 1977. A Simplification of the protein assay method of Lowry *et al*. Which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*. 83: 346-356.
- Ramirez-Guerra, H.E., Ramirez-Suárez, J.C., y Mazorra-Manzano, M.A. 2013. Propiedades biológicas de péptidos derivados del colágeno de organismos marinos. XV: 34-45.
- Saheki, T., y Holzer, H. 1975. Proteolytic activity in yeast. *Biochemica et Biophysica Acta*. 384: 203-212.
- Sarmadi, B.H., y Ismail, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*. 31: 1949–1956.
- Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L., Martínez-Ayala, A., Dávila-Ortíz, G. y Betancour-Ancona, D. 2009. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. *LWT-Food Science and Technology*. 42: 1597-1604.
- Tovar-Jiménez, X., Arana-Cuenca, A., Téllez-Jurado, A., Abreu-Corona, A., y Muro- Urista, C.R. 2012. Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentration: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. *Journal Mexican Chemistry Society*. 56: 369-377.
- Valdez-Ortíz, A., Fuentes-Gutiérrez, C.I., Germán-Baéz, L.J., Gutiérrez-Dorado, R., y Medina-Godoy, S. 2012. Protein hydrolysates obtained from Azufrado (sulphur yellow) beans (*Phaseolus vulgaris*): Nutritional, ACE-inhibitory and antioxidative characterization. *LWT - Food Science Technology*. 46: 91–96.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., y Korhonen, H. 2007. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal Applied Microbiology* 102: 106-15.